

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA - PPGQB**

**MERYBETH FERNANDEZ TRIANA**

**ECOLOGIA QUÍMICA DA BROCA-PELUDA DA CANA-DE-AÇÚCAR,  
*Hyponomeuta taltula* Schaus, 1904 (LEPIDOPTERA, EREBIDAE, HERMINIINAE)**

Maceió  
2015

**MERYBETH FERNANDEZ TRIANA**

**ECOLOGIA QUÍMICA DA BROCA-PELUDA DA CANA-DE-AÇÚCAR,  
*Hyponeuma taltula* Schaus, 1904 (LEPIDOPTERA, EREBIDAE, HERMINIINAE)**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Química e Biotecnologia, Área de Concentração: Química Orgânica. Subárea: Produtos Naturais - Ecologia Química.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Euzébio  
Goulart Santana

Maceió  
2015

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**  
**Bibliotecário Responsável: Valter dos Santos Andrade**

F363e Fernenandez Triana, Merybeth.  
Ecologia química da Broca-peluda da cana-de-açúcar, *Hypon euma taltula* Schaus, 1904 (Lepidoptera, Erebidae, Herminiinae) /  
Merybeth Fernandez Triana. – Maceió, 2015.  
108 f. : il

Orientador: Antônio Euzébio Goulart Santana.  
Dissertação (Mestrado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia. Maceió, 2015.

Bibliografia: f. 96-108.

1. Quadrifinae. 2. Comportamento sexual - Mariposas. 3. Microscopia eletrônica de varredura. 4. MEV. 5. Sensila. 6. Glândula sexual. 7. Hairpencil. 8. Feromônio sexual. 9. Electroantenografia. 10. Espectrometria de massas. I. Título.

CDU: 543.51 :577.19



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS

INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E  
BIOTECNOLOGIA

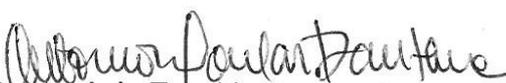


BR 104 Km14, Campus A. C. Simões  
Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins  
57072-970, Maceió-AL, Brasil  
Fone: (82) 3214-1144  
Email: ppgqb.ufal@gmail.com

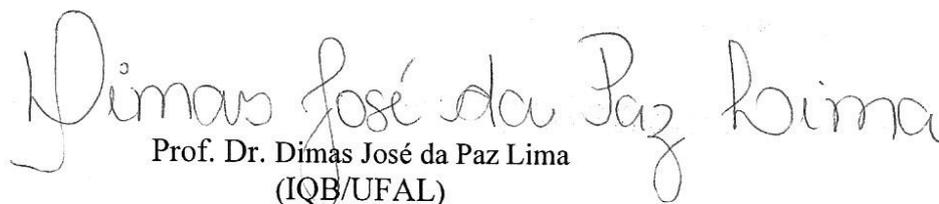
## FOLHA DE APROVAÇÃO

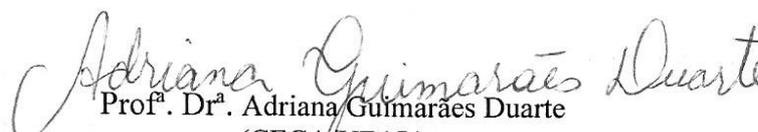
Membros da Comissão Julgadora da defesa de Dissertação da mestranda **MERYBETH FERNANDEZ TRIANA**, intitulada: “**ECOLOGIA QUÍMICA DA BROCA-PELUDA DA CANA-DE-AÇÚCAR, *Hyponeuma taltula* Schaus, 1904 (LEPIDOPTERA, EREBIDAE, HERMINIINAE)**”, apresentada ao PPGQB/UFAL em 20 de fevereiro de 2015, às 14h, na Sala do Renorbio, na Universidade Federal de Alagoas.

### COMISSÃO JULGADORA

  
Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Santana  
(PPGQB/IQB/UFAL)

  
Prof.ª Dr.ª Ruth Rufino do Nascimento  
(PPGQB/IQB/UFAL)

  
Prof. Dr. Dimas José da Paz Lima  
(IQB/UFAL)

  
Prof.ª Dr.ª Adriana Guimarães Duarte  
(CECA/UFAL)

A Wilson Fernandez Rodriguez  
A Maribel Triana Calderon  
A Frank Fernandez Triana  
A Jaqueline Triana Calderon  
A Maria Victoria Calderon  
A Atanasio Triana Real  
*DEDICO*

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana, pelo apoio, motivação e total confiança no meu trabalho, principalmente por abrir as portas de seu laboratório e guiarme na área da Ecologia Química.

A meus paes Wilson Fernandez e Maribel Triana, por acompanharme e ajudarme a crescer profesional e personalmente, por ser minha guia, e por ser a força que me impulsa todos os dias.

A meu mano Frank Fernandez, pelo seu apoio e por fazer que cada abraço nestes dois anos seja a lembrança mais bonita e emotiva.

A minha pequena família linda, Jaqueline Triana, Maria Viky e Pepe Triana pelo incondicional apoio e por suas mais lindas palavras de lembranças.

A minha avó Maria Barbara Rodriguez e As famílias Fernandez Rojas, Romero Fernandez, Rodriguez Fernandez Bohorquez, Rodriguez Fernandez Farfan, Fernandez Rodriguez e Medoza Morales por seu incondicional apoio e pelas palavras que deram força a minha estadia fora de casa.

A todos meus primos, eternos companheiros de vida, em especial a Lola, Kiwi, Pelanes e Vonchis com quienes comparto hermosas experiências.

A Jesus Triana Real Triana pelo seu apoio e por ser meu parceiro preferido.

A Paulo Henrique Barcellos por ser meu amigo, confidente e companheiro espiritual.

A minhas amigas hermanas Luisa Mendoza e Catalina Carreño por escutarme sempre e por suas palavras de apoio e consuelo.

Aos amigos e colegas do laboratorio de pesquisa em recursos naturais pela sua incondicional ajuda.

A Aldy por ser um gram amigo e por sua incondicional colaboração.

A Aryana Pinto Nogueira por ser minha amiga e por ajudar-me no desenvolvimento deste trabalho.

Ao laboratório de Ecologia Quimica da UFAL, pela sua ajuda e contribuição intelectual.

Aos professores do programa de posgraduação em Química e Biotenologia.

A Organização dos estados Americanos e ao grupo Coimbra de universidades Brasileiras por permitir e financiar minha estadia no Brasil

A Universidade Federal de Alagoas

Ao infinito cosmos por ter incógnitas que permitam desenvolver meu papel de científica.

Es peligroso, Frodo, cruzar tu puerta. Pones el pie en el camino y, si no vigilas tus pasos,  
nunca sabes a dónde te pueden llevar

Todo lo bueno en la vida nace de un salto al vacío  
*Alan Moore*

Nothing behind me, everything ahead of me, as is ever so on the road.  
*Jack Kerouac*

La cuestión es llegar a ser lo suficientemente honrado consigo mismo como para correr los  
riesgos que supone hacer cosas que aportan una sensación de objetivo en la vida, en vez de  
perseguir el dinero que solo garantiza una sensación de seguridad externa.  
*Wayne Dyer*

A essência do homem é a vontade, e deve ser abrandada e lapidada através da contemplação  
da música e das artes, como a arte de contemplar o belo, esta arte emocional, acompanhada da  
capacidade de se mapear e de gerenciar pensamentos, é instrumento vital para superar a  
necessidade neurótica de poder, de evidência social, de criticar ininterruptamente, de mudar  
os outros, de cobrar deles. Sem estes instrumentos não é possível abrandar ou educar a sede  
insaciável de poder do ser humano  
*Arthur Schopenhauer*

Since scientists are judged mainly by their capacity to publish their results in high impact  
factor journals, research tends to be biased towards problems that are fashionable in  
developed countries where main journals are published and where most citations are  
produced, rather than towards locally relevant problems  
*Krauskopf, 2002*

La vie n'est pas facile pour aucun d'entre nous. Mais qu'en est-il de cela ? Nous devons avoir  
la persévérance et surtout confiance en nous-mêmes. Nous devons croire que nous sommes  
doués pour quelque chose et que cette chose doit être accomplie  
*Marie Curie*

## RESUMO

A espécie *Hyponeuma taltula* Schaus, 1904 (Lepidoptera, Erebidae, Herminiinae), conhecida como broca-peluda da cana-de-açúcar, é uma praga que ataca a base do colmo e provoca a morte da gema apical, sintoma conhecido como coração morto. O primeiro relato desta praga foi em 1973 em São Paulo e Pernambuco e nos últimos anos tem apresentado uma infestação considerável, superando o nível de dano econômico nos canaviais do Nordeste do Brasil. Visando à procura de métodos de controle e/ou monitoramento para uma cultura sustentável de cana-de-açúcar, o objetivo deste trabalho, como princípio básico para o desenvolvimento de métodos através de semioquímicos, é a confirmação da liberação de feromônios sexuais da *H. taltula* e sua posterior identificação. A população dos insetos foi estabelecida com lagartas de diferentes ínstares coletadas na Usina Triunfo, Boca da Mata - Al, e mantidas a 27,2°C e 81% UR, com fotoperíodo invertido de 14:10 h (L:E). A atividade sexual foi observada em arena de vidro entre a primeira e oitava hora da escotofase com o início do chamamento da fêmea e o aumento da frequência de comportamentos habituais do macho, além de apresentarem comportamentos de cortejo e acasalamento. Mediante correlações de Sperman determinaram-se as relações entre os comportamentos e foi estabelecido a sequência do comportamento sexual, sendo o tempo médio de cópula de 75±15 min. Por meio de microscopia eletrônica de varredura foram observadas diferenças entre as antenas do macho e as antenas da fêmea de *H. taltula*. Nas antenas de machos foram descritas três tipos de sensila tricoide, dois tipos de sensila caética e auricíllica, e sensilas coelocônicas, enquanto que nas antenas de fêmeas foram caracterizadas dois tipos de sensilas tricoide, caética, auricíllica e estilocônica, sensilas coelocônicas e sensilas esquamiformes. A atividade sexual do macho, observada em arena, na presença da fêmea chamando e do extrato hexânico das glândulas abdominais da fêmea não teve diferença significativa pelo teste de Mann-Whitney ( $P < 0,05$ ). Isto confirma que a glândula abdominal da fêmea produz um feromônio mediador da comunicação sexual. Além disso, a presença de comportamentos de rejeição e aceitação por parte da fêmea frente ao macho entre outros comportamentos masculinos revelam a existência de um feromônio sexual masculino. Análises por CG-DIC e CG-EM dos extratos da glândula abdominal da fêmea e dos órgãos androconiais do macho (hairpencil) revelaram a presença de compostos comuns entre estes extratos, como ácidos graxos saturados e insaturados e o Z3,Z6,Z9-21:H, composto com estrutura reportada dentro dos feromônios sexuais tipo II típico nas subfamílias de Quadrifinae, na qual está incluída a Herminiinae. Outro composto presente nos extratos das fêmeas foi o Z3,Z6,epo9-21:H, proposto como um provável componente feromonal da *H. taltula* pela notável presença deste composto como feromônio sexual em espécies próximas taxonomicamente. Análise de CG-DEA revelam atividade da antena do macho frente a Z9-16:Acid e Z9-18:Acid presentes na glândulas da fêmea e nas androconias do macho.

**Palavras-chave:** *Hyponeuma taltula*. Broca-peluda. Quadrifinae. Herminiinae. Comportamento sexual de mariposas. Microscopia eletrônica de varredura. MEV. Antenas de mariposa. Sensila. Glândula sexual. Androconias. Hairpencil. Feromônio sexual. Cromatografia Gasosa. Eletroantenografia. Espectrometria de massas. Elucidação estrutural.

## RESUMEN

La especie *Hyponeuma taltula* Schaus, 1904 (Lepidoptera, Erebidae, Herminiinae), es una plaga que ataca la base del tallo y provoca la muerte de la yema apical, síntoma conocido como corazón muerto. El primer reporte de esta plaga fue en 1973 en São Paulo e Pernambuco- Brasil, y en los últimos años se han presentado infestaciones considerables, superando el nivel de daño económico en los cultivos de caña de azúcar en el noreste de Brasil. Con el fin de buscar métodos de control y/o monitoramiento para un cultivo sustentable de caña de azúcar, el objetivo de este trabajo, como principio básico para el desarrollo de métodos a través de semioquímicos, fue confirmar la liberación de feromonas sexuales de la *H. taltula* y su posterior identificación. La población de los insectos fue establecida con larvas de diferentes instares colectadas en Usina Triunfo Boca da Mata - Al, y mantenidas a 27,2°C y 81% HR, con fotoperiodo invertido de 14:10 h (L:O). La actividad sexual fue observada en una jaula de vidrio entre la primera y octava hora de la escotofase con el inicio del llamamiento de la hembra y el aumento de la frecuencia de comportamientos habituales del macho, además de presentarse comportamientos de cortejo y apareamiento. Mediante correlaciones de Sperman se determinó las relaciones de los comportamientos y se estableció la secuencia del comportamiento sexual, siendo 75±15 min el tiempo promedio de cópula en *H. taltula*. Usando Microscopio electrónico de barrido fueron observadas diferencias entre las antenas de macho e las antenas de hembra de *H. taltula*. Em las antenas de machos se observaron tres tipos de sensila tricóide, dos tipos de sensila caetica y auricilica, y sensilas coelocónicas, y en las antenas de hembras fueron caracterizadas dos tipos de sensilas tricóide, caetica, auricilica y estilocónica, sensilas coelocónicas y sensilas esquamiformes. La actividad sexual del macho, en la presença de la hembra llamando y del extracto hexânico de las glándulas abdominales de la hembra, no tuvo diferencia significativa por la prueba de Mann-Whitney (P<0,05). Esto confirma que la glándula abdominal de la hembra produce una feromona mediadora de la comunicación sexual. Además de esto la presença de comportamientos de rechazo y aceptación del macho por parte de la hembra, entre otros comportamientos masculinos revelan la existencia de una feromona sexual masculina. Análisis por CG-FID y CG-EM de los extractos de la glándula abdominal de la hembra y de los órganos androconiales del macho, conocidos como hairpencil, revelaron la presença de compuestos comunes entre estos extractos, como ácidos grasos saturados y insaturados y el Z3,Z6,Z9-21:H, compuesto con estructura reportada dentro de las feromonas sexuales tipo II típico en las subfamilias quadrifinae de la cual hace parte los Herminiinae. Otro compuesto presente en los extracto de las hembras fue el Z3,Z6,epo9-21:H propuesto como un probable componente feromônal, por la notable presença de este compuesto como feromona sexual en especies próximas taxonómicamente. Análisis de CG-DEA revelan actividad de la antena del macho frente a Z9-16:Acid y Z9-18:Acid presentes en la glándula de la hembra y en las androconias del macho.

**Palabras clave:** *Hyponeuma taltula*. Barreador peludo. Quadrifinae. Herminiinae. Comportamiento sexual de polillas. Microscopia electrónica de barrido. MEB. Antenas. Sensila. Glándula sexual. Androconia. Hairpencil. Feromona sexual. Cromatografía Gaseosa. Electroantenografía. Espectrometría de masas. Elucidación estructural.

## ABSTRACT

The species *Hyponeuma taltula* Schaus, 1904 (Lepidoptera, Erebidae, Herminiinae) is a pest that attacks the base of the stem of sugarcane and causes the death of the apical bud, symptom known as “dead heart”. The first report of this pest was in 1973, in São Paulo and Pernambuco, and in recent years it has been shown a significant infestation, surpassing the level of economic damage to sugarcane crops in the Northeast of Brazil. With the purpose of finding methods for controlling and/or monitoring for a sustainable cultivation of sugarcane, the aim of this work is the confirmation of the release of sex pheromones by *H. taltula* and the identification of its constituents. The population of insects was established with caterpillars of different instars collected at Usina Triunfa, Boca da Mata - Al, and maintained at 27.2 °C and 81% of relative humidity, with inverted photoperiod of 14:10 h (L:D). Sexual activity was observed in glass arena between the first and eighth hour of scotophase of which the onset was featured by females calling and increased frequency of male habitual as well as courtship and mating behaviors. By Spearman correlation, the relationship between those behaviors and the sequence of sexual behavior were determined, with an average length of copulation of  $75 \pm 15$  min. Differences were observed by scanning electron microscopy between male and female antennae of *H. taltula*. The antennae of the former presented coleonic sensilla, three types of trichoid sensilla and two types of chaetic and auricillica sensilla, while for those of the latter we characterized two types of trichoid, chaetic, auricilic and estiloconic sensilla, as well as choeloconic and squamiform sensilla. The male sexual behavior observed in the arena in the presence of females calling and hexane extract of the abdominal glands from females was not significantly different by the Mann-Whitney test ( $P < 0.05$ ). This confirms that the female abdominal pheromone gland produces a mediator of sexual communication. Furthermore, the rejection and acceptance behavior of females towards male insects in conjunction with other noted behavioral patterns suggest the existence of a male sex pheromone. Analysis by GC-FID and GC-MS of the abdominal gland extracts from females and hairpencil extracts from males revealed the presence of common compounds for both organs, such as saturated and unsaturated fatty acids and the Z3,Z6,Z9-21:H, compound reported as a type II sex pheromone constituent and typical from Quadrifinae subfamilies, which the Herminiinae is included in. Another compound observed in the extracts of females was the Z3,Z6,epo9-21:H, which can most likely be a pheromonal component of *H. taltula* based on its occurrence in sex pheromones of closely related species. GC-EAD experiments showed antenna activity of males towards the Z9-16: Acid and Z9-18: Acid from the female glands and male hairpencils.

**Keywords:** *Hyponeuma taltula*. Quadrifinae. Herminiinae. Sexual behavior of moths. Scanning electron microscopy. SEM. Moth antennae. Sensilla. Sex gland. Hairpencil. Sex pheromone. Gas Chromatography. Electroantenography. Mass spectrometry. Structural elucidation.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Classificação dos Semioquímicos.....	21
Figura 2 - Controle de pragas mediante o método de Auto-confusão .....	24
Figura 3 - Feromônios sexuais de <i>Diatraea saccharalis</i> (Fabricius,1794) e <i>Spodoptera frugiperda</i> (Smith, 1797).....	28
Figura 4 - Feromônio sexual de <i>Migdolus fryanus</i> (Westwood, 1863) e de agregação de <i>Sphenophorus levis</i> Vaurie, 1978 .....	29
Figura 5 - Feromônios de trilha de <i>Atta laevigata</i> Smith, 1860 e <i>Atta bisphaerica</i> Forel, 1908 .....	30
Figura 6 - Lagarta de <i>H. taltula</i> .....	32
Figura 7 - Dano provocado por <i>H. taltula</i> à cultura da cana-de-açúcar .....	32
Figura 8 - Ciclo de vida da <i>H. taltula</i> .....	33
Figura 9 - Dimorfismo sexual de pupas de <i>H. taltula</i> .....	34
Figura 10 - Estruturas químicas e nomenclatura de feromônios femeninos Tipo I em lepidópteros.....	36
Figura 11 - Estruturas químicas e nomenclatura de feromônios femeninos Tipo II em lepidópteros.....	37
Figura 12 - Taxonomia e feromônio sexual de fêmeas em Lepidópteros .....	38
Figura 13 - Rota biossintética geral de feromônios Tipo I em lepidópteros .....	38
Figura 14 - Rota biossintética geral de feromônios Tipo II em lepidópteros .....	39
Figura 15 - Estruturas químicas e nomenclatura de feromônios masculinos em lepidópteros.....	40
Figura 16 - Espécies da subfamília Herminiinae e atraentes de machos ou feromônios sexuais.....	44

Figura 17 - Transporte de feromônios no interior das sensilas.....	45
Figura 18 - Sensilas de antenas de mariposas Noctuoideas.....	46
Figura 19 - Criação em laboratório de <i>H. taltula</i> .....	49
Figura 20 - Metalização de antenas de <i>H. taltula</i> para MEV .....	50
Figura 21 - Extração de glândulas abdominais de fêmeas de <i>H. taltula</i> .....	51
Figura 22 - Extração de hairpencils de machos de <i>H. taltula</i> .....	51
Figura 23 - Arena usada nos bioensaios para a determinação da presença de estímulo químico mediando o comportamento sexual do macho de <i>H. taltula</i> . .....	52
Figura 24 - Exposição da glândula abdominal de fêmeas de <i>H. taltula</i> .....	56
Figura 25 – Diagrama do comportamento sexual de <i>H. taltula</i> .....	57
Figura 26 - Tentativa de cópula de machos de <i>H. taltula</i> .....	58
Figura 27 - Cópula de <i>H. taltula</i> .....	58
Figura 28 - Movimento de abdômen do macho de <i>H. taltula</i> .....	59
Figura 29 - Correlações entre comportamentos do macho de <i>H. taltula</i> .....	61
Figura 30 - Partes das antenas femininas e masculinas de <i>H. taltula</i> .....	61
Figura 31 - Superfície ventral e dorsal das antenas de <i>H. taltula</i> .....	62
Figura 32 - Sensila esquamiforme em antena de fêmea de <i>H. taltula</i> .....	62
Figura 33 - Sensilas tricoides em antena de fêmeas e machos de <i>H. taltula</i> .....	63
Figura 34 - Sensilas caéticas em antena de fêmeas de <i>H. taltula</i> .....	64
Figura 35 - Sensilas aurículas em antena de fêmeas e machos de <i>H. taltula</i> .....	64
Figura 36 - Sensilas coelocônicas em antena de fêmeas e machos de <i>H. taltula</i> .....	65
Figura 37 - Sensilas estilocônicas em antena de fêmeas de <i>H. taltula</i> .....	65

Figura 38 - Cromatograma de íons totais de extrato hexânico de glândulas abdominais de fêmeas <i>H. taltula</i> .....	68
Figura 39 - Espectro de massas e mecanismo de fragmentação do composto 1. ácido ( <i>Z</i> ou <i>E</i> )-9-hexadecenoico em glândulas de fêmeas de <i>H. taltula</i> .....	68
Figura 40 - Espectro de massas e mecanismo de fragmentação do composto 2. ácido hexadecanoico em glândulas de fêmeas de <i>H. taltula</i> .....	69
Figura 41 - Espectro de massas e mecanismo de fragmentação do composto 3. 3,6,9-henicosatrieno em glândulas de fêmeas de <i>H. taltula</i> .....	69
Figura 42 - Espectro de massas e mecanismo de fragmentação do composto 4. henicosano em glândulas de fêmeas de <i>H. taltula</i> .....	70
Figura 43 - Espectro de massas e mecanismo de fragmentação do composto 5. ácido 9,12-octadecadienoico em glândulas de fêmeas de <i>H. taltula</i> .....	70
Figura 44 - Espectro de massas e mecanismo de fragmentação do composto 7. ( <i>Z</i> ou <i>E</i> )-9-hexadecenoato de butila em glândulas de fêmeas de <i>H. taltula</i> .....	71
Figura 45 - Espectro de massas e mecanismo de fragmentação do composto 8. hexadecanoato de butila em glândulas de fêmeas de <i>H. taltula</i> .....	72
Figura 46 - Espectro de massas e mecanismo de fragmentação do composto 9. 9,10-epoxi-henicoso-3,6-dieno em glândulas de fêmeas de <i>H. taltula</i> (2-(Octa-2,5-dienil)-3-undeciloxirano).....	72
Figura 47 - Cromatograma de íons totais de extrato hexânico de glândulas abdominais de fêmeas e resposta eletroantenografica da antena do macho em <i>H. taltula</i> .....	73
Figura 48 - Cromatograma de íons totais de extrato hexânico de hairpencils em machos de <i>H. taltula</i> .....	75
Figura 49 - Espectro de massas do composto 1. Nonanal em hairpencils de machos de <i>H. taltula</i> .....	75
Figura 50 - Espectro de massas do composto 3. ( <i>E</i> )-2-decenal em hairpencils de machos de <i>H. taltula</i> .....	76

Figura 51 - Espectro de massas do composto 4. ácido tetradecanoico em hairpencils de machos de <i>H. taltula</i> .....	77
Figura 52 - Espectro de massas do composto 5. hexadecanol em hairpencils de machos de <i>H. taltula</i> .....	78
Figura 53 - Espectro de massas do composto 11. ácido ( <i>Z</i> )-9-octadecenoico em hairpencils de machos de <i>H. taltula</i> .....	79
Figura 54 - Espectro de massas do composto 8. octadecadienol em hairpencils de machos de <i>H. taltula</i> .....	79
Figura 55 - Espectro de massas do composto 9. 3,6,9-henitricoseno em hairpencils de machos de <i>H. taltula</i> .....	80
Figura 56 - Espectro de massas do composto 13. tricosano em hairpencils de machos de <i>H. taltula</i> .....	81
Figura 57 - TIC comparativos de extratos de glândula abdominal de fêmea, hairpencil de machos e padrões dos compostos elucidados .....	81

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Exemplos selecionados de erradicação com sucesso de pragas usando combinação de várias táticas do MIP.....	18
Tabela 2 - Feromônios sexuais de insetos vs. Pesticidas em controle de pragas .....	26
Tabela 3 - Feromônios comercializados no Brasil .....	27
Tabela 4 - Classificação de comportamentos sexuais de <i>H. taltula</i> .....	60
Tabela 5 - Comportamentos do Macho de <i>H. taltula</i> frente a três tratamentos, teste de Mann-Whitney .....	66
Tabela 6 - Composição química do extrato hexânico de glândulas abdominais em fêmeas de <i>H. taltula</i> .....	67
Tabela 7 - Composição química do extrato hexânico de hairpencils em machos de <i>H. taltula</i> .....	74
Tabela 8 - Espécies de lepidópteros que contêm como parte de seu feromônio masculino os componentes do hairpencils de <i>H. taltula</i> .....	90

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	17
<b>1.1.</b>	<b>A cultura da cana-de-açúcar</b> .....	17
<b>1.2.</b>	<b>Manejo Integrado de Pragas (MIP)</b> .....	18
1.2.1.	Controle Cultural.....	19
1.2.2.	Resistência da Planta Hospedeira.....	19
1.2.3.	Controle Biológico .....	20
1.2.4.	Controle por Comportamento.....	20
1.2.4.1.	Aleloquímicos no MIP .....	22
1.2.4.2.	Feromônios no MIP.....	22
1.2.4.2.1.	Monitoramento .....	22
1.2.4.2.2.	Coleta massal.....	23
1.2.4.2.3.	Confusão sexual .....	23
1.2.4.3.	Vantagens do uso de semioquímicos .....	25
<b>1.3.</b>	<b>MIP baseado no uso de feromônios no Brasil</b> .....	26
<b>1.4.</b>	<b>Feromônios das pragas da cana-de-açúcar no Brasil</b> .....	28
<b>1.5.</b>	<b>Significado dos Lepidopteros na agricultura</b> .....	30
<b>1.6.</b>	<b><i>Hyponomeuta taltula</i> Schaus, 1904 (Lepidoptera, Erebidae, Herminiinae)</b> .....	31
<b>1.7.</b>	<b>Feromônios sexuais em fêmeas de Lepidópteros</b> .....	35
<b>1.8.</b>	<b>Feromônios sexuais em machos de Lepidópteros</b> .....	39
<b>1.9.</b>	<b>Feromônios sexuais da subfamília Herminiinae</b> .....	42
<b>1.10.</b>	<b>Sensilas na superfamília Noctuoidea</b> .....	43
<b>2.</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	47
<b>2.1.</b>	<b>Objetivo Geral</b> .....	47
<b>2.2.</b>	<b>Objetivos Específicos</b> .....	47
<b>3.</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	48
<b>3.1.</b>	<b>Manutenção de insetos em laboratório</b> .....	48
<b>3.2.</b>	<b>Análise do comportamento sexual</b> .....	48
<b>3.3.</b>	<b>Microscopia de varredura eletrônica (MEV) de antenas de <i>H. taltula</i></b> .....	49
<b>3.4.</b>	<b>Extração de glândulas abdominais de fêmeas e hairpencils de machos</b> .....	50
<b>3.5.</b>	<b>Determinação da atividade biológica do extrato abdominal da fêmea</b> .....	52
<b>3.6.</b>	<b>Análises estatísticas</b> .....	53

3.7.	Análises químicas por cromatografia gasosa e elucidação estrutural de compostos por Espectrometria de Massas (EM) .....	53
3.8.	Cromatografia gasosa acoplada a eletroantenografia GC-DEA.....	55
4.	<b>RESULTADOS</b> .....	56
4.1.	Análise etológica do comportamento sexual .....	56
4.2.	Morfologia das antenas de <i>H. taltula</i> .....	61
4.3.	Determinação da atividade biológica do extrato abdominal da fêmea .....	66
4.4.	Composição química de glândulas abdominais de fêmeas e eletroantenografia .....	67
4.5.	Resposta eletroantegráfica de antenas de macho ao extrato de glândulas abdominais de fêmeas.....	73
4.6.	Composição química de hairpencils em machos .....	74
5.	<b>DISCUSSÃO</b> .....	82
5.1.	Análise etológica do comportamento sexual da <i>H. taltula</i> .....	82
5.2.	Morfologia das antenas de <i>H. taltula</i> .....	84
5.3.	Determinação da atividade biológica do extrato abdominal da fêmea da <i>H. taltula</i> .....	85
5.4.	Composição química das glândulas abdominais de fêmeas da <i>H. taltula</i> ....	86
5.5.	Composição química de hairpencils em machos da <i>H. taltula</i> .....	89
6.	<b>CONSIDERAÇÕES GERAIS</b> .....	94
7.	<b>CONCLUSÃO</b> .....	95
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	96

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. A cultura da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar e seus derivados têm grande importância para a economia brasileira, sendo o Brasil responsável por mais da metade da quantidade comercializada no mundo. Contando com produções de 642,1 milhões de toneladas de cana-de-açúcar na safra 2014/2015, 56,3% desse total foi destinado à produção de etanol e o restante à produção de açúcar. No levantamento de dezembro de 2014, a área colhida com cana-de-açúcar no Brasil foi de 9,0 milhões de hectares, com as regiões Norte e Nordeste sendo responsáveis por 9,2% da produção total, enquanto que 90,8% foi produzido na região Centro-Sul do Brasil. (COMPANHIA-NACIONAL-DE-ABASTECIMENTO, 2014).

A cana-de-açúcar, *Saccharum officinarum* Linnaeus, 1753 (Poaceae), é cultivada como monocultura e, assim, forma um agroecossistema que permite a presença de diversos insetos fitófagos que se tornam pragas (GALLO et al., 2002). No mundo são relatadas mais de 1500 espécies de insetos que se alimentam de *S. officinarum* (LONG;HENSLEY, 1972). Dentre as pragas mais importantes que afetam a cultura no Brasil encontram-se os que atacam a base do colmo como a cigarrinha-da-raiz *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854) (Hemiptera: Cercopidae), migdolo *Migdolus fryanus* (Westwood, 1863) (Coleoptera: Vesperidae), bicudo-da-cana *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978 (Coleoptera: Curculionidae), broca-peluda *Hyponeuma taltula* Schaus, 1904 (Lepidoptera: Erebididae), lagarta-elasma *Elasmopalpus lignosellus* (Zeller, 1848) (Lepidoptera: Pyralidae), *Heterotermes tenuis* (Hagen, 1858) (Isoptera: Rhinotermitidae), *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) (Isoptera: Termitidae) e o percevejo-castanho *Scaptocoris castanea* Perty, 1830 (Hemiptera: Cydnidae). Das pragas da parte aérea pode-se relacionar a broca-da-cana *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), broca-pequena-da-cana *Diatraea flavipennella* Box, 1931 (Lepidoptera: Crambidae), broca-gigante *Telchin licus* (Drury, 1773) (Lepidoptera: Castniidae), formigas saúvas *Atta spp* (Hymenoptera: Formicidae), cigarrinha-das-folhas *Mahanarva posticata* (Stal, 1855) (Hemiptera: Cercopidae) e o besouro-rajado-da-cana *Metamasius hemipterus* Linnaeus, 1765 (Coleoptera: Curculionidae) (CENTRO-DE-TECNOLOGIA-CANAVIEIRA, 2013; LESLIE, 2007).

Devido à grande quantidade de pragas existentes na cana-de-açúcar se torna de vital importância a constante implementação de métodos para o controle e monitoramento destas.

## 1.2. Manejo Integrado de Pragas (MIP)

O manejo integrado de pragas (MIP) é uma filosofia de controle de pragas que procura preservar e incrementar os fatores de mortalidade natural, estudando o sistema da plantação como um todo e tendo pleno conhecimento das interações ecológicas entre as pragas, seus inimigos naturais e o ambiente onde está a plantação. Integra metodologias com princípios ecológicos, econômicos e sociais, visando interferir o mínimo possível no agroecossistema. O objetivo destas metodologias não é a eliminação da praga em si, mas o controle desta mantendo uma densidade populacional que não seja capaz de causar um dano econômico e permitindo que os inimigos naturais permaneçam na plantação e favoreçam a volta do equilíbrio natural desfeito pela plantação e pelo uso de defensivos agrícolas (FOOD-AND-AGRICULTURE-ORGANIZATION, 2013; NI et al., 2014; SAVARY et al., 2006).

As técnicas mais usadas no MIP são a manipulação do ambiente de cultivo ou controle cultural, o uso de plantas resistentes a insetos mediante o uso de estudos nas interações inseto-planta, o controle biológico, os métodos de controle por comportamento, métodos de controle mecânicos, físicos, genéticos, legislativos e o uso moderado e direcionado de defensivos agrícolas. O objetivo principal do MIP é implementar todos estes métodos de forma conjunta para obter melhores resultados (SUCKLING et al., 2014), alguns dos quais podem ser observados na Tabela 1.

**Tabela 1 - Exemplos selecionados de erradicação com sucesso de pragas usando combinação de várias táticas do MIP**

Nº de táticas	Combinações	Inseto	Nome Comum
3	Confusão sexual + SIT + Bt Algodão	<i>Pectinophora gossypiella</i>	Lagarta-rosada
5	Inseticidas de solo + Btk Aéreo + Coleta em massa + SIT + Remoção de plantas hospedeiras	<i>Teia anartoides</i>	Mariposa-pintada-da-maçã
4	Spot insecticides + Coleta em massa + Remoção de hospedeiro + Inundativo biocontrole	<i>Ceratitis capitata</i>	Mosca-rajada
5	Inseticidas de solo + Atraer e matar + SIT + Remoção de plantas hospedeiras + Quarentena	<i>Ceratitis capitata</i>	Mosca-rajada
4	Inseticidas de solo + Remoção de hospedeiro + Remoção manual + Quarentena	<i>Anoplophora chinensis</i>	Besouro-céu
3	Inseticidas de solo + Remoção de hospedeiro + Confusão sexual	<i>Cydia pomonella</i>	Mariposa-das-maçãs
3	Inseticidas de solo + Inseticida Aéreo + Btk Aéreo	<i>Lymantria dispar</i>	Mariposa-cigana

Nota: (Btk): *Bacillus Thuringiensis* Kurstaki; Algodão Bt é uma variedade geneticamente modificada de algodão que produz inseticida; (SIT): técnica do inseto estéril.

Fonte: Suckling et al.(2014)

### 1.2.1. Controle Cultural

O objetivo do controle cultural é interromper a relação entre a planta hospedeira e a praga, evitando que a praga tenha o ambiente adequado para sobreviver, desenvolver-se e reproduzir-se. Dentro das metodologias podem ser destacadas as medidas sanitárias como a destruição e eliminação de restos culturais, eliminação de resíduos animais, melhoramento do armazenamento e processamento da cultura ou seus derivados, uso de sementes livres de pragas, o preparo do solo, a irrigação e manejo de água e a poda. Estes reduzem a capacidade de suporte do ecossistema diminuindo a disponibilidade de alimentos, abrigo e espaço habitável para a praga (MONTES, 2000). Outras medidas podem ser tomadas para impedir o desenvolvimento das pragas como a implantação de rotação de culturas ou o rompimento da sincronia entre insetos fitófagos e planta com a mudança de época de plantio. Um método cultural usado ultimamente no Brasil é a plantação de culturas-isca ou biocontrole com plantas (PAROLIN et al., 2014) que tem apresentado resultados em culturas como o algodão, para o controle do bicudo-do-algodoeiro (PRAÇA, 2007), e feijão, para controle de vaquinhas (*Diabrotica spp.*) com o plantio de curcubitáceas amargas como plantas-isca (ARRUDA-GATTI; VENTURA, 2003).

### 1.2.2. Resistência da Planta Hospedeira

A resistência da planta hospedeira a insetos refere-se às propriedades herdadas e associadas à capacidade da planta hospedeira de debelar ou suportar e recuperar-se de injúrias causadas por insetos-praga. Um dos principais temas de interesse em pesquisa de biologia vegetal contemporânea é o estudo de interações planta-inseto no nível molecular para revelar mecanismos nas plantas como antixenose, antibiose e tolerância que podem ser implantados no MIP mediante o melhoramento genético (FALCO et al., 2001). A cana-de-açúcar, por ser uma das culturas mais importante em regiões tropicais, é um candidato adequado para aplicação de ferramentas de biotecnologia e engenharia genética e, por exemplo, já foram identificados vários genes ortólogos envolvidos na resposta da planta a danos causados por insetos no projeto transcriptoma da cana (SUCEST) (SUPRASANNA et al., 2011). Trabalhos genéticos tornaram a cana-de-açúcar resistente à broca *Eldana saccharina* Walker, 1865 pela inclusão de genes provenientes das bactérias como *Bacillus thuringiensis* Berliner, 1915 e *B. serratiamarcescens*, o que permite a produção de uma toxina para o controle dos insetos (DOWNING; LESLIE; THOMSON, 2000).

### 1.2.3. Controle Biológico

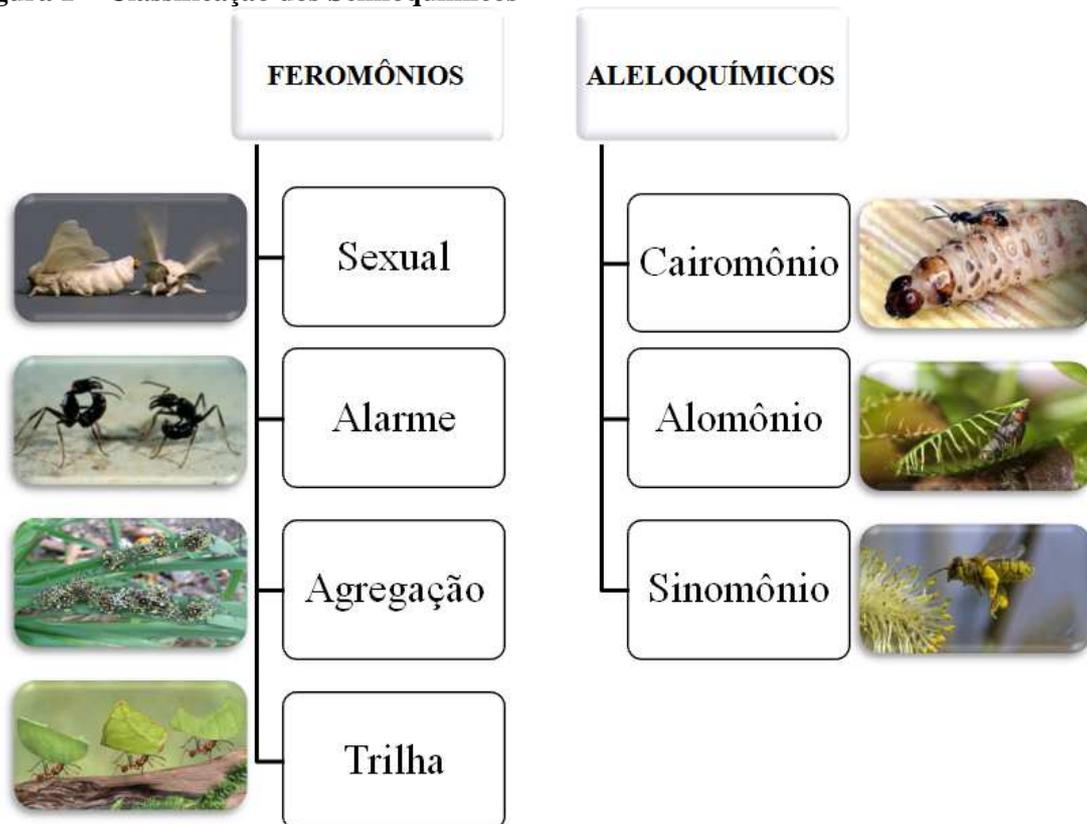
O controle das pragas através de inimigos naturais é conhecido como controle biológico e estes inimigos podem ser predadores, parasitóides, parasitas, competidores e entomopatógenos. Existem três formas de controle: controle biológico natural que consiste na preservação e/ou incremento das populações de inimigos naturais já existentes nos agroecossistemas; controle biológico clássico onde são importados inimigos naturais do lugar de origem da praga visando controlar pragas exóticas; e controle biológico artificial onde o inimigo natural liberado no campo é criado em massa em laboratório (GRAVENA, 1992).

Com a finalidade de se manter a cultura da cana-de-açúcar sustentável no Brasil, exemplos podem ser mencionados utilizando medidas de controle biológico. A broca-da-cana *D. saccharalis* (Lep.: Crambidae) é controlada desde 1970 pelo parasitóide de lagartas *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hym.: Braconidae) e pelo parasitóide de ovos *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hym.: Trichogrammatidae). A Cigarrinha-das-raízes *M. fimbriolata* (Hem.: Cercopidae) conta com inimigos de ocorrência natural como os parasitoides de ovos *Anagrus urichi* Pickles, 1932 (Hym.: Mymaridae) e *Acmopolynema hervali* Gomes, 1948 (Hym.: Mymaridae) e a mosca predador *Salpingogaster nigra* Schiner, 1868 (Dip.: Syrphidae). Por outro lado, o fungo muscadine verde, *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879), é produzido e vendido para o controle das duas espécies de cigarrinhas presentes no nordeste do país. Do mesmo jeito, os cupins tem sido controlados utilizando o fungo entomatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill., 1913 como componente adicional nas iscas Termitrap® (PARRA;BOTELHO;PINTO, 2010).

### 1.2.4. Controle por Comportamento

O método de controle por comportamento é baseado no uso de compostos químicos denominados semioquímicos que estão envolvidos nas relações planta-inseto e inseto-inseto. Os insetos utilizam compostos químicos na sua comunicação para a localização de presas, defesa e agressividade, seleção de plantas, escolha de locais de oviposição, acasalamento, organização das atividades sociais e outros tipos de comportamento (SHANI, 2000). Os semioquímicos são classificados com base no tipo de interação (Figura 1): aleloquímicos são compostos que mediam as relações interespecíficas, ou seja, os comportamentos de indivíduos de espécies diferentes, e os feromônios estão presentes nas interações intraespecíficas (VILELA;DELLA LUCIA, 2001).

Figura 1 - Classificação dos Semioquímicos



Fonte: Samuel Woo; Joaquín Ipinza; Dayro Longas; XPOHOTOH; Victor Domínguez; Naturaleza Curiosa; Juan Machorro

Os aleloquímicos são classificados dependendo dos custos e benefícios de cada organismo. Os alomônios favorecem o organismo emissor, mas não o receptor como é o caso das plantas carnívoras que secretam substâncias para atrair as suas presas; os cairomônios são os semioquímicos que favorecem o organismo receptor, mas não o emissor, por exemplo, os compostos atraentes de parasitóides, e os sinomônios favorecem ao organismo emissor e ao receptor como acontece no processo da polinização (VILELA;DELLA LUCIA, 2001).

Os feromônios podem ser preparadores ou desencadeadores, os primeiros provocam uma resposta lenta e prolongada em seus receptores, por exemplo, o ácido (*E*)-9-oxo-2-decenóico pela rainha das *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hym.: Apoidea) inibe o desenvolvimento dos ovários das abelhas operárias. Os desencadeadores originam uma resposta imediata no comportamento dos seus receptores. Estes últimos podem ser classificados como: sexual, agregação, trilha, alarme, oviposição e territorialidade, dependendo da interação mediada (VILELA;DELLA LUCIA, 2001).

#### 1.2.4.1. Aleloquímicos no MIP

Os aleloquímicos são utilizados no MIP como iscas contendo partes da própria planta hospedeira da praga como atraente, podendo ser citado o moleque-da-bananeira, *Cosmopolites sordidus* (Germar, 1824) (Col.: Curculionidae), que é atraído para as iscas que contém seções de pseudocaule de bananeira. Também são usados como iscas que contêm plantas que sejam hospedeiras da praga, mas que sejam mais atrativas às pragas que a cultura que está no campo, por exemplo, a planta Maria-preta *Diatenopteryx sorbifolia* Radlk. (Sapindaceae) é colocada em iscas nas culturas de citros para o controle de coleobrocas, esta metodologia é conhecida no MIP como atrai-e-mata. (PICANÇO, 2010).

#### 1.2.4.2. Feromônios no MIP

Shani (2000) relata que os feromônios sexuais têm sido mais minuciosamente estudados devido à maior eficácia no controle de pragas, seguidos, em menor grau pelos feromônios de agregação e de alarme. O uso de feromônios no manejo integrado de pragas pode ser usado para o monitoramento, a coleta em massa e a confusão sexual (ZARBIN;RODRIGUES;LIMA, 2009).

##### 1.2.4.2.1. Monitoramento

Trematerra (2013) relata que o monitoramento determina quando a população do inseto-praga atingiu o nível de dano econômico, indicando de maneira mais precisa o momento de controle, e limitado assim a utilização desnecessária de inseticida, já que o método detecta tanto a presença quanto a densidade da praga. Por exemplo, Jyothi et al. (2014) monitoraram a praga do algodoeiro *Earias vitella* Sherborn, 1902 (Lep.: Nolidae) com iscas de feromônio da espécie, determinando que a maior presença da mariposa acontece no período chuvoso, de abril a outubro na Índia. O monitoramento também pode definir a distribuição do inseto na área e no tempo. Diaz-gomez et al. (2012) estudaram no México a flutuação populacional de *Copitarsia decolora* Guenée, 1852 (Lep.: Noctuidae), uma praga importante em diversas culturas, encontrando um pico de ocorrência em março. Da mesma maneira, Merrill et al. (2011) reportam a variabilidade espacial do macho adulto de *Striacosta albicosta* (Smith, 1888) (Lep.: Noctuidae) em campos de milho no Colorado, encontrando uma maior abundância do inseto nas bordadeiras.

#### 1.2.4.2.2. Coleta massal

Na coleta massal o feromônio é usado como atrativo do inseto para um recipiente de contenção, visando sua eliminação com conseqüente diminuição do número de inseto-praga no cultivo (ZARBIN;RODRIGUES;LIMA, 2009). A densidade, a eficiência das armadilhas e o poder de atração das iscas devem ser suficientes para capturar uma quantidade apreciável de insetos que reduza o dano econômico (GUERRERO et al., 2014). Trematerra (2012) relata que a coleta massal com feromônios requer estudos complexos que determinem a quantidade de iscas por área para que os acasalamentos não tenham sucesso, além disto a biologia dos insetos pode tornar pouco eficaz o método, como no caso de *Plodia interpunctella* (Hübner, 1813) (Lep.: Pyralidae), uma vez que os machos desta mariposa podem acasalar com cerca de 6-10 fêmeas durante seu período de vida. Portanto, até 90% da população masculina pode ser capturada sem afetar o número de fêmeas acasaladas de modo que em populações muito altas da praga este método não é eficaz. Por outro lado, a coleta massal para ambos os sexos usando feromônios de agregação é mais eficiente que a coleta selectiva de sexo (TREMATERRA, 2012).

Trematerra e Gentile (2010) apresentam ótimos resultados na redução e manutenção a um nível abaixo do dano econômico da praga dos cereais *Ephestia kuehniella* Zeller, 1879 (Lep.: Pyralidae), com técnicas de coleta em massa com acetato de (Z,E)-9,12-tetradecadienila como feromônio sintético e acompanhado por tratamentos localizados de inseticida e limpeza cuidadosa de vários departamentos e de todos os equipamentos. De igual forma, Navarro et al. (2002) reportam o uso de feromônio de agregação (6-metil-2-hepten-4-ol) para a coleta em massa da broca-do-olho-do-coqueiro, *Rhynchophorus palmarum* (Linnaeus 1764) (Col.: Curculionidae), atraindo machos e fêmeas e reduzindo assim a população da praga no coqueiro.

#### 1.2.4.2.3. Confusão sexual

A interrupção de acasalamento baseia-se na interferência ou impedimento da transmissão de sinais químicos entre os parceiros sexuais. Isto tem sido obtido com a liberação de uma quantidade maior de feromônio sintético na atmosfera, para diminuir ou impedir que os insetos localizem seu respectivo parceiro e, dessa forma, reduzir o acasalamento (ZARBIN;RODRIGUES;LIMA, 2009). Os mecanismos para o funcionamento desta técnica envolvem a exposição ao feromônio por longos períodos para afetar os órgãos

sensoriais ou o sistema nervoso do inseto, encobrir o rastro do chamamento das fêmeas ou impedindo que o sistema de detecção do macho para localizar a fêmea não funcione corretamente, além do gasto de energia e tempo dos insetos seguindo falsas fontes de feromônios (MONTES, 2000).

Comumente, o feromônio de muitos insetos apresenta mais de um componente e em muitas espécies essa composição é a mesma. No entanto, as proporções diferentes são responsáveis por sua distinção pelos insetos (SHANI, 2000). Por isso, se um único componente do feromônio ou uma alteração na proporção dos componentes for libertado, os machos não serão capazes de detectar ou localizar a mistura de feromônio liberado pelas fêmeas (TREMATERRA, 2012).

Outra metodologia usada nos últimos anos para a interrupção do acasalamento é o sistema de auto-confusão sexual. Por exemplo esta metodologia usa partículas eletrostaticamente carregadas que servem como transporte de feromônios ou qualquer outro ingrediente ativo e são aderidas às cutículas dos insetos. No caso de lepidópteros, os machos são atraídos para as fontes de feromônio e as partículas são aderidas ao corpo, perturbando assim a sua capacidade de localizar mariposas fêmeas e tornando-os fontes atraentes para outros machos (Figura 2) (PEASE;STORM, 2010).

**Figura 2 - Controle de pragas mediante o método de Auto-confusão**



Nota: Método de ação de armadilhas Exosex® SPTab para o controle mediante auto-confusão (A); Partículas de cera de carnaúba com esporos de *B.bassiana* para o controle de pragas de grão armazenado (B); Antenas da traça-dos-cereais, antes (C) e depois (D) de entrar em contato com as partículas eletrostáticas; Mosca-do-mediterrâneo depois de entrar em contato com as partículas (E); Percevejo-da-cama depois de estar em contato com partículas com um micrófago fluorescente (F).

Fonte: (EXOSECT<sup>(R)</sup>, 2014).

Trematerra (2012) indica que é essencial conhecer os mecanismos envolvidos na interrupção do acasalamento já que disso dependem as formulações adequadas dos feromônios e uma das limitações desta técnica é a exigência de quantidades grandes de semioquímicos.

A interrupção do acasalamento mediante o uso de feromônios tem sido uma das técnicas mais acolhidas pelo controle de pragas e enumeráveis exemplos podem ser citados. Dentre eles Cocco, Deliperi e Delrio (2012) reportam a eficácia da técnica para o controle de *Tuta absoluta* Meyrick, 1917 (Lep.: Gelechiidae) na cultura do tomate em Itália com redução do dano em frutos entre 62-89%. De igual forma, Trona et al. (2009) demonstraram que a implementação de EcoTape FTF (fita adesiva de 500-625 m de comprimento que contém dispensadores de feromônio) na confusão sexual da mariposa-das-maçãs, *Cydia pomonella* (Linnaeus, 1758) (Lep.: Tortricidae), alcança eficácias comparáveis com os de estratégias convencionais baseados em inseticidas

Existe um interesse cada vez maior em nível mundial no desenvolvimento de métodos de controle de pragas ecologicamente mais aceitáveis e sistemas de produção mais benignos. Com o fim de suprir esta necessidade, o uso de semioquímicos e outros produtos naturais possui um papel significativo neste desenvolvimento (NI et al., 2014), no entanto são necessárias formulações mais refinadas para cada inseto praga, otimização das composições, estabilidade dos semioquímicos no campo e preços acessíveis para o agricultor (GUERRERO et al., 2014).

#### 1.2.4.3. Vantagens do uso de semioquímicos

As vantagens do uso de semioquímicos frente aos pesticidas como método de controle são diversas (Tabela 2) destacando-se a ausência de resíduos tóxicos nos alimentos, além do aumento da atividade dos inimigos naturais, aumento da biodiversidade em ecossistemas agrícolas e especificidade, já que a maior parte destes são bioativos para determinada espécie ou para um grupo restrito de pragas. A desvantagem consiste na baixa persistência uma vez que não fornece um controle em longo prazo, recomendando-se o uso com outras metodologias no MIP (RODRÍGUEZ; NIEMEYER, 2005). No entanto os feromônios são mais seguros e ambientalmente mais aceitáveis do que os pesticidas convencionais (TREMATERRA, 2012).

**Tabela 2 - Feromônios sexuais de insetos vs. Pesticidas em controle de pragas**

Feromônios	Pesticidas
Repressão seletiva de insetos pragas	Destruição não seletiva de insetos
O equilíbrio biológico não é perturbado	Perturba o equilíbrio biológico (eliminação da maior parte dos insetos)
Não poluente	Causa intensa e extensa poluição ambiental
Não tóxico	Tóxico para os seres humanos e outros animais
Instável, se decompõem no campo	Alguns são extremamente estáveis
Não há casos de resistência relatados	Leva ao desenvolvimento de resistência
As quantidades necessárias são pequenas (dose necessária para atrair um inseto solitário: $10^{-15}$ - $10^{-18}$ g)	Vastas quantidades necessárias (leva cerca de $10^{-6}$ g para destruir um único inseto)
Investimento necessário para P&D até à fase de comercialização é relativamente pequeno	Investimento necessário para P&D até à fase de comercialização é muito alta

Fonte: Shani (2000).

### 1.3. MIP baseado no uso de feromônios no Brasil

Os estudos com feromônios têm sido conduzidos principalmente em países do hemisfério norte para atender às necessidades de controle de pragas das suas próprias culturas. A América do Sul, apesar de depender fortemente da agricultura e, portanto, do manejo de pragas, possui poucas pesquisas nessa área (BERGMANN;GONZÁLEZ;ZARBIN, 2009). O Brasil lidera as pesquisas em Ecologia Química na América do Sul com uma produção de 2,5 vezes mais artigos do que todos os outros países juntos até 2009. Não obstante é o país com menor porcentagem de área cultivada sob práticas de MIP no continente, isto devido em maior parte à lei federal brasileira de agrotóxicos e produtos semelhantes que considera os feromônios em igualdade com os pesticidas químicos, gerando dificuldades para o processo de registro (RODRÍGUEZ;NIEMEYER, 2005).

A agricultura brasileira tem um portfólio de 49 principais culturas que são atacadas por 447 espécies de insetos. Desse total, 103 espécies já foram objeto de estudo na pesquisa com feromônios. No mercado brasileiro, existem 47 produtos de feromônios comercializados para o controle de 25 pragas de insetos (Tabela 3) (GOULART et al., 2015 –no prelo-)<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> GOULART, H. F. et al. Feromônios: uma alternativa verde para o manejo integrado de pragas, 2015.

**Tabela 3 - Feromônios comercializados no Brasil**

<b>Produto</b>	<b>Praga-alvo</b>	<b>Cultura</b>	<b>Empresa</b>
Bio Bonagota	Lagarta-enroladeira-de-folhas ( <i>Bonagota cranaodes</i> )	Maçã	Bio Controle
Bio Broca	Broca do café ( <i>Hypothenemus hampei</i> )	Café	Bio Controle
BioCeratitis	Mosca-das-frutas ( <i>Ceratitis capitata</i> )	Cítricos, Goiaba, Manga, Mamão e Pêssego	Bio Controle
BioTrimedilure			
BioCydia	Bicho-da-maçã ( <i>Cydia pomonella</i> )	Maçã	Bio Controle
BioGrapholita	Mariposa-oriental ( <i>Grapholita molesta</i> )	Maçã e Pêssego	Bio Controle
Biolita			
BioMea	Traça-da-batatinha, Cegadeira ( <i>Phthorimaea operculella</i> )	Batata, Tomate, Fumo, Berinjela e Pimentão	Bio Controle
BioNeo	Broca-pequena-do-tomateiro ( <i>Neoleucinodeselegantis</i> )	Tomate, Berinjela e Pimentão	Bio Controle
Bio Pectinophora	Lagarta-rosada ( <i>Pectinophora gossypiella</i> )	Algodão	Bio Controle
Bio Plutella	Traça-das-crucíferas ( <i>Plutella xylostella</i> )	Brócolis, Couve ou Repolho	Bio Controle
BioSerrico	Bicho-do-fumo ( <i>Lasioderma serricorne</i> )	Fumo armazenado	Bio Controle
Bio Spodoptera	Lagarta-do-cartucho ( <i>Spodoptera frugiperda</i> )	Algodão, amendoim, arroz, batata, cana-de-açúcar, milho, pastagens, soja, sorgo, tomate e trigo	Bio Controle
BioTribolium	Besouro-castanho ( <i>Tribolium castaneum</i> )	Armazenados de grãos e cereais	Bio Controle
Bio Tuta	Traça do tomateiro ( <i>Tuta absoluta</i> )	Tomate	Bio Controle
Cosmolure	Moleque da bananeira ( <i>Cosmopolites sordidus</i> )	Banana	Bio Controle
Gachon	Traças ( <i>Ephesia cautella</i> , <i>E. elutella</i> e <i>P. punctella</i> )	Armazenados de grãos de cereais e seus subprodutos.	Bio Controle
Luretape BW-10	Bicudo-do-algodoeiro ( <i>Anthonomus grandis</i> )	Algodão	Bio Controle
Migdo	Broca-da-cana ( <i>Migdolus fryanus</i> )	Cana-de-açúcar	Bio Controle
RMD-1	Broca do olho do coqueiro ( <i>R. palmarum</i> )	Coco e Dendê	Bio Controle
Rincoforol	Broca do olho do coqueiro ( <i>Rhynchophorus palmarum</i> )	Coco e Dendê	Interacta Química Ltda.
Ferocitrus Furão	Bicho furão ( <i>Ecdytoplopha aurantiana</i> )	Cítricos	CooperCitrus
Iscalure Tuta	Traça do tomateiro ( <i>T. absoluta</i> )	Tomate	Isca Tec
FP p/Lagarta militar	Lagarta-do-cartucho ( <i>Spodoptera frugiperda</i> )	Algodão, amendoim, arroz, batata, cana-de-açúcar, milho, pastagens, soja, sorgo, tomate e trigo	Plato
IscalureGrafolita30Splat	Mariposa-oriental ( <i>G. molesta</i> )	Maçã e pêssego	Isca Tec
Iscalure lasiCydia	Bicho-da-maçã ( <i>C. pomonella</i> )	Maçã	Isca tec.
FP p/LagartaRosada	Lagarta-rosada ( <i>Pectinophora gossypiella</i> )	Algodão	Plato
PB-Rope-L	Bicudo do algodoeiro ( <i>A. grandis</i> )	Algodão	Iharabras
FP p/BicudodoAlgodão	Bicudo do algodoeiro ( <i>A. grandis</i> )	Algodão	Plato
Monitrap	Bicho-do-fumo ( <i>L. serricorne</i> )	Fumo armazenado	Casa Bernardo
Serricornin Fersol	Bicho-do-fumo ( <i>L. serricorne</i> )	Fumo armazenado	Fersol
Iscalure TML Plug	Mosca-das-frutas ( <i>C. capitata</i> )	Cítricos, Goiaba, Manga, Mamão e Pêssego	Isca Tec.
Cetro	Mariposa-oriental ( <i>G. molesta</i> )	Maçã e pêssego	BASF
Bio Bicudo	Bicudo-do-algodoeiro ( <i>A. grandis</i> )	Algodão	Bio Controle
Bio BM	Bicho-mineiro-do-café ( <i>Leucoptera coffeella</i> )	Café	Bio Controle
BioCarambolae	Mosca da carambola ( <i>Bactrocera carambolae</i> )	Carambola, cítricos, goiaba, jambo, manga	Bio Controle
BioDiabrotica	Larva alfinete ( <i>Diabrotica speciosa</i> )	Diversas	Bio Controle
BioHelicoverpa	( <i>Helicoverpa spp</i> )	Milho, soja, algodão	Bio Controle
BioPseudoplusia	Lagarta falsa-medideira ( <i>Pseudoplusia includens</i> )	Soja, algodão, tomate, batata	Bio Controle
Iscalure BW 10	Bicudo-do-algodoeiro ( <i>A. grandis</i> )	Algodão	Isca Tec.
Lasitrap	Bicho-do-fumo ( <i>L. serricorne</i> )	Fumo	Tecnocell Agroflorestal
Pectichem	Lagarta-rosada ( <i>P. gossypiella</i> )	Algodão	Bio Controle
Biogenol	Mosca da carambola ( <i>B. carambolae</i> )	Carambola, cítricos, goiaba, jambo, manga	Bio Controle
Splat ME	Mosca da carambola ( <i>B. carambolae</i> )	Carambola, cítricos, goiaba, jambo, manga	Isca Tec.

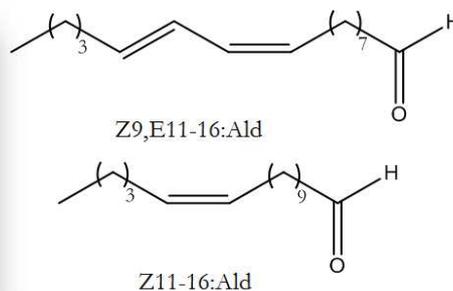
Fonte: Goulart et al. (2015)<sup>1</sup>.

#### 1.4. Feromônios das pragas da cana-de-açúcar no Brasil

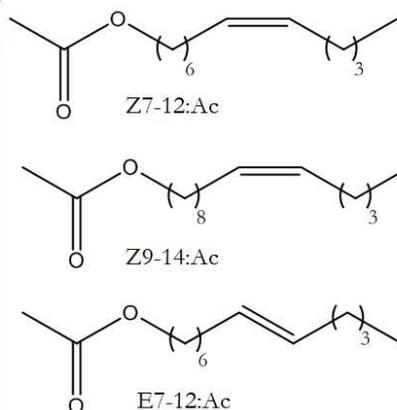
Dentre as lepidópteras que atacam a cana-de-açúcar (Figura 3) a broca-da-cana, *D. saccharalis*, é a mais importante, esta apresenta distribuição generalizada em todo o país. Ainda que o feromônio sexual tenha sido identificado como uma mistura de (*Z,E*)-9,11-hexadecadienal (*Z9,E11-16:Ald*) e (*Z*)-11-hexadecenal (*Z11-16:Ald*) numa relação 10:1, armadilhas preparadas não apresentam sucesso comparado com iscas de fêmeas virgens em canaviais alagoanos (KALINOVÁ et al., 2005; SVATOS et al., 2001), no em tanto Freitas et al. (2007) relatam prevalência da *D. flavipennella* no estado de Alagoas com relação a *D. saccharalis*, afetando assim os resultados obtidos para os testes com feromônio de *D. saccharalis*. O feromônio de *D. flavipennella* contém os compostos (*Z*)-9-hexadecenal (*Z9-16:Ald*) e (*Z*)-11-hexadecenal (*Z11-16:Ald*) (KALINOVA et al., 2012). Outra lepidoptera importante como praga em outras culturas diferentes da cana-de-açúcar é a lagarta-do-cartucho-do-milho *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Noctuidae), que apresenta uma mistura de três acetatos insaturados como feromônio sexual, acetato de (*Z*)-7-dodecenila (*Z7-12:Ac*), acetato de (*Z*)-9-tetradecenila (*Z9-14:Ac*) e acetato de (*E*)-7-dodecenila (*E7-12:Ac*) (BATISTA-PEREIRA et al., 2006).

**Figura 3 - Feromônios sexuais de *Diatraea saccharalis* (Fabricius,1794) e *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797)**

*Diatraea saccharalis* (Fabricius,1794)

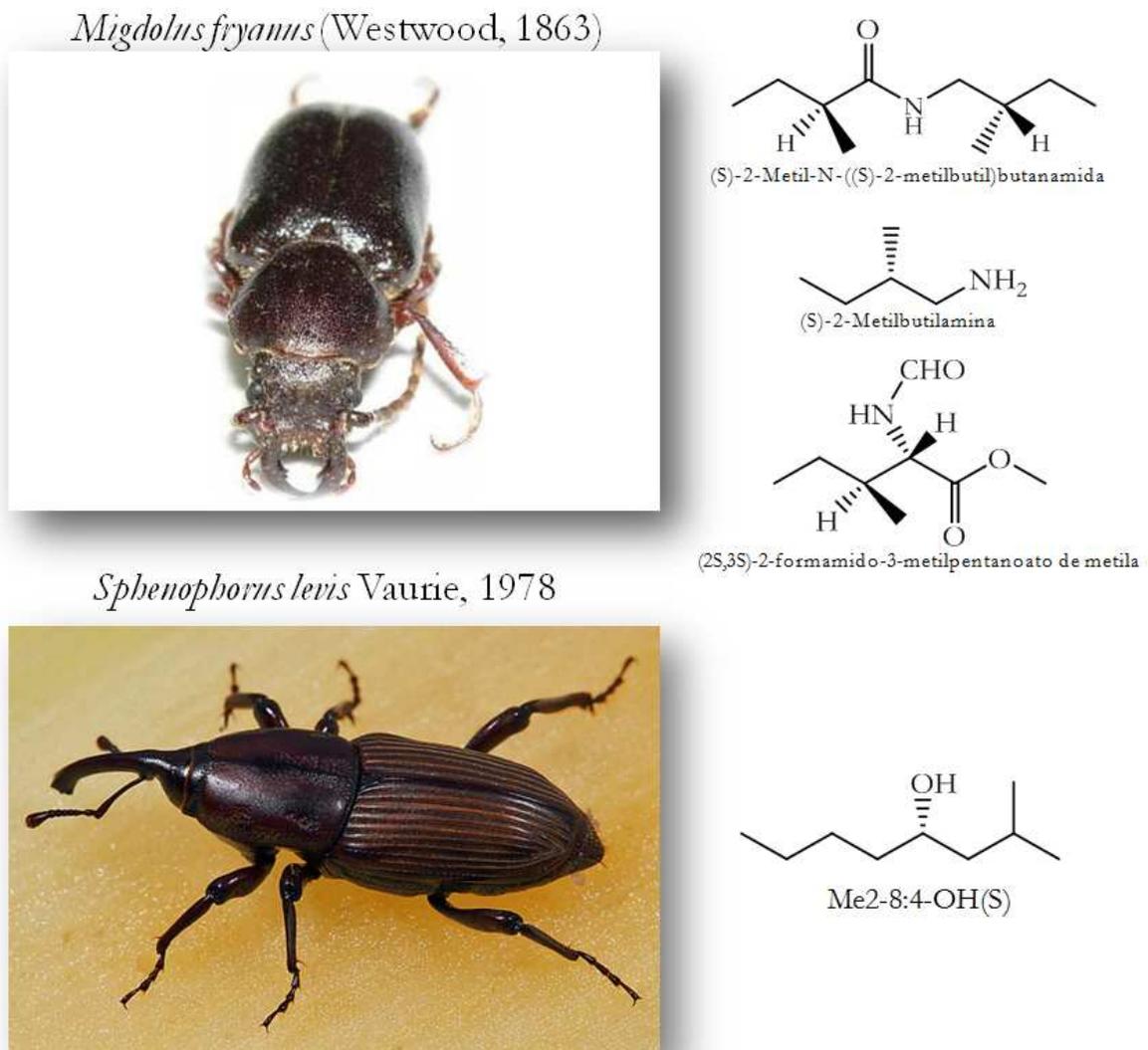


*Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797)



Nos Coleópteros (Figura 4) Leal et al. (1994) reportam a mistura de (*S*)-2-metil-N-((*S*)-2-metilbutil) butanamida, (*S*)-2-metilbutilamina e (2*S*,3*S*)-2-formamido-3-metilpentanoato de metila como os componentes do feromônio sexual de fêmeas de *Migdolus fryanus* e Zarbin et al. (2003) identificaram (*S*)-2-metil-4-octanol [Me2-8:4-OH(*S*)] como feromônio de agregação em machos do Gorgulho-da-cana, *Sphenophorus Levis*.

**Figura 4 - Feromônio sexual de *Migdolus fryanus* (Westwood, 1863) e de agregação de *Sphenophorus levis* Vaurie, 1978**



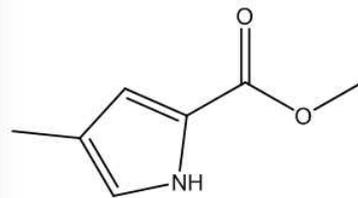
Fonte: Francesco Vitali e Ted C. MacRae

O feromônio de trilha de duas das espécies de *Atta spp.* (Figura 5), presentes em cana-de-açúcar, foi identificado como 4-metilpirrol-2-carboxilato de metila e 3-etil-2,5-dimetilpirazina para a saúva-cabeça-de-vidro, *Atta laevigata* Smith, 1860 (Hym.: Formicidae),

e saúva-mata-pasto, *Atta bisphaerica* Forel, 1908 (Hym.: Formicidae), respectivamente (OLIVEIRA et al., 1990 *apud* BERGMANN; GONZÁLEZ; ZARBIN, 2009)<sup>2</sup>.

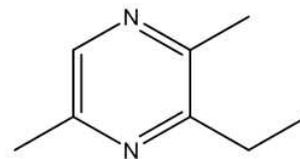
**Figura 5 - Feromônios de trilha de *Atta laevigata* Smith, 1860 e *Atta bisphaerica* Forel, 1908**

*Atta laevigata* Smith, 1860



4-Metilpirrol-2-carboxilato de metila

*Atta bisphaerica* Forel, 1908



3-Etil-2,5-dimetilpirazina

Fonte: Alexander Wild e "The Virtual Museum of Attini Ants"

### 1.5. Significado dos Lepidopteros na agricultura

As mariposas e as borboletas constituem a ordem lepidoptera, são insetos de metamorfose completa, seu desenvolvimento começa nos estados imaturos ovo, larva e pupa, e terminam no adulto maduro. Estes insetos maduros estão adaptados a depender das plantas vivas, e as fêmeas da maioria das espécies produzem 200-600 ovos dentro de poucos dias. Muitas larvas destes lepidópteros provocam danos em cultivos de uso humano, mas a maioria dos danos agrícolas ocorrem porque monoculturas são cultivadas em lugares distantes dos inimigos naturais das espécies de pragas, estas últimas sendo introduzidas em uma nova região por atividades humanas. O uso de inseticida aumenta ainda mais o problema, porque os inimigos naturais locais são eliminados, e as pragas se tornam resistentes aos inseticidas pela seleção de sobreviventes de tratamentos repetitivos (POWELL, 2009).

<sup>2</sup> OLIVEIRA, J. S. et al. Components of the trail pheromone of the leaf-cutting ants *Atta laevigata* Smith and *Atta bisphaerica* Forel (Formicidae: Attini). **Ann. Soc. Entomol. Brasil**, v. 19, p. 145-154, 1990.

As famílias Noctuidae, Tortricidae, Gelechiidae, Sesiidae, Pyralidae e Erebidae se destacam por contar com espécies de pragas que causam um alto impacto negativo ao agronegócio, atacando uma quantidade diferenciada de culturas, dentre estas as culturas com maior área plantada.

No Brasil os lepidópteros constituem a ordem com maior quantidade de espécies-praga, de 122 espécies de lepidópteros registrados, 25,5% são pragas de importantes culturas, sendo que sete das dez principais pragas são mariposas, destacando-se a família Noctuidae, seguida pela família Pyralidae. A mariposa *Spodoptera frugiperda* (Lep.: Noctuidae) ataca 14 diferentes culturas que, somadas, representam 97% de toda a área plantada no país. Portanto é a principal praga da agricultura brasileira (ZARBIN;RODRIGUES;LIMA, 2009).

#### **1.6. *Hyponeuma taltula* Schaus, 1904 (Lepidoptera, Erebidae, Herminiinae)**

Esta mariposa presente apenas no Brasil foi catalogada em 1904 pelo entomólogo William Schaus como *Hyponeuma taltula*, usando espécimens de São Paulo, e posteriormente com espécimens encontradas em Castro, PR foi denominada com o sinônimo *Hyponeuma leucanioides* (SCHAUS, 1906), em 1989 o gênero *Hyponeuma* foi catalogado dentro da subfamília Herminiinae e na família Noctuidae no catalogo de lepidópteros publicado nos Estados Unidos (POOLE, 1989), no 2011 a subfamília Herminiinae foi clasificada dentro da família Erebidae dos Noctuoideas (ZAHIRI et al., 2012).

Em 1973 foi relatada pela primeira vez a ocorrência desta espécie em canaviais de São Paulo e Pernambuco (GUAGLIUMI, 1973). Em 1984 foi reportada sua presença em canaviais do norte fluminense (REPSOLD;PEIXOTO, 1984) e 18 anos depois foi reportada nas regiões Sul e Centro-Oeste (MACEDO, 2005) e em 2003 observou-se em grande quantidade e distribuição nas áreas de cultivo da Usina Terra Nova (Pilar, Alagoas) (MACEDO;MACEDO, 2007). Em 2010 foi observada uma alta incidência deste inseto em Niviraí e Maracaju, Mato Grosso do Sul (MORAES;ÁVILA, 2014). Nas últimas safras de cana-de-açúcar do Nordeste do Brasil, as espécies *T. licus* e *H. taltula* tem se constituído como o principal problema fitossanitário em toda região canavieira (DARIO et al., 2014).

Denominada popularmente como broca-peluda da cana-de-açúcar, pelas longas setas distribuídas no corpo das lagartas (Figura 6), foi reconhecida inicialmente como praga por provocar danos similares aos causados por *Metamasius* Horn, 1873 (Col.: Dryophthoridae) (GUAGLIUMI, 1973).

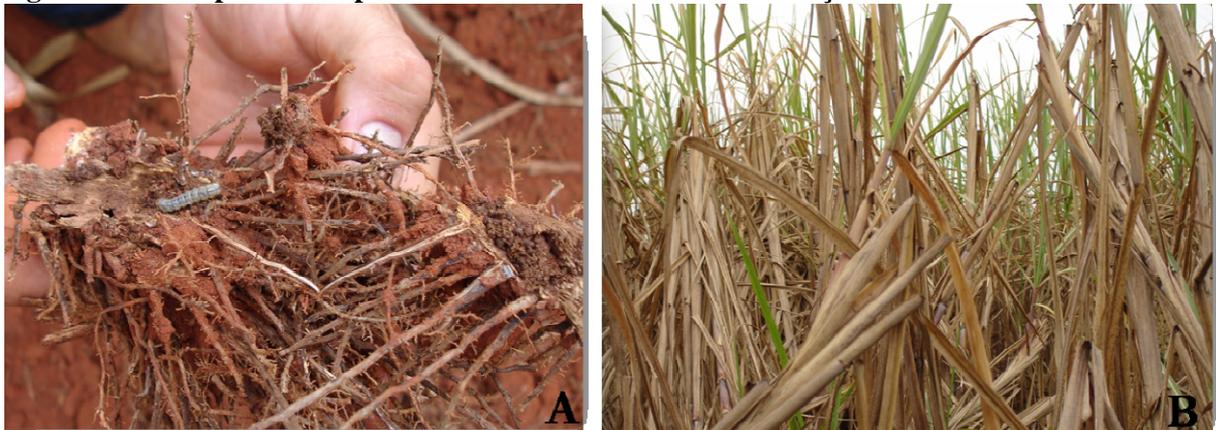
**Figura 6 - Lagarta de *H. taltula***



Fonte: Autora, 2014.

As mariposas colocam os ovos na base das plantas ou no palhiço sobre o solo e, ao emergir, as lagartas localizam-se na base das touceiras, no sistema radicular (Figura 7A), onde a alimentação dos rizomas e dos primeiros internódios basais em plantas novas causam a morte da gema apical, sintoma conhecido como “coração morto” e evidenciado pelo amarelecimento, secagem e possível morte de perfilhos, e em plantas adultas, ocasionam perda de peso, brotação lateral, enraizamento aéreo, canas quebradas (Figura 7B). (CANAOSTE, 2013). Além disso, danos indiretos envolvendo a entrada de fungos pelos orifícios têm ocasionado podridões, que resultam em diminuição do rendimento industrial devido a problemas de contaminação no processo da fermentação alcoólica (DARIO et al., 2014).

**Figura 7 - Dano provocado por *H. taltula* à cultura da cana-de-açúcar**

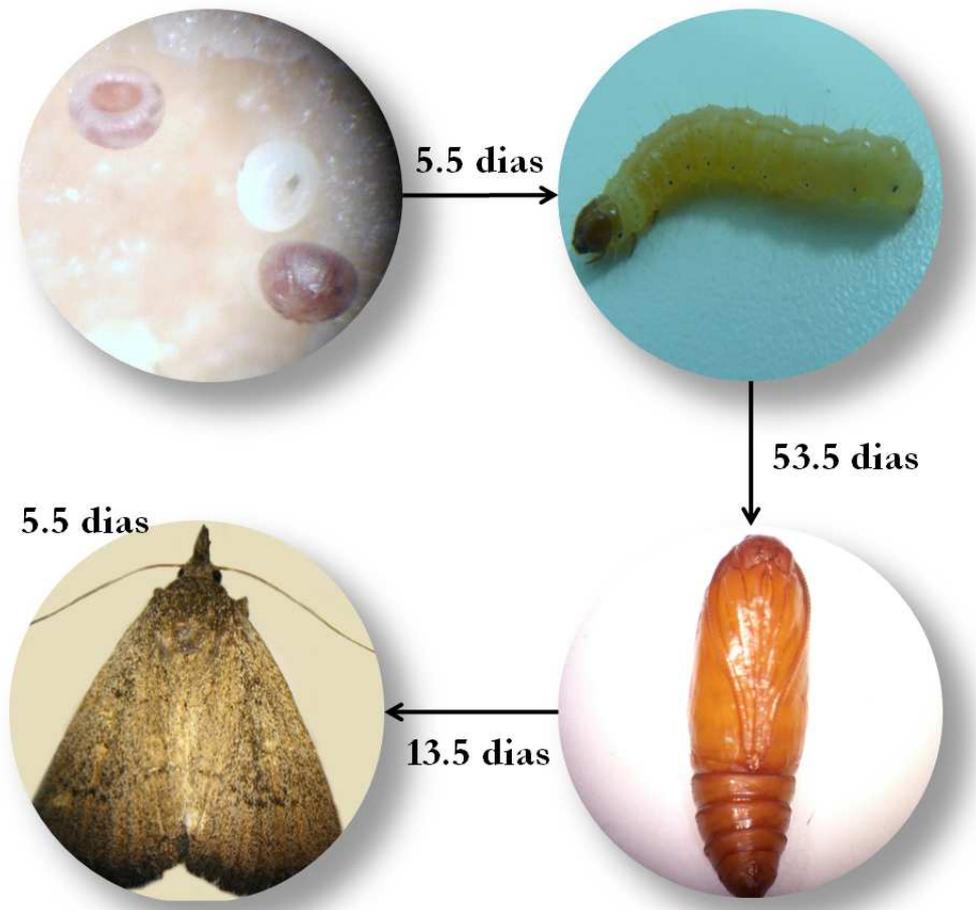


Nota: **A.** Lagarta de *H. taltula* na base das touceiras, **B.** enraizamento aéreo e canas quebradas

Fonte: Daniela Macedo

O ciclo de vida da *H. taltula* em laboratório, a  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ , 60% de UR e fotofase de 14 horas, é completado em 80 dias, conforme mostrado na Figura 8. Os ovos colocados de forma individualizada no solo pelas fêmeas permanecem neste estado por 5,5 dias, até a eclosão das lagartas as quais tem um desenvolvimento de 53,5 dias e a fase de pupa permanece por 13,5 dias. Os adultos vivem de 5 a 6 dias e cada fêmea ovíparas, em média, 85 ovos por dia, totalizando 425 ovos por fêmea (MACEDO;MACEDO, 2007).

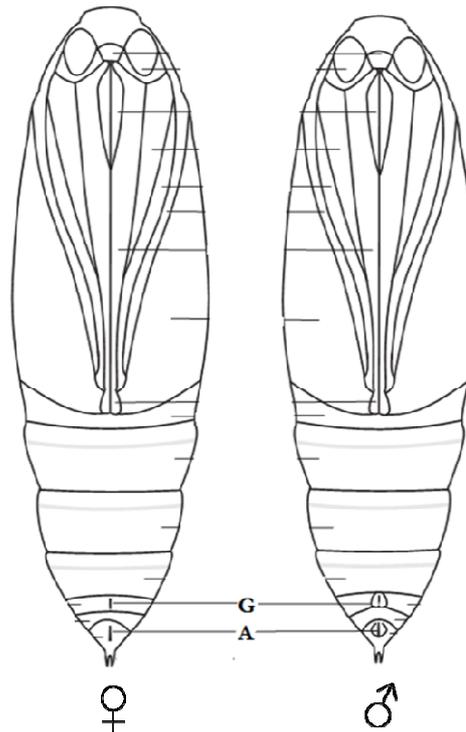
**Figura 8 - Ciclo de vida da *H. taltula***



Fonte: Autora, 2014.

Zenker et al. (2007) descrevem a morfologia das fases imaturas em *H. taltula* com espécies coletadas em Usina Triunfo, (Boca da Mata, AL). Os ovos apresentam um formato subpiramidal, não muito comum em herminíneos. As larvas são de coloração de fundo branca sem listras. As pupas são do tipo obtecta nas quais as partes do corpo do adulto são observadas, mas as partes externas como patas, antenas e asas encontram-se juntas ao corpo, a coloração inicial é marrom clara e com o desenvolvimento adquirem uma coloração mais escura. Na fase de pupa é possível observar o dimorfismo sexual conforme a Figura 9.

**Figura 9 - Dimorfismo sexual de pupas de *H. taltula***



Nota: **G.** Abertura Genital no oitavo segmento abdominal **A.** Abertura anal no décimo segmento abdominal.  
 Fonte: (ZENKER et al., 2007)

O controle mais utilizado para a *H. taltula* é o químico com aplicação de inseticidas temik e carbofurano (Furadam®) na linha e na entrelinha da cana-de-açúcar na Usina Maracaju - MS (CANAOSTE, 2013; MACEDO, 2005). Também foi estudada a eficiência dos inseticidas Tiametoxam (Actara®) e Clorantranilipole na Usina Triunfo Agroindustrial, Boca da Mata – AL, obtendo tão só um aumento de 14 a 23 % no número de colmos saudáveis. (DARIO et al., 2014). De igual forma, Rodrigues, Pinto e Segato (2012) reportam que os fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana* (Boveriz® Biocontrol) e *Metarhizium anisopliae* (Metarriz® Biocontrol) não foram eficazes no controle da broca-peluda, mas que o tiametoxam (Actara®250 WG) causou redução de 93,4% aos 28 dias após a aplicação em Ribeirão Preto, SP.

No entanto, Dario et al.(2014) reportam que não há inseticidas eficientes registrados para o controle desta praga e a principal metodologia adotada de controle é a catação manual das lagartas, que é onerosa e pouco adequada.

Uma patente sobre o uso de genes CRY do *Bacillus thuringiensis* relata a *H. taltula* como uma das pragas que pode ser controlada com esta modificação nas plantas (CHAVEZ;PARRA;GOMEZ-GOMEZ, 2014).

A biologia das brocas dificulta seu controle mediante agroquímicos, já que estas permanecem no colmo ou nos rizomas das culturas e usualmente bloqueiam suas entradas com resíduos de seda e matéria orgânica, o que evita seu contato com o agrotóxico. Portanto, faz-se necessária a implementação de outros métodos de controle como o controle por comportamento que é aplicado na fase adulta do inseto através o uso de feromônios

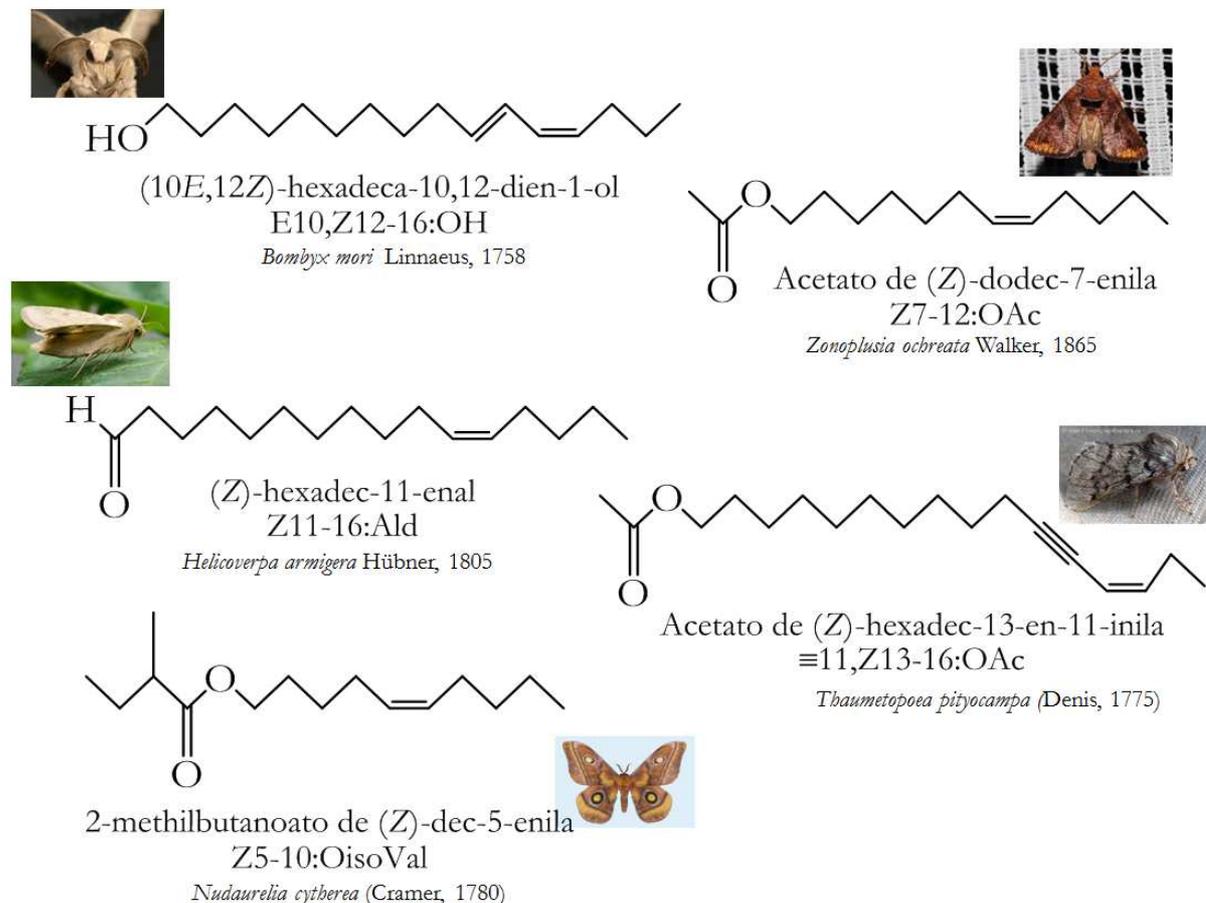
### **1.7. Feromônios sexuais em fêmeas de Lepidópteros**

A primeira descrição de comunicação sexual baseada em compostos químicos foi demonstrada em mariposas (GREENFIELD, 1981), e o primeiro feromônio sexual foi isolado em 1950 da mariposa *Bombyx mori* Linnaeus, 1758 (Bombycidae) a partir de cerca de 500.000 fêmeas adultas, sendo sua estrutura publicada apenas em 1959 (SHANI, 2000). Os Lepidopteros tem-se convertido na ordem de insetos mais estudados em relação aos feromônios, com dados disponíveis para várias centenas de espécies (ANDO;INOMATA;YAMAMOTO, 2004).

As fêmeas de mariposas comumente são responsáveis pela atração sexual, com fins de acasalamento, e produzem feromônios geralmente na glândula localizada perto do ovipositor na ponta do abdômen (CHAPMAN, 2009). Estes feromônios são caracterizados por sua especificidade para cada espécie, impedindo a hibridização interespecífica (SHANI, 2000).

Os feromônios femininos estão classificados segundo sua estrutura química em feromônios do tipo I constituídos principalmente por compostos de cadeias de carbono entre C<sub>10</sub> e C<sub>18</sub> com álcoois primários e seus derivados, acetatos ou aldeídos, com 0 a 3 insaturações, conforme Figura 10. Adição de grupos funcionais como ésteres de isobutila ou metilbutila e a presença de triplas ligações constituem um novo grupo de feromônios tipo I, também mostrados na Figura 10. Estes feromônios constituem 75% daqueles conhecidos em fêmeas de lepidópteros (ANDO;INOMATA;YAMAMOTO, 2004).

**Figura 10 - Estruturas químicas e nomenclatura de feromônios femininos Tipo I em lepidopteros**

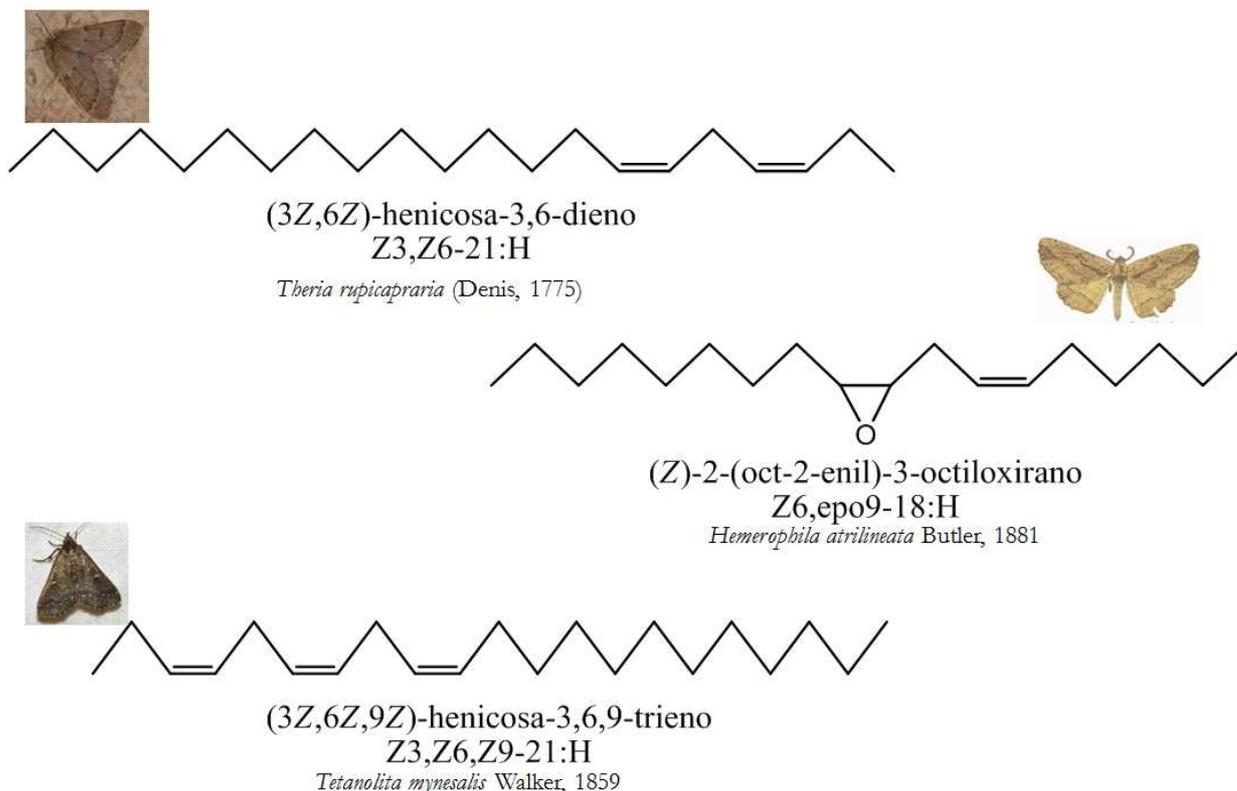


Nota: OisoVal = Ester do ácido isovalérico  $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH})\text{CH}_3\text{COOR}$

Os nomes destes feromônios são geralmente abreviados, escrevendo-se primeiro a configuração e a posição da dupla ligação separadas por um hífen do número de carbonos da cadeia, seguido por dois pontos e a abreviação do grupo funcional (OAc = acetato, OH = álcool, Ald = aldeído).

Outra grande classe de feromônios sexuais de fêmeas lepidópteros são o Tipo II, que são biossintetizados a partir de derivados da dieta do ácido linoleico para produzir derivados de Z6,Z9-hidrocarbonetos ou do ácido linolênico para produzir derivados de Z3,Z6,Z9-hidrocarbonetos, sendo caracterizados por cadeias lineares entre 17 e 23 carbonos, uma a três duplas ligações com configuração Z separadas por grupos metileno, além da possibilidade de até duas funções epóxido, como mostrado na Figura 11. As misturas feromonais desta classe apresentam componentes com diferentes comprimentos de cadeia, números de ligações duplas e grupos funcionais, bem como misturas de regioisômeros de epóxidos ou enantiômeros (MILLAR, 2000).

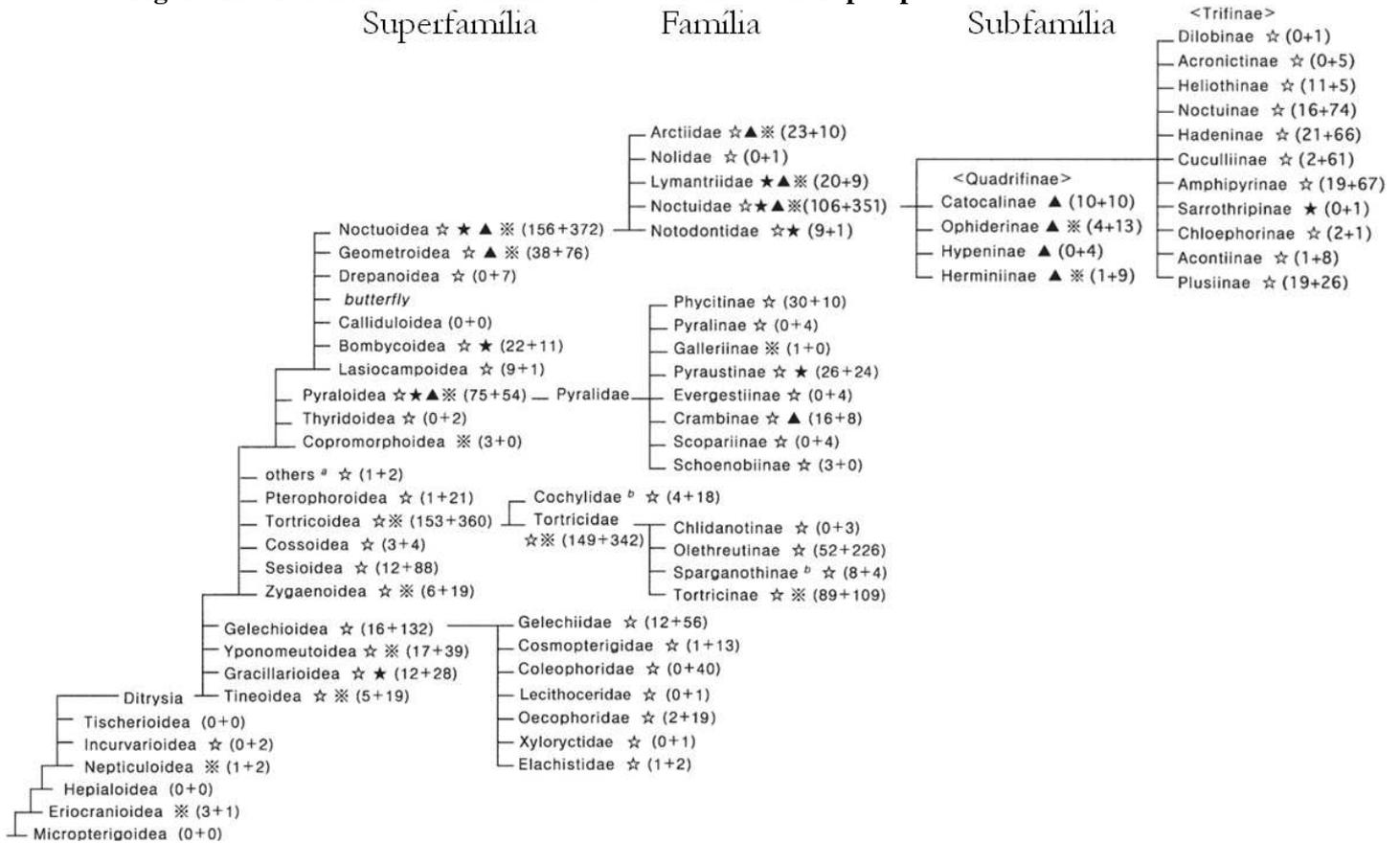
**Figura 11 - Estruturas químicas e nomenclatura de feromônios femininos Tipo II em lepidopteros**



Os feromônios de tipo II parecem ser restritos aos macrolepidópteros e, em particular, para três famílias de Noctuoidea (Noctuidae, Arctiidae, e Lymantridae), e à família Geometridae (superfamília Geometroidea). No entanto, os componentes do feromônio usado por espécies individuais variam entre e dentro das subfamílias, tribos e até gêneros (MILLAR, 2000). Uma classificação dos feromônios tipo I e II pela taxonomia (clasificação taxonômica do ano 2000) dos lepidópteros pode ser observada na Figura 12.

A variação das estruturas químicas em ambos os compostos dos tipos I e II resulta em diferenças nas enzimas biossintéticas e o seu material de partida. (ANDO;INOMATA;YAMAMOTO, 2004). Os feromônios do tipo II são sintetizados a partir dos ácidos linolênico e linoleico, enquanto que os do tipo I são produzidos na biossíntese de ácidos graxos. A Figura 13 e Figura 14 exemplificam a biossíntese destes feromônios.

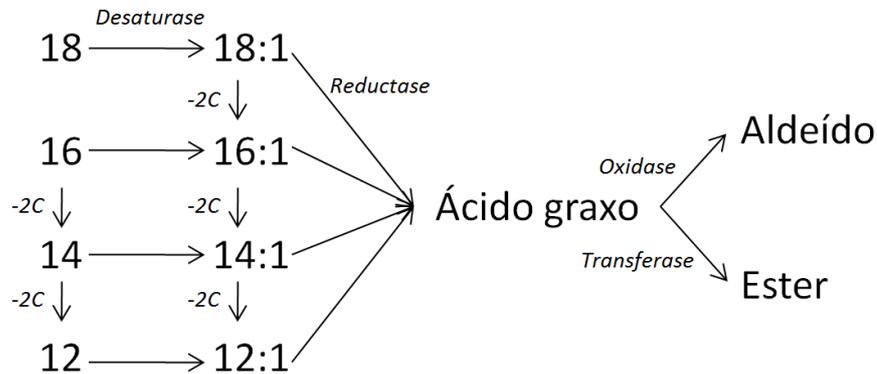
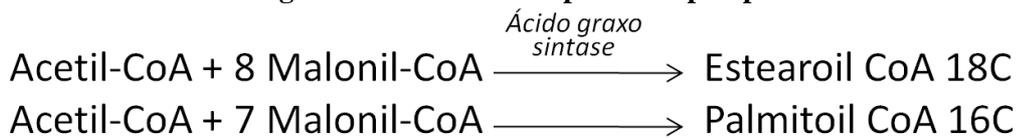
**Figura 12 - Taxonomia e feromônio sexual de fêmeas em Lepidópteros**



Nota: A superfamília de mariposas mais evoluída está disposta na parte superior. Os números antes e depois de + entre parênteses de cada grupo indica o número total de espécies cujo feromônio sexual feminina e atraente do sexo masculino têm sido relatados, respectivamente. Cada marca após o nome do grupo indica que algumas espécies dentro do grupo produz um componente feromônio de Tipo I (☆ com um grupo funcional comum, ★ com um grupo funcional novo), Tipo II (▲), Ou outros (✖).

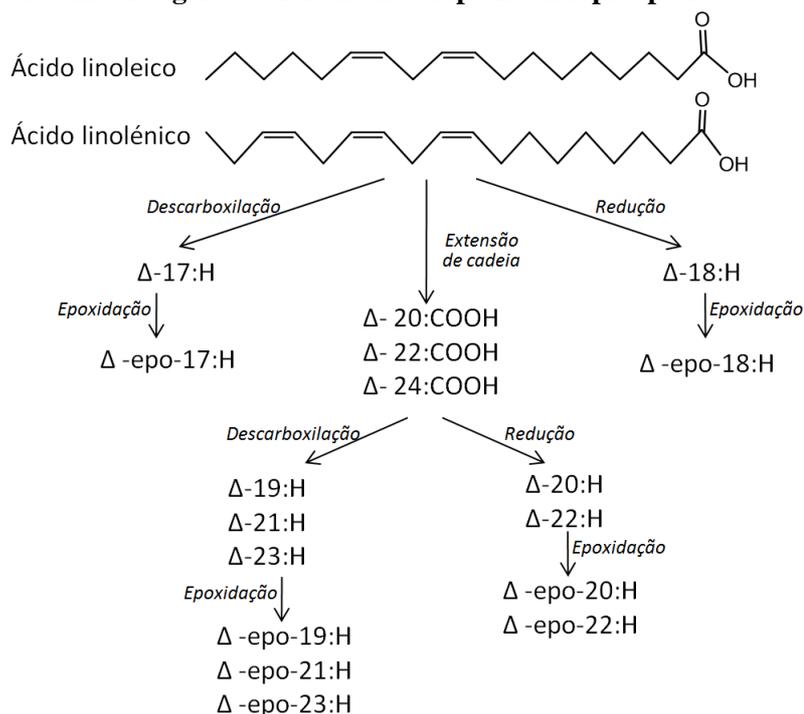
Fonte: (ANDO;INOMATA;YAMAMOTO, 2004)

**Figura 13 - Rota biossintética geral de feromônios Tipo I em lepidópteros**



Fonte: (JURENKA, 2004)

**Figura 14 - Rota biossintética geral de feromônios Tipo II em lepidópteros**



Fonte: (MILLAR, 2000)

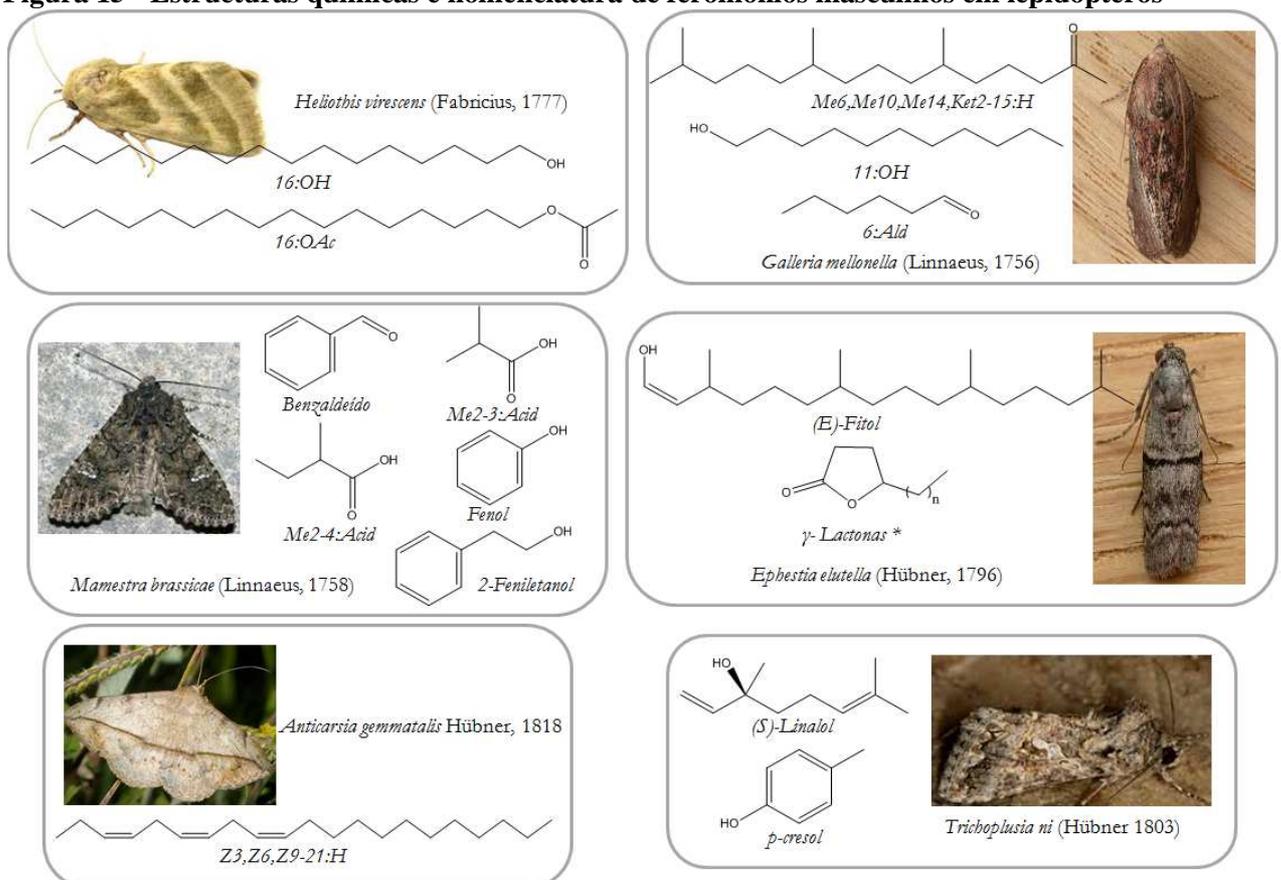
Igualmente aos feromônios tipo I, a nomenclatura das estruturas de tipo II geralmente é abreviada, por exemplo, o (Z,Z,Z)-3,6,9-heptadecatrieno é identificado como Z3,Z6,Z9-17:H. A nomenclatura IUPAC dos epóxidos é mais complexa, o [2R-[2α(2Z,5Z),3α]]-2-(2,5-octadienil)-3-undeciloxirano é abreviado como Z3,Z6,epo9-21:H(9S,10R) e o racemato é identificado como Z3,Z6,epo9-21:H (ANDO;INOMATA;YAMAMOTO, 2004).

### 1.8. Feromônios sexuais em machos de Lepidópteros

Machos de lepidópteros possuem órgãos liberadores de voláteis conhecidos como androcônias, que estão localizados no abdômen, tórax, pernas e asas, variando desde simples escamas até estruturas complexas. Muitos termos são usados para descrever estes órgãos, tais como escamas androconiais, pelos costais, escovas, pincel de pelos (hairpencil) ou coremata (BIRCH;POPPY;BAKER, 1990; FITZPATRICK;MCNEIL;MILLER, 1989; HEATH et al., 1992; HILLIER;VICKERS, 2011) Em lepidopteros vários estudos têm identificado a composição destas secreções masculinas em diferentes espécies (HEATH et al., 1992; HERNANDEZ-ROLDAN et al., 2014; JYOTHI;PRASUNA;PRASAD, 2005; LEBEDEVA et al., 2002; LECOMTE et al., 1998; TEAL;TUMLINSON, 1989). Os machos de algumas espécies de mariposas liberam compostos com similar estrutura as feromônios Tipo I de fêmeas como é o caso de *Heliothis virescens* (Fabricius, 1777) da família Noctuidae que apresentam no seu hairpencil álcoois e acetatos lineares entre 14 e 18 átomos de carbono

(HILLIER;VICKERS, 2004), além de ácidos carboxílicos (TEAL;TUMLINSON, 1989). Lebedeva et al. (2002) identificaram uma série de aldeídos lineares de 6 a 10 átomos de carbonos, undecanol e a cetona 6,10,14-trimetilpentadecan-2-ona como componentes das glândulas feromonais em asas de machos de *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1756) (Pyralidae). Outras espécies podem apresentar compostos completamente diferentes aos encontrados em fêmeas, conforme Figura 15. *Mamestra brassicae* (Linnaeus, 1758) (Noctuidae) apresenta benzaldeído, ácido 2-metilpropanoico, ácido 2-metilbutanoico, fenol e 2-feniletanol como componentes de seu hairpencil (JACQUIN;NAGNAN;FREROT, 1991) e *Pseudaletia unipuncta* Haworth, 1809 (Noctuidae) tem como componentes do hairpencil ácido acético, benzaldeído e fenol (FITZPATRICK;MCNEIL;MILLER, 1989). Os feromônios liberados pelos machos podem ser sintetizados através das mesmas rotas biosintéticas que usam as fêmeas (Figura 13,14 pag 39) ou também podem ser compostos adquiridos nas plantas hospedes destes insetos(SCHULZ, 1998).

**Figura 15 - Estruturas químicas e nomenclatura de feromônios masculinos em lepidopteros**



Os compostos feromonais de machos tem sido identificados cumprindo várias funções biológicas. Durante o corte, machos de muitas espécies de mariposas liberam feromônios que funcionam como afrodisíacos para fêmeas coespecíficas (HEATH et al., 1992;

HILLIER;KELLY;VICKERS, 2007). Hillier e Vickers (2011) demonstraram que voláteis liberados por hairpencil de *Helicoverpa subflexa* (Noctuidae) aumentam a probabilidade de sucesso de acasalamento com as fêmeas da mesma espécie. Estes afrodisíacos permitem que as fêmeas entrem em repouso e fiquem mais propensas a aceitar o corte do macho, indicando a seleção sexual das fêmeas (JACQUIN;NAGNAN;FREROT, 1991). Também foi observado que o (*S*)-(+)-linalool, *p*-cresol, e *m*-cresol compostos em hairpencil de machos de *Trichoplusia ni* (Hübner, 1803) (Noctuidae) atraem as fêmeas em túnel de vento (HEATH et al., 1992).

Em *Ephestia elutella* (Hübner, 1796) (Pyralidae) observou-se que os compostos (*E*)-fitol e uma série de  $\gamma$ -lactonas saturadas das glândulas feromonais das asas atraem machos coespecíficos (PHELAN et al., 1986), enquanto que em *Grapholita molesta* Busck, 1916 (Tortricidae) além dos machos serem atraídos por voláteis de hairpencil de machos da mesma espécie, estes tentam copular com fêmeas que estão sendo ativamente cortejadas por outros machos (BAKER;CARDE, 1979).

Os compostos produzidos pelos machos de cada espécie podem inibir o acasalamento entre espécies através dos efeitos sobre o sexo masculino ou sobre as fêmeas. Em machos, estes voláteis atuam como repelentes coespecíficos de machos, para inibir a competição sexual (HILLIER;KELLY;VICKERS, 2007), como acontece em machos de *H. virescens*, que tentaram copular com menor frequência na presença de extrato de hairpencil da mesma espécie (HILLIER;VICKERS, 2011) e, no caso das fêmeas, permitem a estas diferenciar entre machos de outras espécies pelos seus componentes voláteis, indicando que a presença seletiva por espécie destes compostos é indispensável para o sucesso do acasalamento. Ensaio com *H. virescens* e *H. subflexa* demonstram que o acasalamento entre uma fêmea de *H. virescens* e um macho de *H. subflexa* ou entre uma fêmea *H. subflexa* e um macho de *H. virescens* tiveram maior êxito na presença do extrato dos hairpencil de machos da mesma espécie. Também observaram que os machos de *H. virescens* com ablação de hairpencil melhorou o acasalamento com fêmeas de *H. subflexa* (HILLIER;VICKERS, 2011).

Igualmente às misturas feromonais das fêmeas, a relação específica entre os componentes dos feromônios masculinos é requerida para a aceitação do macho pela fêmea, permitindo diferenciar entre seus pretendentes ou entre machos de diferentes espécies com os mesmos componentes feromonais (HILLIER;VICKERS, 2004).

### 1.9. Feromônios sexuais da subfamília Herminiinae

Dentro da família Herminiinae reportam-se 1000 espécies com distribuição latitudinal tropical temperados, alimentando-se de folhas e fungos (MITCHELL;MITTER;REGIER, 2006). Espécies como a “dark-spotted palthis moth” *Palthis angulalis* Hübner, 1796 é encontrada no oeste de Newfoundland, na zona costeira de British Columbia, e ao sul da Flórida e Texas, e a *Idia aemula* Hübner, 1813 encontra-se no sul de Canadá, Flórida e Texas e na maior parte da Eurásia (MITCHELL;MITTER;REGIER, 2006).

A subfamília Herminiinae era anteriormente classificada no grupo Quadriinae dos Noctuides, reconhecidos porque a maioria das espécies são atraídas para feromônios do tipo II ou outros que não são classificados dentro dos tipos I ou II. A maioria dos relatos referem-se a compostos que atraem os machos e alguns poucos à identificação do feromônio sexual da fêmea (ANDO et al., 1993; MILLAR, 2000).

No norte da Flórida, Landolt et al. (1996) em ensaios de campo atraíram com o epóxido Z3,epo6,Z9-19:H (6S,7R) a Herminiinae *Renia salusalis* Walker, 1859 (Figura 16A pag 44). De igual forma, foram testados no Vietnã feromônios de tipo II, Z3,Z6,epo9-21:H, Z3,Z6,epo9-18:H, Z3,Z6,epo9-19:H e Z3,epo6,Z9-19:H encontrando dentre os machos atraídos, três espécies pertencentes à família Erebidae, *Hypena sp.* atraído por Z3,Z6,epo9-21:H; *Luceria sp.* atraído por Z3,Z6,epo9-18:H; e *Zanclognatha sp.* por Z3,epo6,Z9-19:H (VAN HAI et al., 2002). Esta última espécie pertence à subfamília Herminiinae, gênero que anteriormente foi reportado sendo atraído pelo isômero E do feromônio sexual de *Lymantria dispar* (Linnaeus, 1758) (Lep.: Lymantriidae) (Me2,epo7-18:H), com concentrações ótimas entre  $10^{-4}$ - $10^{-5}$ g para atrair apenas machos (MINYAILO et al., 1977). Similarmente as espécies *Bleptina caradrinalis* Guenée, 1852 (Figura 16G) e *Idia aemula* (Figura 16F) foram atraídas à iscas com misturas dos epóxidos de Z3,Z6,Z9-21:H (epo6; epo3; epo9), enquanto que *Idia americalis* (Guenée, 1854) (Figura 16H) foi atraída para mistura de epóxidos de Z3,Z6,Z9-20:H (WONG et al., 1985).

Em 1996 Haynes et al. demonstraram que o enantiômero atraente de machos da Herminiinae *Tetanolita mynesalis* Walker, 185) (Figura 16B) é o Z3,epo6,Z9-21:H (6S,7R), em uma mistura 1:1 com Z3,Z6,Z9-21:H e que são usados como alomônios pelas aranhas

boleadeiras para atrair machos de mariposas noturnas. Esta é a única espécie que tem sido descrita usando o hidrocarboneto trieno como parte da mistura feromônica feminina.

Em Tokyo, Ando et al. (1995; 1993) observaram que machos de *Adrapta notigera* (Butler, 1879) (Figura 16C) são atraídos à iscas pelos epóxidos Z3,epo6,Z9-23:H e Z3,epo6,Z9-22:H, enquanto que de *Paracolax pryeri* (Butler, 1879) (Figura 16D) são atraídos por Z3,epo6,Z9-20:H.

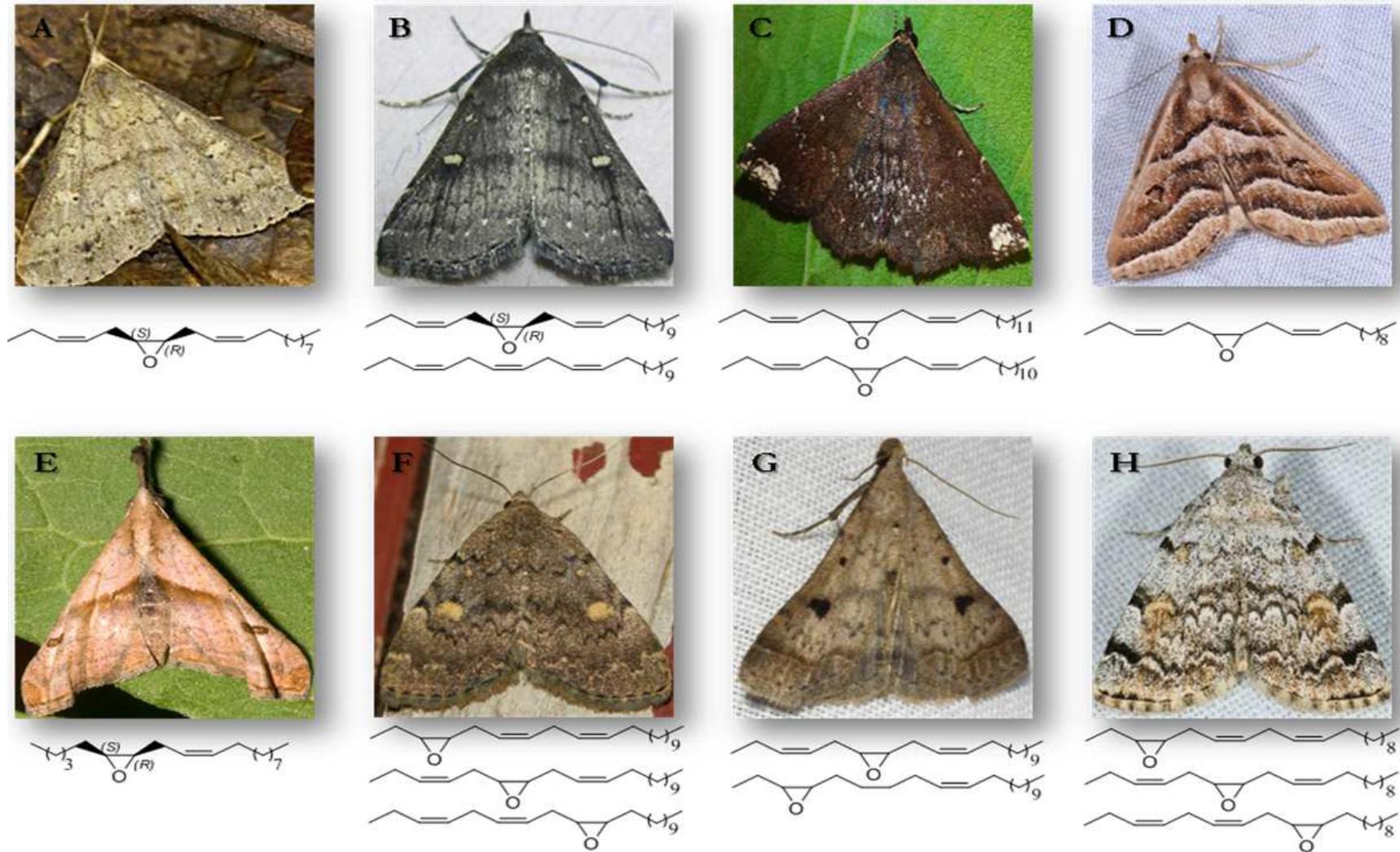
A maioria dos machos da subfamília Herminiinae são atraídos por compostos de cadeias de 19 a 23 carbonos com duas insaturações e epóxidos *cis* principalmente na posição 6, além de apenas um composto químico ser responsável pela atração na maioria das espécies (ANDO et al., 1995). A estereoespecificidade do epóxido em alguns casos pode ser de extrema importância, já que Millar et al., (1991A) notaram que o enantiômero Z9,epo6-19:H (6R,7S) é antagonista ao atraente sexual Z9,epo6-19:H (6S,7R) de *Palthis angulalis* Hübner, 1796 (Figura 16E).

### 1.10. Sensilas na superfamília Noctuoidea

Antenas de mariposas desempenham papéis importantes na procura de hospedeiros, alimentos, reconhecimento de parceiro e escolha do local de oviposição (HANSSON, 1995). Elas variam amplamente entre espécies em termos do seu comprimento, o tamanho global e os tamanhos dos segmentos individuais, sendo que a segmentação e a presença de estruturas características estão intimamente relacionadas com as suas funções biológicas (GEORGE et al., 1984 apud (ZHENG et al., 2014))<sup>3</sup>. As antenas são tradutoras de sinais, nas quais estímulos externos são traduzidos em impulsos nervosos para o cérebro do inseto. Esta transformação ocorre em órgãos presentes nas antenas conhecidos como sensilas. Os compostos químicos como os feromônios entram na linfa sensilar através de poros presentes na cutícula e são transportados por proteínas ligantes de odorantes (OBPs) até os receptores olfativos situados na dendrina das sensilas, em que a ativação dos receptores (por as moléculas dos feromônios ou por conformações ativas das OBPs) inicia uma cascata de eventos que leva à geração de impulsos nervosos (Figura 17 pag 45) (LAUGHLIN et al.; LEAL, 2005).

<sup>3</sup> GEORGE J. A., NAGY B. A. L., Morphology distribution and ultrastructural differences of sensilla trichodea and basiconica on the antennae of the oriental fruit moth, *Grapholitha molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae). *Int J Insect Morph Embr*, v. 13, p. 157-170, 1984.

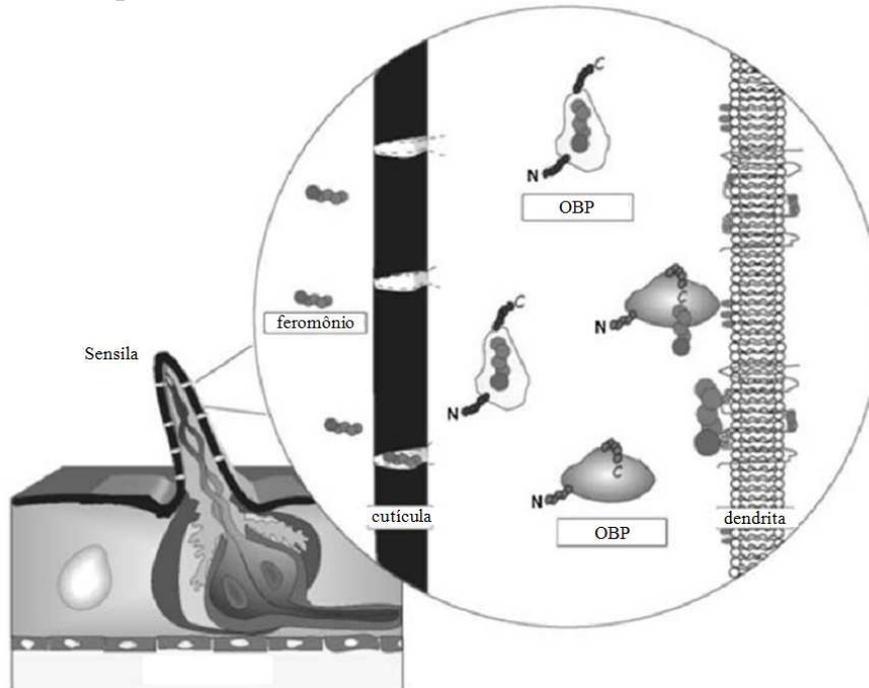
Figura 16 - Espécies da subfamília Herminiinae e atraentes de machos ou feromônios sexuais



Nota: A. *Renia salusalis* (Walkertam, 1859) B. *Tetanolita mynesalis* (Walker, 1859) C. *Adrapsa notigera* (Butler, 1879) D. *Paracolax pryeri* (Butler, 1879) E. *Palthis angulalis* (Hübner, 1796) F. *Idia aemula* (Hübner, 1813) G. *Bleptina caradrinalis* (Guenée, 1852) H. *Idia americalis* (Guenée, 1854).

Fonte: Hhowell; Pete William; Kenichiro Nakao; Shipher Wu; Mike Boone; Arne Myrabo; John Davis; Siobhan Basile.

**Figura 17 - Transporte de feromônios no interior das sensilas**



Fonte: (LEAL, 2005)

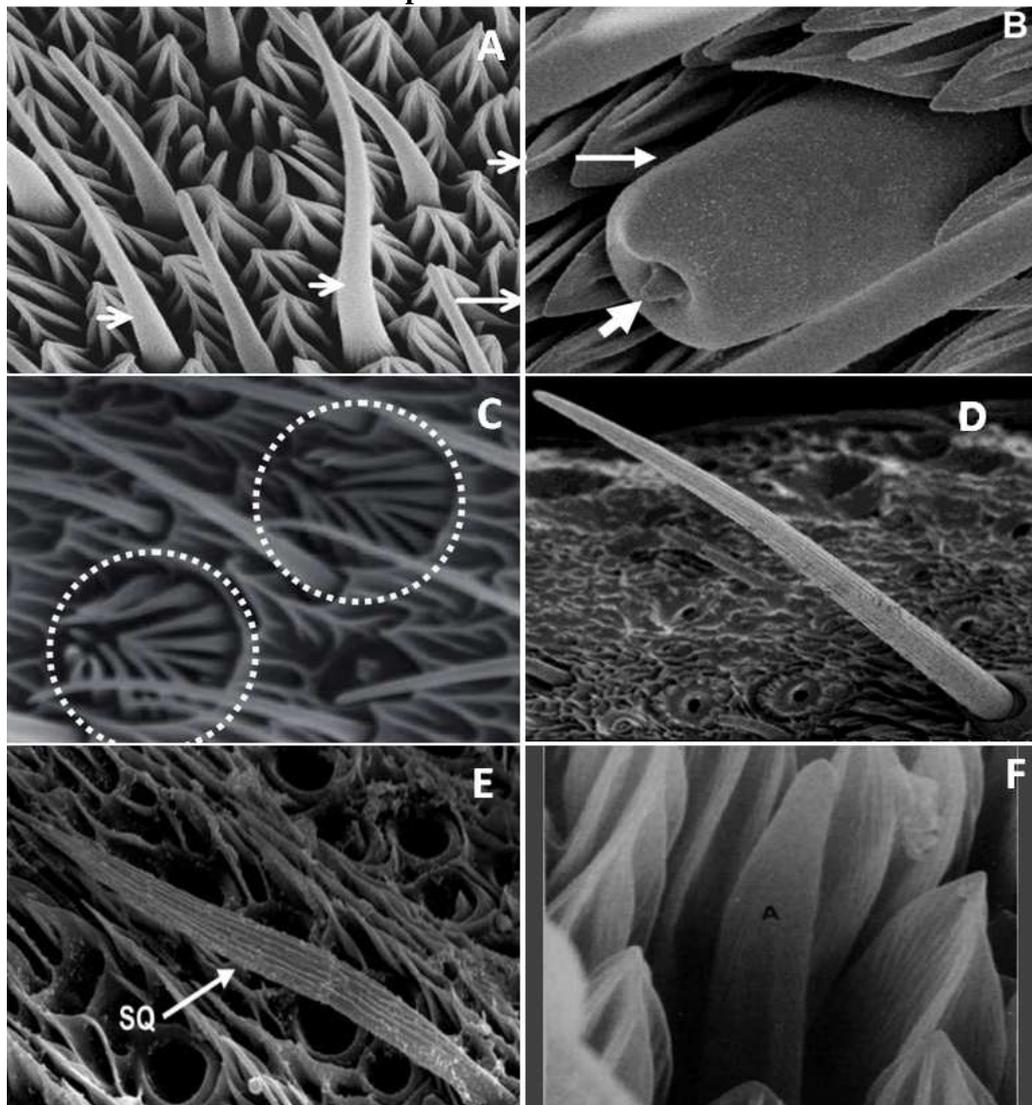
As antenas de mariposas da superfamília Noctuoidea têm uma superfície dorsal que se constitui principalmente de escamas e uma superfície ventral constituída por sensilas (MALO et al., 2004). Os insetos adultos possuem diferentes tipos de sensilas, cada uma com funções específicas e que desempenham papéis importantes em vários comportamentos durante a vida adulta (KEIL, 1997). Estas sensilas são as principais ferramentas de comunicação química dos insetos e oferecem muitas vantagens funcionais na capacidade de um inseto de perceber e responder aos sinais ambientais, facilitando a detecção de estímulos sensoriais (DERBY;STEULLET, 2001). A complexidade e abundância de sensilas nas antenas das mariposas estão ligadas intimamente com a ecologia comportamental do inseto (FAUCHEUX, 2006).

Existem varias classes de sensilas e, dentre as reportadas na superfamília Noctuoidea, encontram-se as sensilas tricóides (Figura 18A) importante nos sinais olfativos principalmente para detecção de feromônios sexuais, sensila estilocônica (Figura 18B) e coelocônica (Figura 18C) sensíveis à temperatura e umidade, sensilas caeticas (Figura 18D), campaniformes e esquamiformes (Figura 18E) envolvidas nos estímulos mecânicos. As sensilas caeticas também têm sido reportadas como sensíveis a estímulos gustativos e as sensilas aurilicas (Figura 18F) são descritas como sensíveis aos voláteis de plantas em *Bombyx mori* as coelocônicas também foram sensíveis a voláteis de plantas

(ANDERSON;HALLBERG;SUBCHEV, 2000; POPHOF, 1997; SCHNEIDER, 1964; ZHANG;MAIDA;STEINBRECHT, 2001).

Os receptores de feromônios em mariposas Noctuoideos estão ao longo das sensilas tricóides. Estas são geralmente multiporosas, o que permite o acesso dos componentes feromonais aos neurônios da mariposa (STEINBRECHT, 1973)(CHRISTENSEN E HILDEBRAND, 2002)(VÁSQUEZ et al., 2013; ZHANG;MAIDA;STEINBRECHT, 2001).

**Figura 18 - Sensilas de antenas de mariposas Noctuoideas**



Nota: **A.** sensila tricóide de *Spodoptera littoralis* **B.** sensila estilocônica de *Catocala remissa*, **C.** sensila coelocônica de *Helicoverpa armigera*, **D.** sensila caética de *C. remissa*, **E.** sensila esquamiforme de *C. remissa*, **F.** sensila aurilica *Pseudaletia Unipuncta*

Fonte: (BINYAMEEN et al., 2012; DIONGUE;YANG;LAI, 2013; LAVOIEDORNIK;MCNEIL, 1987; ZHENG et al., 2014).

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo Geral

Estudar a ecologia química da *Hyponeuma taltula*, evidenciando a presença de feromônios sexuais

### 2.2. Objetivos Específicos

- Descrever o comportamento da *H. taltula*, caracterizando os comportamentos referentes à atividade sexual e determinar o tempo médio de cópula.
- Caracterizar morfológicamente as antenas de adultos de *H.taltula* e descrever as diferentes sensilas presentes nas antenas.
- Extrair os compostos presentes nas glândulas abdominais das fêmeas e nos hairpencils dos machos.
- Evidenciar a presença de um feromônio sexual liberado pela glândula abdominal da fêmea da *H. taltula* mediante bioensaios de atração em arena.
- Identificar os compostos das glândulas das fêmeas que apresentam atividade eletroantenográfica na antena dos machos, mediante eletroantenografia acoplada à cromatografia gasosa (CG-DEA).
- Elucidar a estrutura química dos componentes do extrato hexânico da glândula abdominal da fêmea da *H. taltula*, utilizando espectrometria de massas.
- Elucidar a estrutura química dos componentes do extrato hexânico do hairpencil do macho da *H. taltula*, utilizando espectrometria de massas.
- Propor compostos candidatos presentes no feromônio sexual feminino e masculino da *H. taltula*.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Manutenção de insetos em laboratório

A população da *H. taltula* foi estabelecida no laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais (Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas) usando larvas de diferentes instares, fornecidas pela Usina Triunfo Agroindustrial, localizada no município de Boca da Mata, estado de Alagoas, Brasil, a 132 m de altitude e coordenadas geográficas de 09° 38' 27,6" de latitude sul e 36° 13' 12,0" de longitude oeste.

A manutenção dos insetos no laboratório foi realizada de acordo com o relatado por Macedo et al. (2007) e por Silva (2012) com algumas modificações. A temperatura foi mantida a  $27,2 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa de  $81 \pm 3\%$  e fotoperíodo invertido de 14 h fotofase e 10 h escotofase.

As lagartas foram mantidas individualmente em placas de petri e alimentadas com dieta artificial fornecida pelo laboratório de produção de *Cotesia flavipes* da Usina Triunfo, com composição relatada por Macedo et al. (2007). As lagartas permaneceram nesse recipiente até atingirem a fase de pupa (Figura 19 A).

A sexagem das pupas foi realizada de acordo com prévias descrições sobre o dimorfismo sexual em pupas de *H.taltula* (ZENKER et al., 2007) e mantidas em recipientes plásticos sobre papel filtro umedecido em gaiolas quadradas de  $(40 \text{ cm}^3)$  (Figura 19 B). Os adultos emergidos foram coletados diariamente ao início da escotofase, e designando um dia de idade. Foram transferidos para gaiolas do mesmo tamanho das pupas e alimentados com solução de mel 10% (Figura 19C).

#### 3.2. Análise do comportamento sexual

Vinte casais de insetos ( $\text{♀}/\text{♂}$ ) de 1 a 5 dias de idade foram observados sob luz vermelha (15 W) durante a primeira e oitava hora da escotofase em arenas de vidro vedadas com tela (20 cm x 15 cm x 30 cm) sob as mesmas condições de temperatura e umidade relativa estabelecidos na manutenção. Comportamentos de vinte acasalamentos exitosos foram analisados para produzir um diagrama que descreve os comportamentos masculinos e femininos que ocorrem durante o corte e para determinar o tempo médio de cópula. Cada ensaio foi registrado em câmara filmadora Sony (AVCHD).

**Figura 19 - Criação em laboratório de *H. taltula***



Nota: Criação a  $27,2 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$ ,  $81 \pm 3\%$  UR, 14 h:10 h (L:E). **A.** alimentação de lagartas com dieta individual; **B.** manutenção de pupas; **C.** Gaiolas de manutenção de pupas e adultos.

Fonte: Autora, 2014.

### 3.3. Microscopia de varredura eletrônica (MEV) de antenas de *H. taltula*

As antenas de *H. taltula* foram removidas de machos e fêmeas de 1 ou 2 dias de idade e imediatamente imersas em solução de Glutaraldeído 2% em tampão de fosfato (0,1M pH 7) durante dois minutos, posteriormente foram imersas por trinta segundos para desidratação numa série de soluções de etanol (50, 70, 80, 90 e 99%). Foram colocadas em suportes de alumínio sobre fita adesiva elétrica de sulfito de carbono e metalizadas com alvo de ouro a 10 mA durante oito minutos. O metalizador usado foi Sanyu Electron, modelo Quick Coater SC-701 (Figura 20). As antenas foram observadas usando um microscópio eletrônico de varredura (Shimadzu SSX-550 Superscan) a 12 kV para as antenas de machos e 15 kV para as antenas de fêmeas. No total foram usadas quatro antenas, dois de cada sexo.

**Figura 20 - Metalização de antenas de *H. taltula* para MEV**



Fonte: Autora, 2014.

### **3.4. Extração de glândulas abdominais de fêmeas e hairpencils de machos**

Nas mesmas condições de criação, fêmeas virgens de 2-4 dias de idade foram individualizadas em caixas plásticas e durante o comportamento de chamamento foram adormecidas em congelador por dois minutos. Posteriormente, aplicou-se pressão ao abdômen de cada fêmea até o ovipositor e a glândula serem expostos. Estes foram removidos com tesouras de dissecação fina, e imersos em 100  $\mu$ L de Hexano (grau HPLC bidestilado). Depois de 15 minutos de extração, o sobrenadante foi transferido para um vial cônico e mantido em refrigeração (Figura 21). Um total de 11 extratos, contendo de 4 a 10 glândulas por extrato, foi obtido.

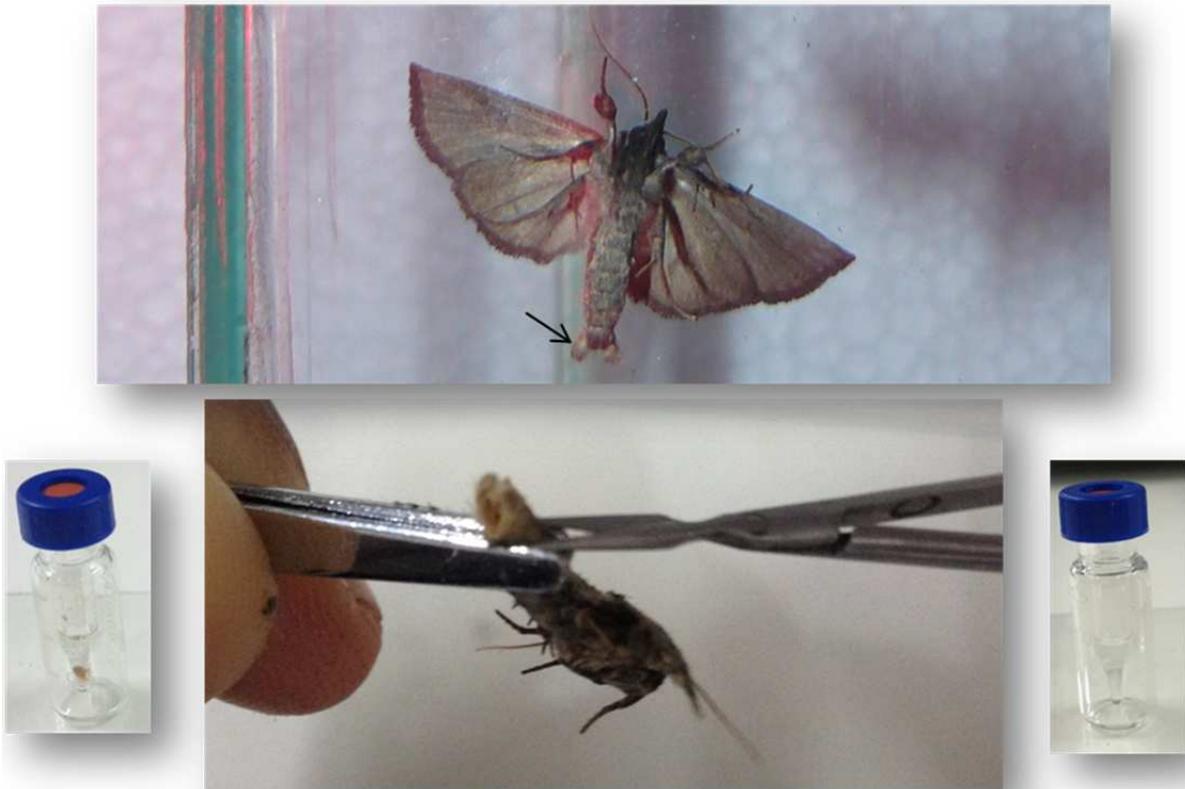
Grupos de 5-10 machos virgens de 2-4 dias de idade foram colocados em caixas de vidro (20 cm x 30 cm x 15 cm) e durante o período de acasalamento aplicou-se pressão aos últimos segmentos do abdômen de cada macho até a exposição dos hairpencils. Estes foram removidos com tesouras de dissecação fina, e imersos em 100  $\mu$ L de Hexano (grau HPLC bidestilado). Após 15 minutos de extração, o sobrenadante foi transferido para um vial cônico e mantido em refrigeração (Figura 22). Um total de 5 extratos, de 8 a 20 cortes por extrato, foi obtido.

**Figura 21 - Extração de glândulas abdominais de fêmeas de *H. taltula***



Fonte: Autora, 2014.

**Figura 22 - Extração de hairpencils de machos de *H. taltula***



Nota: Hairpencils indicados por seta.

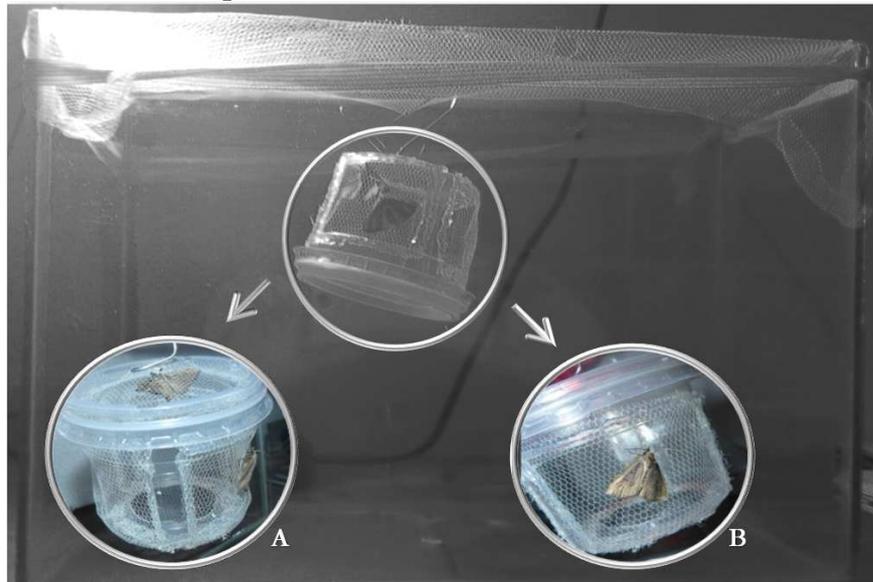
Fonte: Autora, 2014.

### 3.5. Determinação da atividade biológica do extrato abdominal da fêmea

Para a determinação da existência de um feromônio sexual mediando o acasalamento de *H. taltula*, 80 insetos virgens, 20 fêmeas e 60 machos de 2 a 4 dias de idade foram usados para bioensaios, numa câmara de vidro com tampa de voile (20cm x 30cm x 15cm), nas mesmas condições de temperatura, umidade e luminosidade da criação, durante a segunda e sexta hora da escotofase.

As fontes de estímulo, 20 fêmeas em chamamento, 20 extratos de glândulas abdominais de fêmeas e o tratamento controle (hexano) foram colocados em gaiolas de malha cilíndricas feitas de voile (6 cm d. x 5 cm l.) e suspensas na parte superior da gaiola para permitir a passagem de ar através desta, como é mostrado na Figura 23. Para o tratamento com extrato foi utilizado 20µL de extrato de 10 glândulas abdominal da fêmea (equivalente a duas fêmeas) e para o tratamento controle foi usado 20 µL de hexano bidestilado (grau HPLC). Estes volumes foram adicionados a um papel filtro de 1cm<sup>2</sup> colocado na parte superior da gaiola cilíndrica (SILVA, 2004). O macho foi introduzido na arena cinco minutos antes do começo do bioensaio para adaptação ao ambiente e as fêmeas foram previamente introduzidas nas gaiolas cilíndricas. Ao observar o início da exposição da glândula por parte das fêmeas, estas foram introduzidas na arena dando começo ao bioensaio.

**Figura 23 - Arena usada nos bioensaios para a determinação da presença de estímulo químico mediando o comportamento sexual do macho de *H. taltula*.**



Nota: **A.** Tratamento com fêmeas chamando. **B.** Tratamento com extrato de glândulas de fêmeas em papel de filtro.

Fonte: Autora, 2014.

Os machos foram usados uma vez e descartados, com exceção daqueles que não apresentaram atividade durante 2 min, comportamento identificado pela agitação de asas e voos subsequentes, sendo retirados e usados em outros bioensaios.

Os comportamentos sexuais do macho foram registrados mediante observações durante 20 min e foram classificados em: voo (V), caminhar agitando as asas (CA), caminhar agitando as asas na gaiola (CAG), voar na direção da fonte (VF), pousar na gaiola de contenção da fonte (PG) e tentativa de cópula (TG). Foram usados 20 machos por tratamento.

### **3.6. Análises estatísticas**

Os dados obtidos de 20 observações de comportamento foram submetidos à análise de normalidade pelo teste de Lilliefors ( $P < 0.05$ ) e de homogeneidade de variâncias pelo teste de Bartlett ( $P < 0.05$ ). Para determinar a associação ou independência dos comportamentos classificados, foram determinados os coeficientes de correlação de Spearman entre cada comportamento ( $P < 0.01$ ). O programa utilizado foi o Sistema de Análise Estatística e Genética, "SAEG" V.5.1.UFV-1995.

O delineamento experimental usado para a determinação da atividade biológica do extrato abdominal da fêmea foi inteiramente casualizado com 20 repetições. Foi avaliada a resposta comportamental de machos virgens de *H. taltula* diante dos seguintes tratamentos: 1) fêmea em chamamento, 2) extrato de glândulas abdominais de fêmeas e 3) controle (hexano). Para determinar a diferença dos comportamentos entre os tratamentos foi utilizado o teste de Mann-Whitney ( $P < 0.05$ ) no programa ASSISTAT (SILVA;AZEVEDO, 2006).

### **3.7. Análises químicas por cromatografia gasosa e elucidção estrutural de compostos por Espectrometria de Massas (EM)**

Os extratos foram analisados por cromatografia gasosa (CG) em um Cromatógrafo Shimadzu GC-2010 acoplado a um detector de ionização em chama (DIC). A cromatografia foi realizada em coluna capilar RTX-5 (30m x 0,25mm d.i. x 0,25  $\mu$ m Restetek®). A temperatura do forno foi mantida à 50 °C por 5 minutos, com velocidade de aquecimento de 10 °C/min até 160 °C e, posteriormente, 6 °C/min até 250 °C, mantendo a última temperatura por 10 minutos. O nitrogênio foi usado como gás de arraste, com fluxo de 1.79 mL/min. A injeção de 1  $\mu$ L dos extratos foi feita no modo splitless à 250 °C e a detecção nesta mesma temperatura.

Os espectros de massas foram obtidos através de análises dos extratos por um cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas (CG-EM) modelo Shimadzu QP-2010 Ultra. A coluna capilar usada foi a NST-05 (30m x 0,25mm d.i. x 0,25 µm Nano Separation Technology®). O hélio foi usado como gás de arrastre com fluxo de 1.79 mL/min. O espectrômetro de massas operou com ionização por impacto de elétrons (70 eV) em modo de varredura entre 35 a 400 m/z. A fonte de íons se manteve constante a 200 °C e a interface a 250 °C. As condições do forno foram iguais às utilizadas nas análises por CG-DIC.

As análises dos cromatogramas e cromatogramas de íons totais (TIC) se realizaram mediante o programa CGsolution e CGMSsolution. Os espectros de massas do banco de dados do instituto nacional de padrões e tecnologia (NIST08 e NIST08s) e da biblioteca wiley229 auxiliaram a identificação estrutural dos compostos (BABUSHOK et al., 2007). Para cada composto relatado, foi analisado o espectro de massas e calculado o índice de Kovats (IK).

O índice de Kovats foi calculado mediante a equação de Van den Dool e Kratz (Equação 1) para cromatografia gasosa com temperatura programada (GIRARD, 1996), usando uma solução padrão de alcanos de 7 a 30 átomos de carbono. ( $Tr$  = tempo de retenção;  $x$  = composto em análises;  $n$  = numero de carbonos do alcano anterior ao  $Tr_x$ ;  $N=n+1$ )

$$IK = 100n + 100 \left( \frac{Tr_x - Tr_n}{Tr_N - Tr_n} \right)$$

#### **Equação 1 - Índice de Kovats**

Os padrões nonanal, (*E*)-2-decenal, ácido tetradecanoico, hexadecanol, ácido Hexadecanoico, octadecanol, ácido-(*Z*)-9-octadecenoico e os hidrocarbonetos  $C_7$  ao  $C_{30}$  foram adquiridos da Sigma-Aldrich® e analisados sob as mesmas condições cromatográficas que os extratos.

Para propor a posição e configuração das duplas ligações presentes nos compostos aqui relatados, critérios como o padrão de fragmentação dos compostos, a porcentagem de similaridade dos espectros de massas com as bases de dados NITS08, NITS08s e WILEY229, a configuração do provável composto precursor e análises quimiosistemática foram utilizados. Foi levado em consideração o fato de que as espécies são fortemente relacionadas no mesmo gênero com componentes feromonais em comum, podendo apenas diferir na proporção de cada um destes componentes (SHANI, 2000).

### 3.8. Cromatografia gasosa acoplada a eletroantenografia GC-DEA

Para as análises eletrofisiológicas, 2  $\mu\text{L}$  do extrato de glândulas de fêmeas foram separados em um GC (Schimadzu, CG-2010) acoplado a um detector DIC e a um detector eletroantegráfico (DEA), utilizando uma coluna RTX-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 $\mu\text{m}$  Restetek®) sob as mesmas condições cromatográficas utilizadas nas anteriores análises.

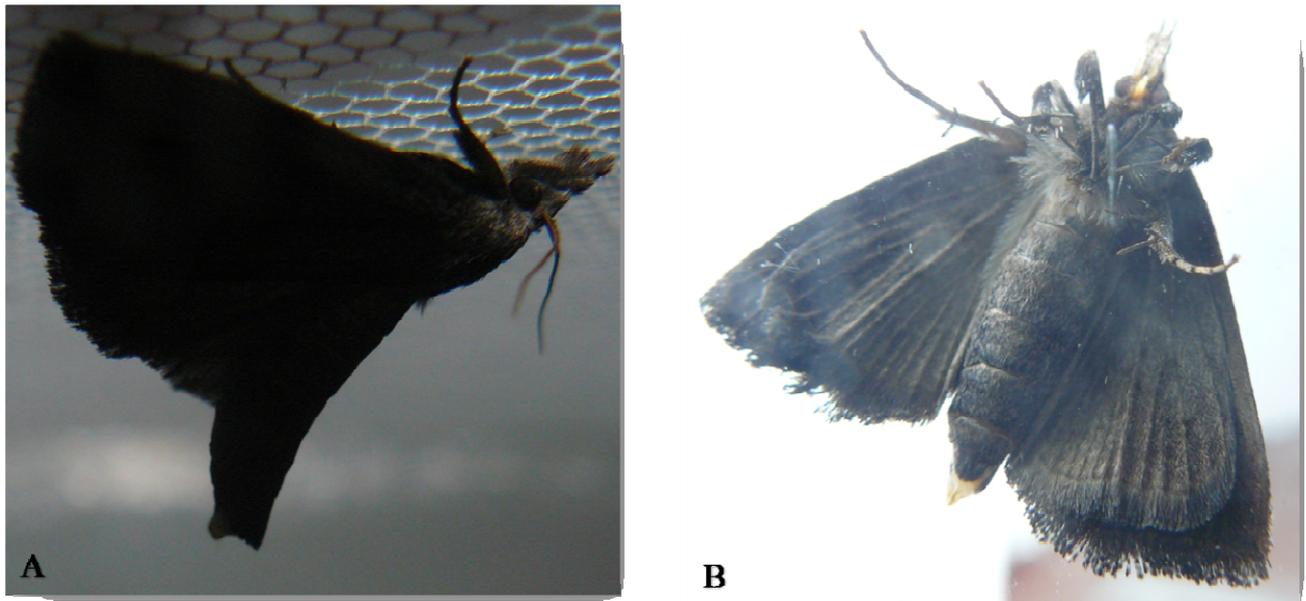
Três machos de *H. taltula* foram adormecidos em congelador por 2 minutos e posteriormente a antena foi removida do sclerite antenal. Os últimos flagelômeros da ponta da antena foram cortados antes de introduzir esta em capilares de vidro contendo solução salina colocados nos eletrodos de Ag-AgCl. Os sinais elétricos foram amplificados em um amplificador de alta impedância (IDA-4, Syntech Hilversum, Holanda) e analisados utilizando o programa Syntech GC-EAD32 versão 4.6, 2008. Os compostos que eluíram do cromatógrafo foram considerados ativos se apresentassem atividade eletroantegráfica em duas ou mais séries. Seis repetições da mesma amostra foram realizadas.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Análise etológica do comportamento sexual

No comportamento sexual de *H. taltula*, observou-se chamamento, corte e acasalamento. As fêmeas desde o primeiro dia de idade assumiram postura de chamamento contínuo com exposição e contração do ovipositor e glândula durante a segunda e terceira hora da escotofase, com ou sem curvatura de abdômen, conforme é mostrado na Figura 24. Por sua vez, os machos, ao sentir o estímulo, antes de empreender voo agitaram as asas, moveram as antenas e com as patas dianteiras tocaram sua cabeça. Posteriormente, foi notado incremento na frequência de voo principalmente em direção à fêmea e caminhada com agitação de asas. Uma vez que o macho tinha localizado a fêmea, comportamentos de cortejo como pousar perto da fêmea, tocar a fêmea, caminhar em torno desta, tentativas de cópula e cópula foram observados (Figura 25).

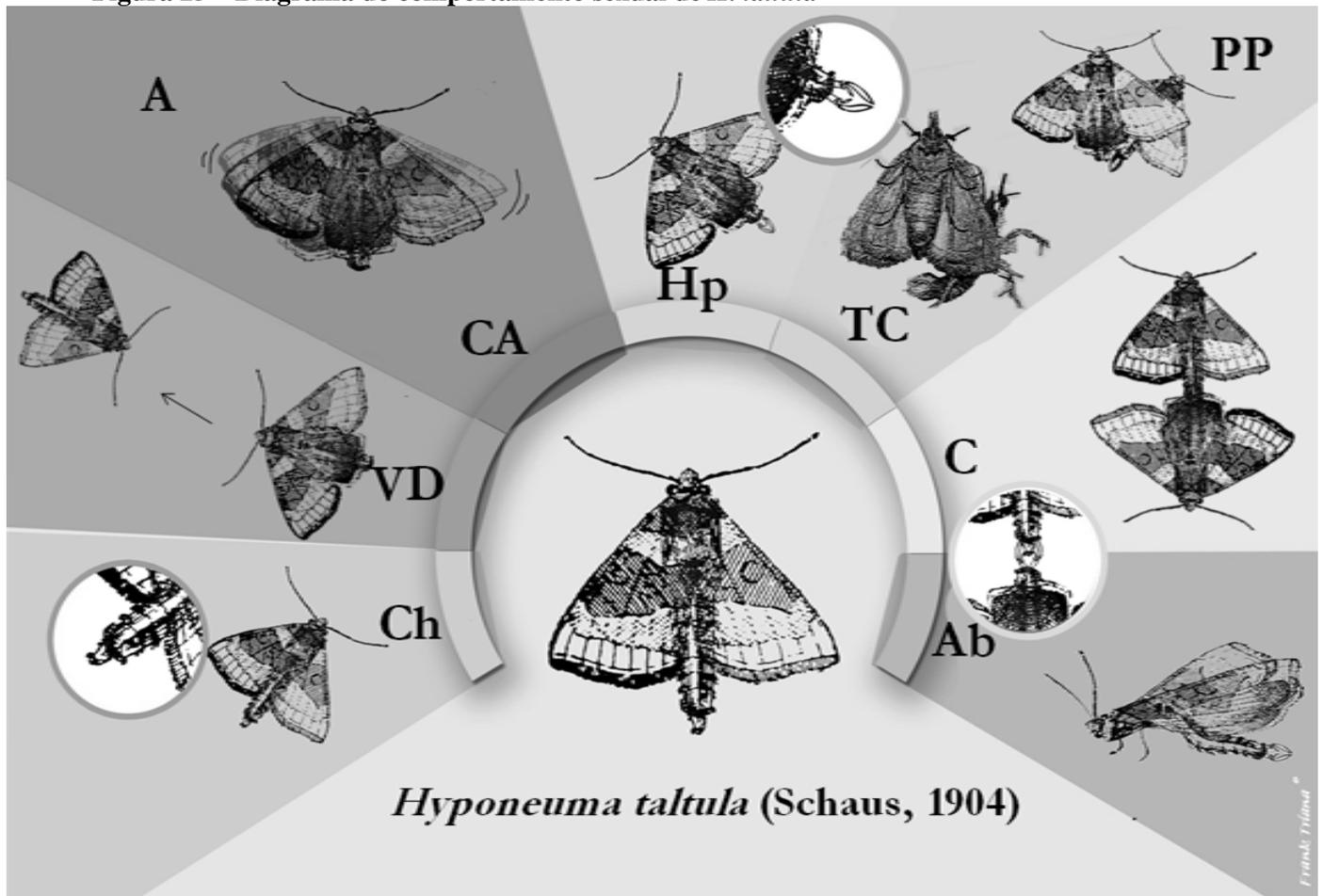
**Figura 24 - Exposição da glândula abdominal de fêmeas de *H. taltula***



Nota: **A.** Exposição da glândula com curvatura de abdômen. **B.** Exposição da glândula sem curvatura de abdômen.

Fonte: Autora, 2014.

Figura 25 – Diagrama do comportamento sexual de *H. taltula*



Fonte: Frank Fernandez 2015©

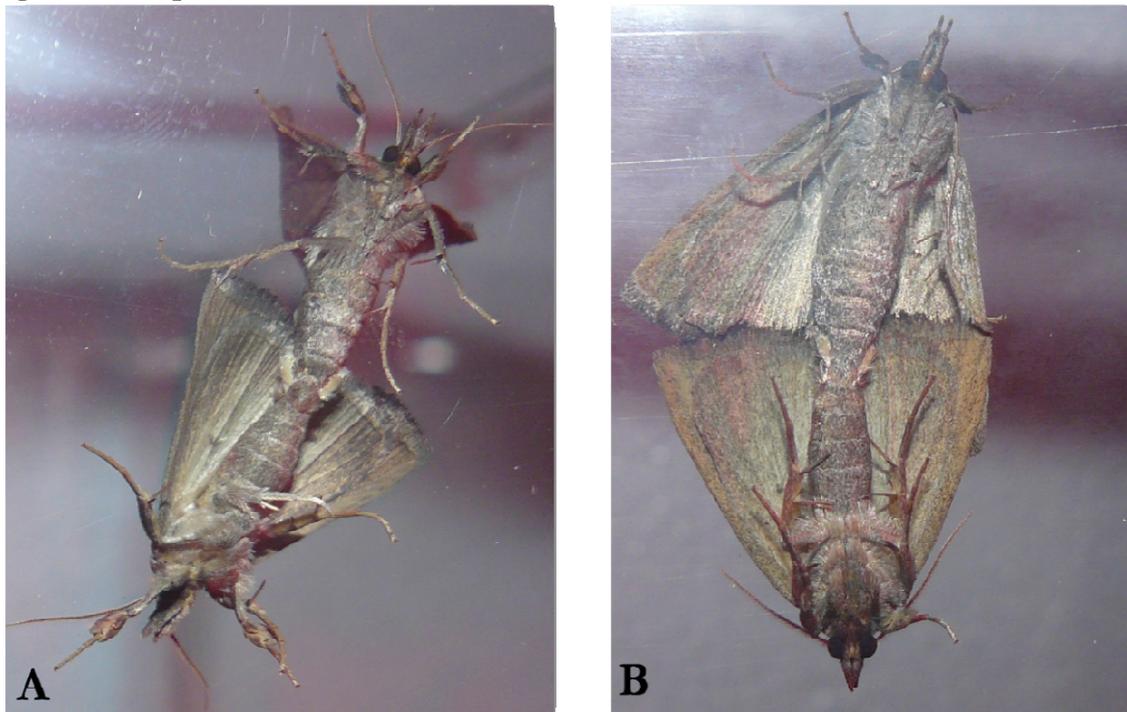
No caso da fêmea ser receptiva ao macho após ter tido contato, permanecia estática e o macho posicionava-se abaixo dela, permanecendo sobre ou sob as asas da fêmea Figura 26. Posteriormente, este curvava seu abdômen em direção ao da fêmea e ocorria o acoplamento das genitálias. Durante o processo de cópula a fêmea agitava as asas, e o macho depois de estar acoplado, girava 180° com relação à fêmea ficando em sentido oposto a esta, conforme Figura 27. Neste momento, iniciava a cópula com um tempo de duração médio de 75 min  $\pm$  15 (N=20). Também foi observado que os machos entre 1 a 2 dias de idade apresentavam maior êxito de cópula, diferente daqueles com 3 ou 4 dias de idade, sendo os novos mais ativos frente à fêmea.

**Figura 26 - Tentativa de cópula de machos de *H. taltula***



Nota: **A.** Abordagem do macho sob a asa da fêmea **B.** Abordagem do macho sobre a asa da fêmea.  
Fonte: Autora, 2014.

**Figura 27 - Cópula de *H. taltula***



Nota: **A.** Agitação de asas da fêmea e giro 180° do macho **B.** Cópula.  
Fonte: Autora, 2014.

No entanto, se a fêmea rejeitava o cortejo do macho, esta se afastava, voava para longe do macho ou, depois do acoplamento de genitais, conseguia rejeitá-lo permanecendo em cópula não mais que por 2 min. O macho então continuava à procura da fêmea e com as tentativas de cópula. Observou-se que o macho caminhava no chão da gaiola e movimentava seu abdômen contra esta, depois de ter fracassado na tentativa de cópula (Figura 28).

**Figura 28 - Movimento de abdômen do macho de *H. taltula***



Fonte: Autora, 2014.

Em observações com mais de um casal de insetos, quando um macho não tinha atividade frente a uma fêmea chamando, o voo do outro macho perto deste fazia que o macho começará a ter comportamento sexual. Também em alguns casos observou-se que os machos tentavam copular com fêmeas que já se encontravam copulando.

A exposição dos hairpencils do macho em forma de leque foi mais notória no momento da cópula ou quando este friccionava o abdômen contra o chão, mas também foram observados machos com espalhamento de hairpencils desde o princípio do cortejo. Todos os comportamentos sexuais foram classificados, como é mostrado na Tabela 4 e exemplificados no diagrama da figura 25 (pag 57).

**Tabela 4 - Classificação de comportamentos sexuais de *H. taltula***

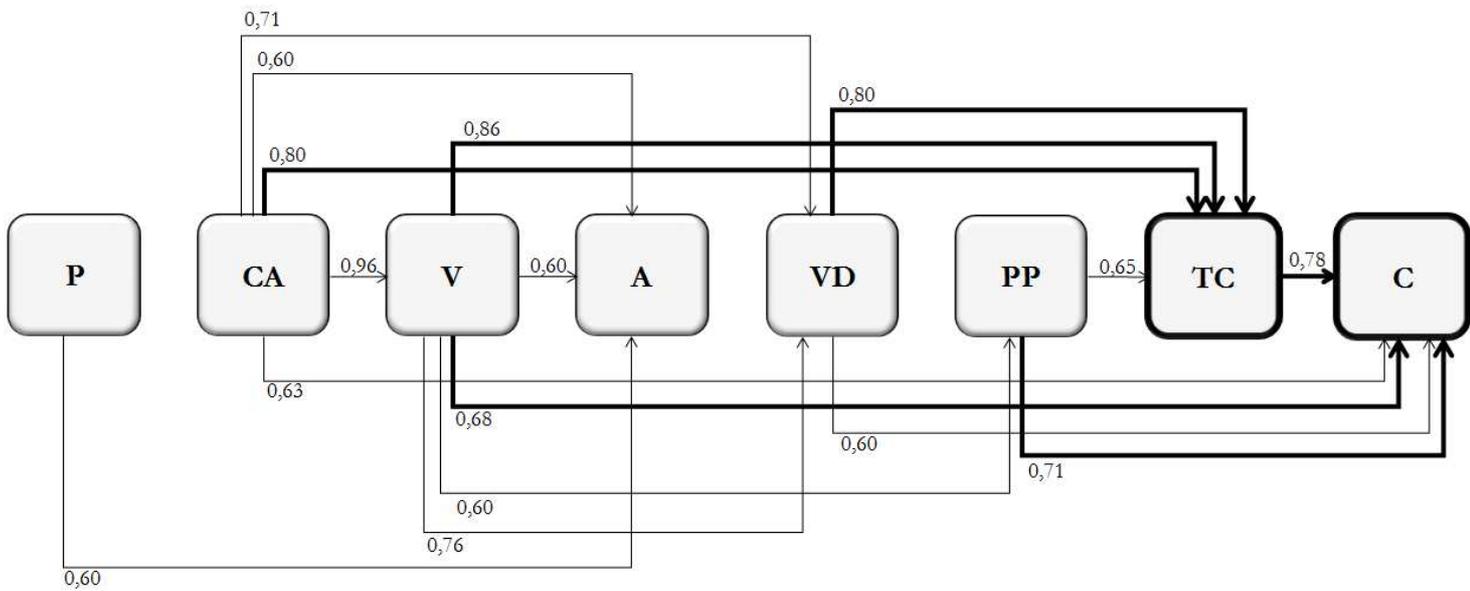
<b>Fêmea</b>		<b>Macho</b>	
<b>Ch</b>	Chamamento com ou sem curvatura do abdômen	<b>V</b>	Voo
<b>Af</b>	Agitação de asas durante o cortejo ou na cópula	<b>P</b>	Pousar em qualquer lugar da gaiola
<b>Rj</b>	Afastamento por movimento leve, voo longe ou cópula rejeitada	<b>CA</b>	Caminhar agitando as asas
		<b>A</b>	Agitação de asas sem nenhum outro movimento
		<b>VD</b>	Voar na direção da fêmea
		<b>PP</b>	Pousar perto da fêmea
		<b>TC</b>	Tentativa de cópula com ou sem giros em torno da fêmea
		<b>C</b>	Cópula
		<b>Hp</b>	Exposição de hairpencil
		<b>Ab</b>	Movimento de abdômen contra o chão

O comportamento de chamamento da fêmea foi indispensável para a observação de comportamentos sexuais do macho, caso contrario o macho não apresentava atividade sexual caracterizada pelos vôos e pela agitação continua de asas. Em adição, o comportamento de agitação de asas por parte da fêmea sempre esteve presente quando ocorria o acoplamento de genitais.

A frequência dos comportamentos revelou não ter uma distribuição normal pelo teste de Lilliefors ( $P < 0.05$ ) e as variâncias apresentaram heterogeneidade pelo teste de Bartlett ( $P < 0.05$ ). Consequentemente, foram usadas as correlações de Sperman para identificar as relações entre os comportamentos, como mostra a Figura 29.

Dentre os acasalamentos com êxito de cópula, os comportamentos do macho mais associados com a cópula foram a tentativa de cópula ( $\rho = 0,78$ ), pousar perto da fêmea ( $\rho = 0,71$ ) e voar ( $\rho = 0,68$ );  $P < 0,01$ . De igual forma, os mais correlacionados com a tentativa de cópula foram voo em direção à fêmea ( $\rho = 0,80$ ), voo ( $\rho = 0,86$ ) e caminhar agitando as asas ( $\rho = 0,80$ );  $P < 0,01$ .

**Figura 29 - Correlações entre comportamentos do macho de *H. taltula***

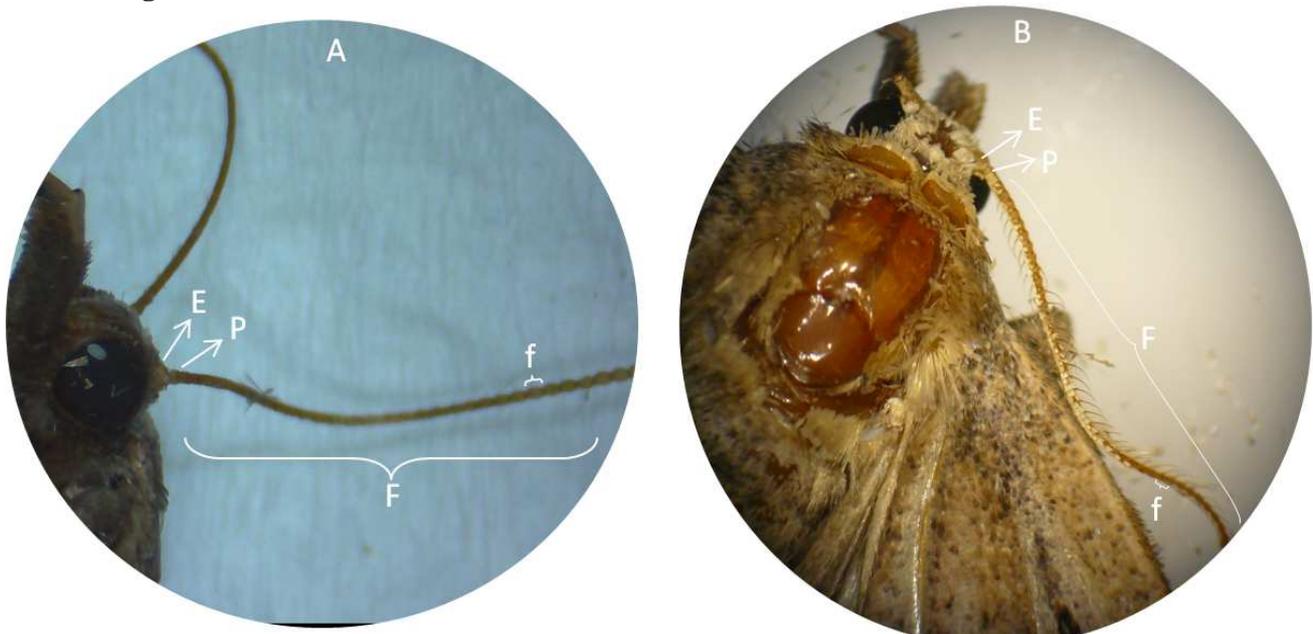


Nota: Correlações de Spearman maiores ou iguais a 0,60.  $P < 0,01$

#### 4.2. Morfologia das antenas de *H. taltula*

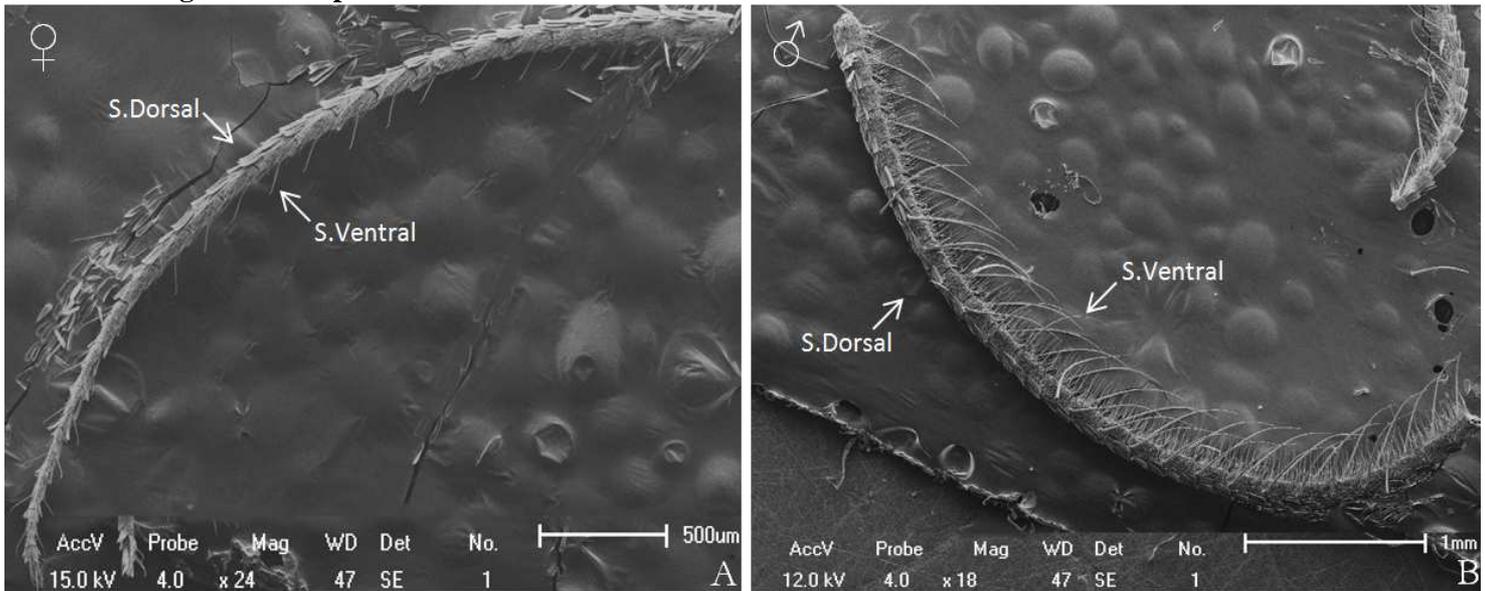
Antenas de fêmeas e machos estão compostas por três partes: escapo, pedicelo e flagelo. As duas primeiras são pequenos segmentos, enquanto que a última está dividida em antenômeros (Figura 30). O flagelo é cilíndrico e comprido dando a forma filiforme da antena. Este flagelo consta de uma superfície dorsal que é composta por duas filas de escamas por antenômero na qual a segunda fila de escamas se sobrepõe à primeira fila do seguinte antenômero e uma superfície ventral composta exclusivamente de sensilas (Figura 31).

**Figura 30 - Partes das antenas femininas e masculinas de *H. taltula***



Nota: A. Antena de fêmea, B. antena de macho. E: escapo, P: pedicelo, F: flagelo, f: antenômero.

**Figura 31 - Superfície ventral e dorsal das antenas de *H. taltula***

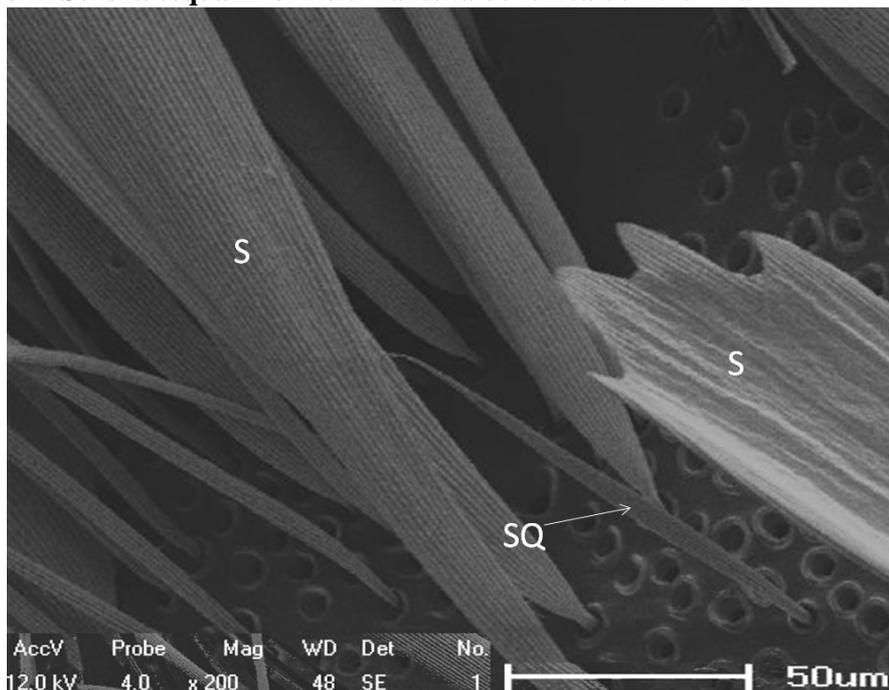


Nota: Fotomicrografias MEV de **A.** Antena de fêmea, **B.** antena de macho

Foram observados seis tipos de sensilas nos antenômeros das antenas de *H. taltula*: sensila esquamiforme, tricoide, caética, auricfílica, coelocônica e estilocônica.

As sensilas esquamiformes (SQ) presentes apenas em fêmeas de *H. taltula* são alongadas e planas com textura similar às escamas e foram observadas nas bordas da superfície ventral próximo às escamas, como se pode observar na Figura 32.

**Figura 32 - Sensila esquamiforme em antena de fêmea de *H. taltula***

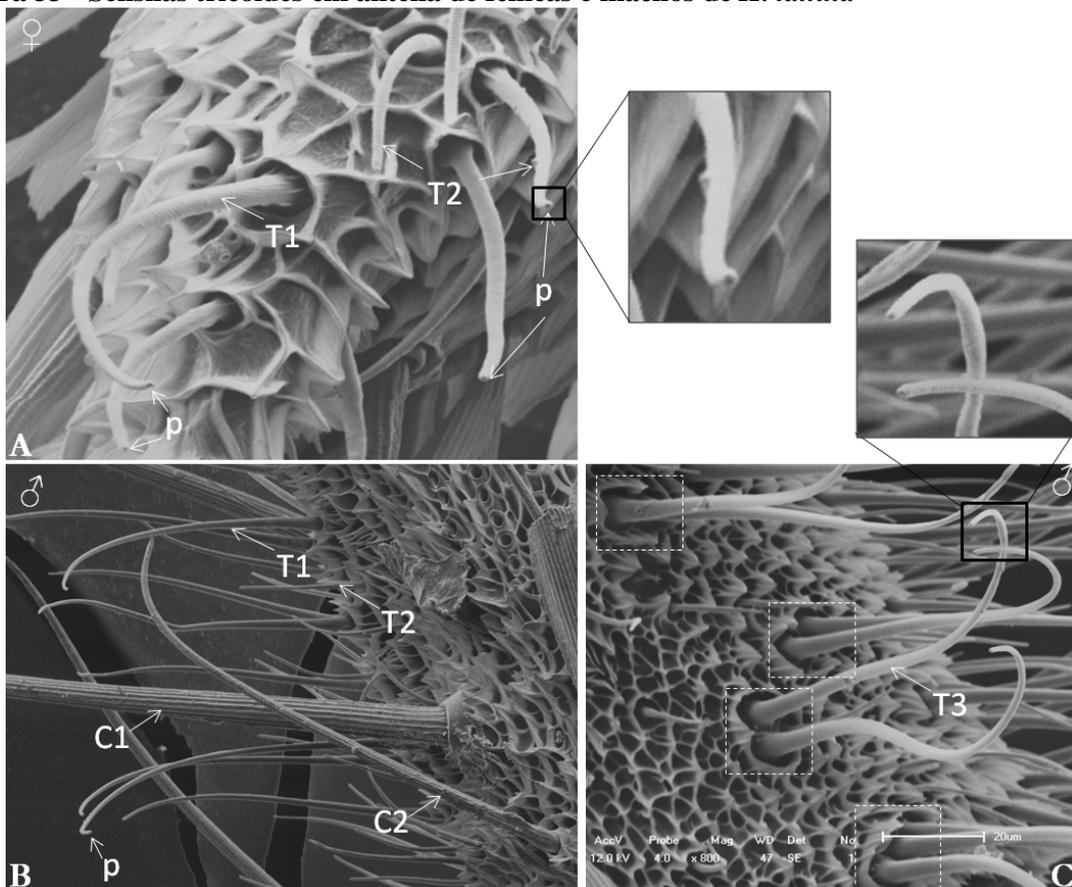


Nota: Fotomicrografia MEV de antena de fêmea, **SQ:** sensila esquamiforme, **S:** escama

As sensilas tricoides tem uma base redonda e um longo eixo cilíndrico com estrutura cônica ao final, terminando numa extremidade dotada de um poro. Estas sensilas foram observadas ao longo das antenas das fêmeas em dois tipos, T1 e T2, que diferem entre si pelo seu comprimento, (Figura 33A) e pela sua textura, sendo T1 a mais comprida. As sensilas T1 apresentam anelações em espiral por todo o comprimento da sensila, enquanto que a superfície cuticular de T2 é lisa. Os machos apresentaram as sensilas T1, T2 e T3. Esta última exibe superfície cuticular igual às sensilas T1 e foi caracterizada por apresentar-se aos pares (Figura 33 B,C).

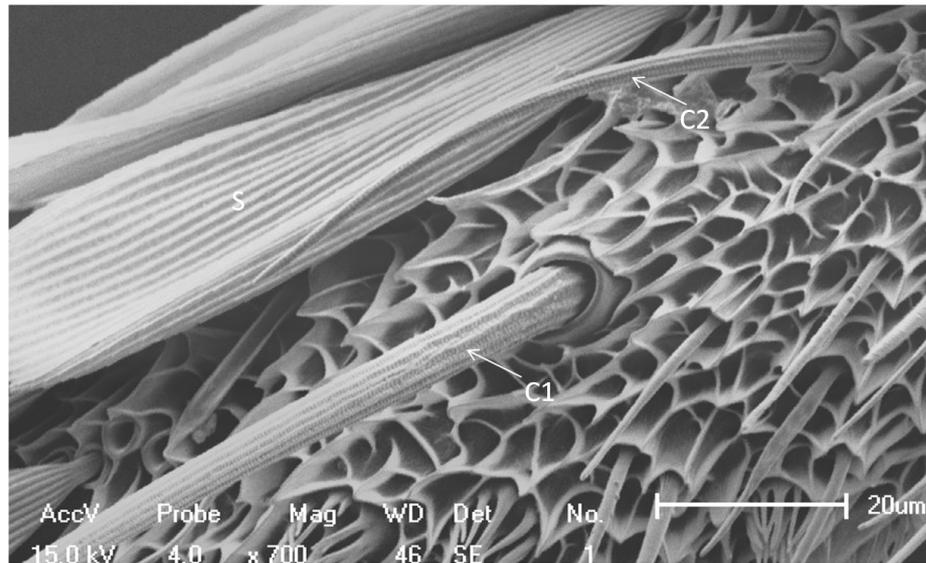
As antenas dos machos apresentam maior quantidade de sensilas tricoides que as antenas das fêmeas, mas a principal diferença em relação às sensilas caéticas é seu maior comprimento e presença em maior quantidade nas antenas dos machos (Figura 31). As sensilas caéticas têm forma reta, são largas na parte basal e sua superfície rugosa apresenta sulcos, sendo notados dois tipos de sensila caética em machos (Figura 33B) e fêmeas (Figura 34) que foram diferenciadas pelo seu comprimento e localização, já que C1 é maior que C2 e é encontrada apenas nas laterais da superfície ventral.

**Figura 33 - Sensilas tricoides em antena de fêmeas e machos de *H. taltula***



Nota: Fotomicrografias MEV de antenas de *H. taltula*, **A.** antena de fêmea, **B e C.** antena de macho. **T1,T2,T3:** sensilas tricoides, **p:** pouro em sensilas tricoides, **C1,C2:** sensilas caéticas.

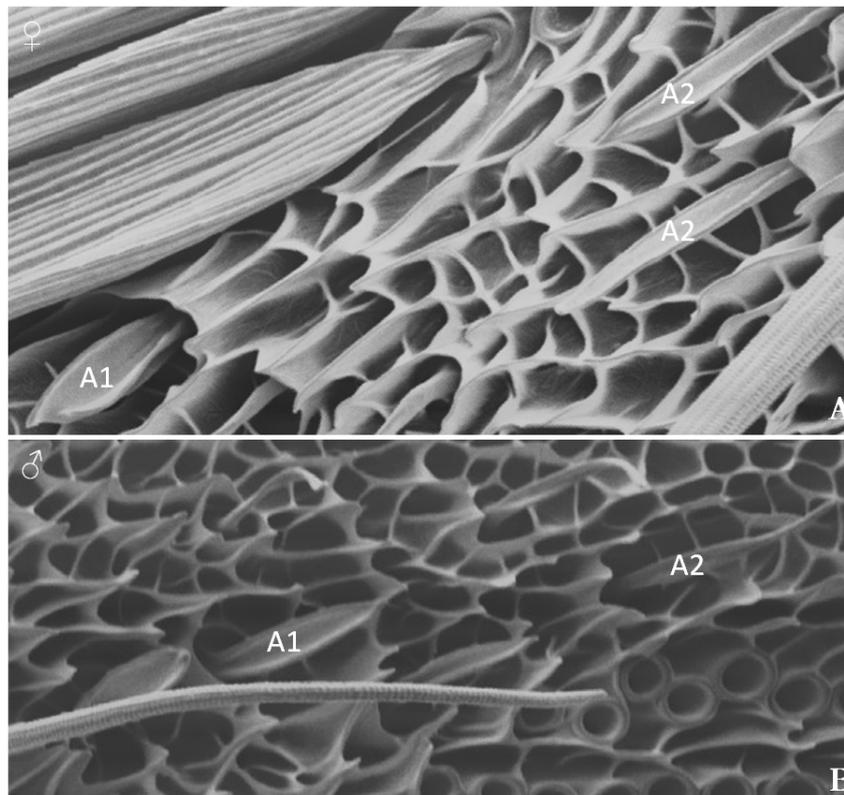
**Figura 34 - Sensilas caéticas em antena de fêmeas de *H. taltula***



Nota: Fotomicrografia MEV de antena de fêmea de *H. taltula*, **C1,C2**: sensilas caéticas, **S**: escama.

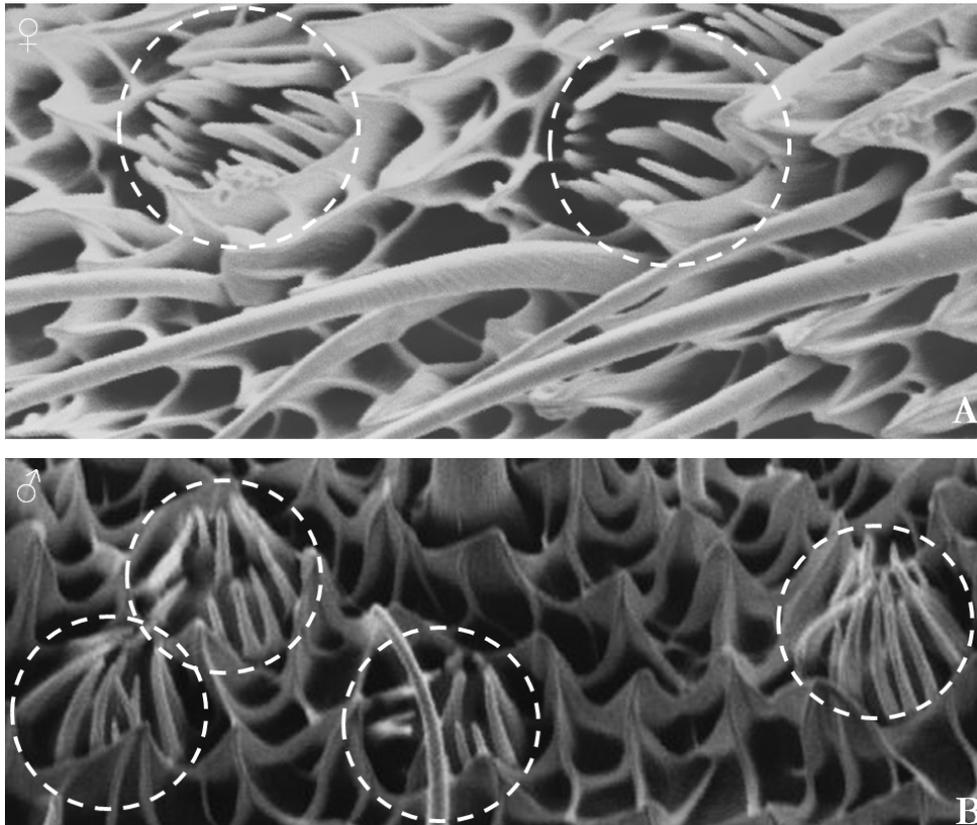
As sensilas aurículas têm forma foliar e sua superfície é lisa. Estas sensilas são menores que as sensilas T2 e podem ser morfológicamente classificadas em A1 e A2, com a primeira apresentando maior comprimento (Figura 35). As sensilas coelocônicas são pequenas estruturas lisas com base circular, e estão distribuídas em conjunto ao redor de uma sensila central. Essas sensilas foram observadas em machos e fêmeas (Figura 36).

**Figura 35 - Sensilas aurículas em antena de fêmeas e machos de *H. taltula***



Nota: Fotomicrografias MEV de antenas de *H. taltula*, **A**. antena de fêmea, **B**. antena de macho.  
**A1,A2**: sensilas aurículas

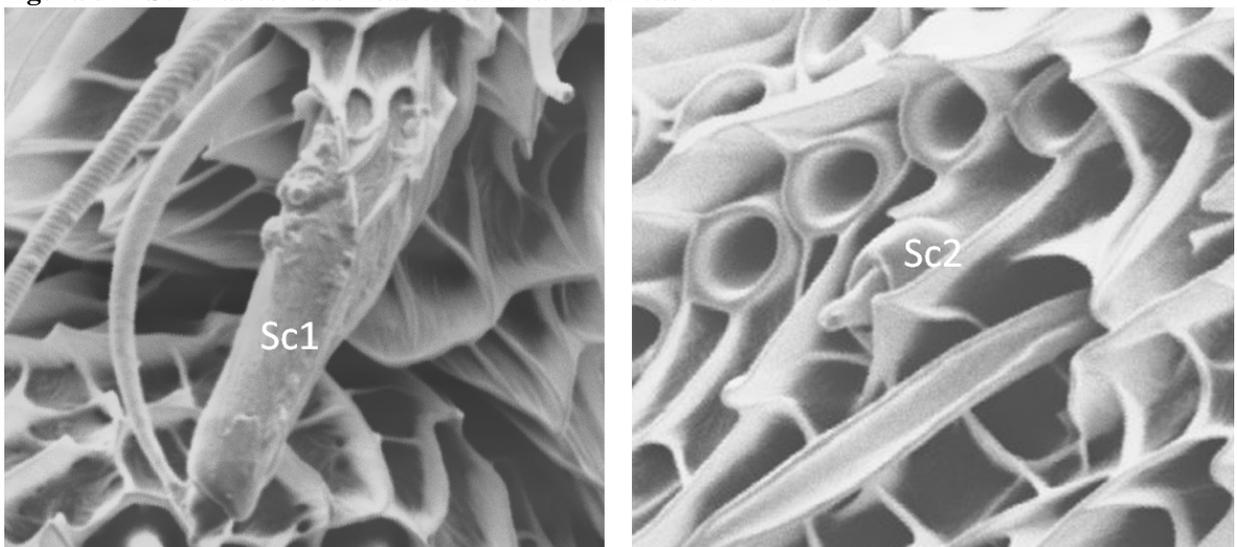
**Figura 36 - Sensilas coelocônicas em antena de fêmeas e machos de *H. taltula***



Nota: Fotomicrografias MEV de antenas de *H. taltula*, **A.** antena de fêmea, **B.** antena de macho.

As sensilas estilocônicas foram observadas apenas em antenas de fêmeas em dois tipos, Sc1 e Sc2. Essas sensilas são cilíndricas e largas e têm uma extremidade cônica proeminente. A sensila Sc1 é mais comprida que Sc2 (Figura 37).

**Figura 37 - Sensilas estilocônicas em antena de fêmeas de *H. taltula***



Nota: Fotomicrografia MEV de antena de fêmea de *H. taltula*, **Sc1, Sc2:** sensilas estilocônicas.

#### 4.3. Determinação da atividade biológica do extrato abdominal da fêmea

Com a determinação do comportamento sexual padrão da *H. taltula*, foram seleccionados os comportamentos do macho, CA, V, VD, PP e TC que evidenciaram uma resposta à presença de um estímulo produzido pela fêmea e sua maior associação com a tentativa de cópula ou a cópula Figura 29 (pag 61).

Os comportamentos VD, PP, TC foram substituídos por voar na direção da fonte (VF), pousar na gaiola de contenção da fonte (PG), tentativa de cópula com a gaiola (TG) e foi adicionado caminhar agitando as asas na gaiola (CAG), ao introduzir a gaiola de contenção da fonte às observações.

O comportamento da fêmea que foi tido em conta para a evidência de produção de feromônio foi o chamameto, já que a fêmea encontrava-se dentro da gaiola pequena inacessível ao macho, permanecendo durante todo o tempo do bioensaio com exposição da glândula.

Mediante o teste de Lilliefors foi descartada a hipótese nula de uma distribuição normal nas frequências de comportamentos do macho de *H. taltula* para  $P < 0.05$  e prosseguiu-se com a aplicação do teste de Mann-Whitney para identificar as diferenças nos comportamentos do macho frente à fêmea, extrato da glândula abdominal da fêmea e tratamento controle (hexano), dados na Tabela 5.

A maioria dos comportamentos seleccionados não apresentam diferença significativa ( $P < 0.05$ ) entre a presença da fêmea e o extrato das glândulas abdominais desta, mas sim existe diferença significativa entre os tratamentos das fêmeas e os extratos com o tratamento controle.

**Tabela 5 - Comportamentos do Macho de *H. taltula* frente a três tratamentos, teste de Mann-Whitney**

Tratamento	N	Medias de Comportamentos*					
		CA	V	VF	PG	CAG	TG
<b>Fêmeas</b>	20	49.45 <sup>a</sup>	55.40 <sup>a</sup>	8.15 <sup>a</sup>	1.95 <sup>a</sup>	11.10 <sup>a</sup>	7.60 <sup>a</sup>
<b>Extrato</b>	20	52.60 <sup>a</sup>	50.65 <sup>a</sup>	7.65 <sup>a</sup>	1.00 <sup>b</sup>	8.55 <sup>a</sup>	6.75 <sup>a</sup>
<b>Hexano</b>	20	1.05 <sup>c</sup>	1.70 <sup>c</sup>	0.00 <sup>c</sup>	0.00 <sup>c</sup>	0.05 <sup>c</sup>	0.00 <sup>c</sup>

Nota: \*Número na mesma coluna seguido pela mesma letra não são significativamente diferentes a  $P < 0.05$

#### 4.4. Composição química de glândulas abdominais de fêmeas e eletroantenografia

Nas análises cromatográficas realizadas com os extratos de glândulas abdominais de fêmeas de *H. taltula* observou-se a presença de 14 compostos constantes em todas as repetições (Figura 38). A Tabela 6 indica o composto proposto para cada pico cromatográfico, o índice de Kovats calculado e comparado com índices de Kovats reportados ou obtidos com padrões. As Figuras 39 a 46 correspondem ao espectro de massas dos compostos e os respectivos mecanismos de fragmentação.

**Tabela 6 - Composição química do extrato hexânico de glândulas abdominais em fêmeas de *H. taltula***

No. Pico	IK <sup>a</sup>	Composto	Identificação <sup>b</sup>	IK <sup>c</sup>
1	1937	Ácido 9-hexadecenoico	Z9-16:Acid	1938 <sup>d</sup>
2	1955	Ácido hexadecanoico	16:Acid	1955
3	2073	3,6,9-Henicosatrieno	Z3,Z6,Z9-21:H	-
4	2100	Henicosano	21:H	2100
5	2135	Ácido 9,12-octadecadienoico	Z9,Z12-18:Acid	2130 <sup>e</sup>
6	2140	Ácido (Z)-9-octadecenoico	Z9-18:Acid	2135
7	2167	9-Hexadecenoato de butila	Z9-16:Obut	-
8	2187	Hexadecanoato de butila	16:Obut	-
9	2254	9,10-Epoxi-henicososa-3,6-dieno	Z3,Z6,epo9-21:H	2261 <sup>f</sup>
10	2299	Tricosano	23:H	2300
11	2380	9-Octadecenoato de butila	Z9-18:Obut	-
12	2400	Tetracosano	24:H	2400
13	2500	Pentacosano	25:H	2500
14	2600	Hexacosano	26:H	2600

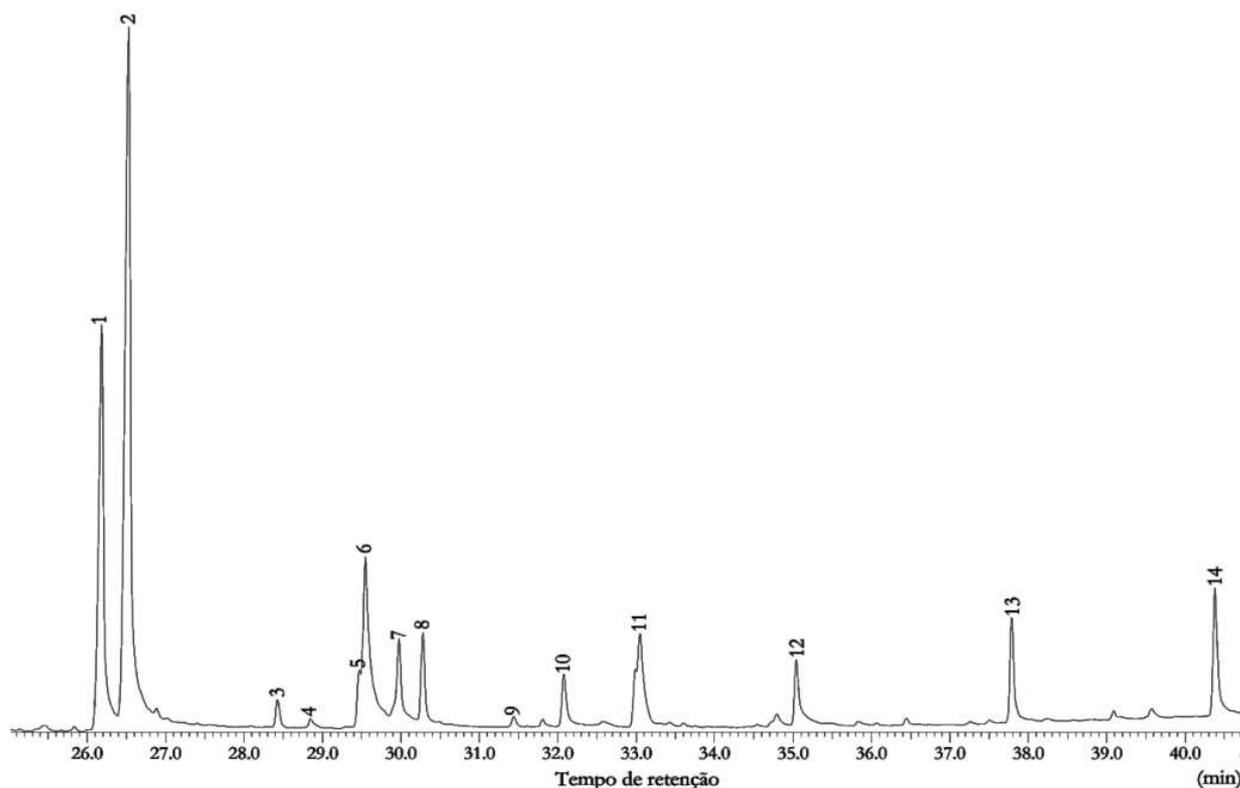
Nota: <sup>a</sup>Índice de Kovats calculado com a fórmula indicada na seção 3.7 de materiais e métodos (pag 53).

<sup>b</sup>Nomenclatura usada para identificação dos compostos no texto

<sup>c</sup>Índice de Kovats reportado ou calculado com padrão.

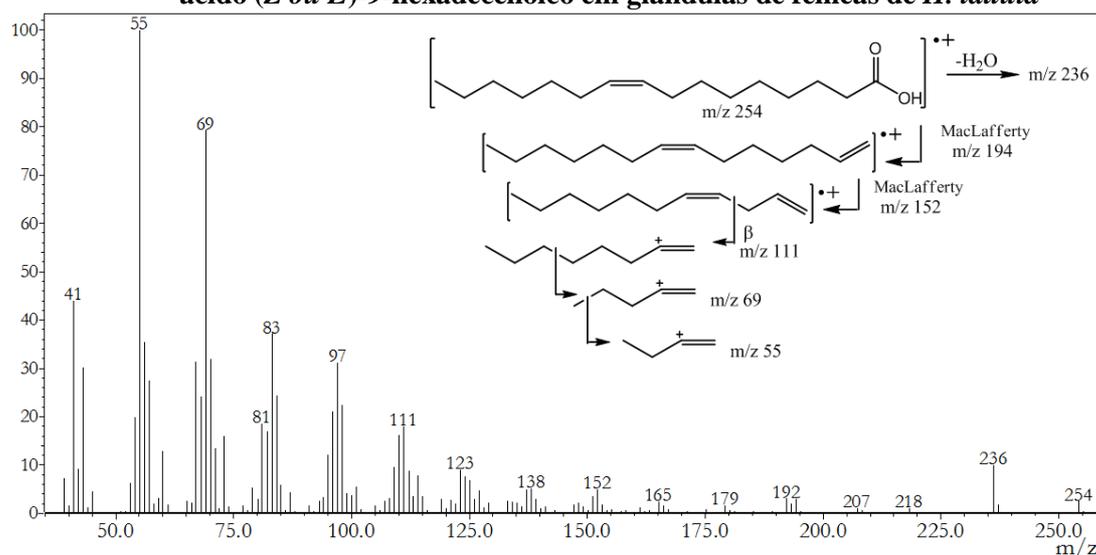
Referências de índices de Kovats em colunas de fase estacionária igual à RTX-5: <sup>d</sup> Berdague et al.,(1991), <sup>e</sup> Lalel et al., (2003) <sup>f</sup> Gibb et al., (2006).

**Figura 38 - Cromatograma de íons totais de extrato hexânico de glândulas abdominais de fêmeas *H. taltula***



Nota: TIC de CG-MS equipado com coluna NST-5 (30mx25mmx25 $\mu$ m), método cromatográfico descrito na seção 3.7 de materiais e métodos (pag 52). **1.** Z9-16:Acid; **2.** 16:Acid; **3.** Z3,Z6,Z9-21:H; **4.** 21:H; **5.** Z9,Z12-18:Acid; **6.** Z9-18:Acid; **7.** Z9-16:Obut; **8.** 16:Obut; **9.** Z3,Z6,epo9-21:H; **10.** 23:H; **11.** Z9-18:Obut; **12.** 24:H; **13.** 25:H; **14.** 26:H.

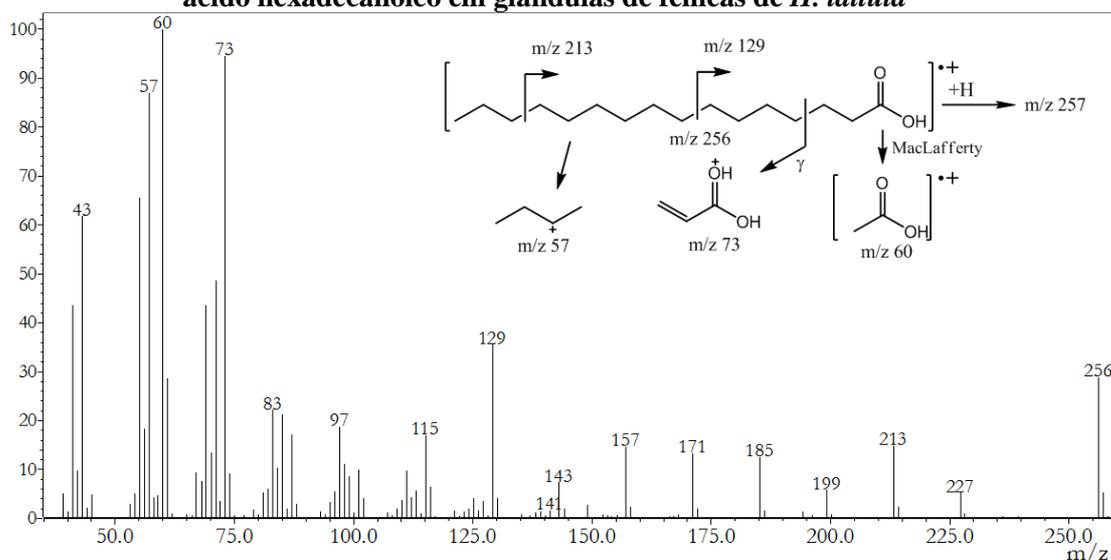
**Figura 39 - Espectro de massas e mecanismo de fragmentação do composto 1. ácido (Z ou E)-9-hexadecenoico em glândulas de fêmeas de *H. taltula***



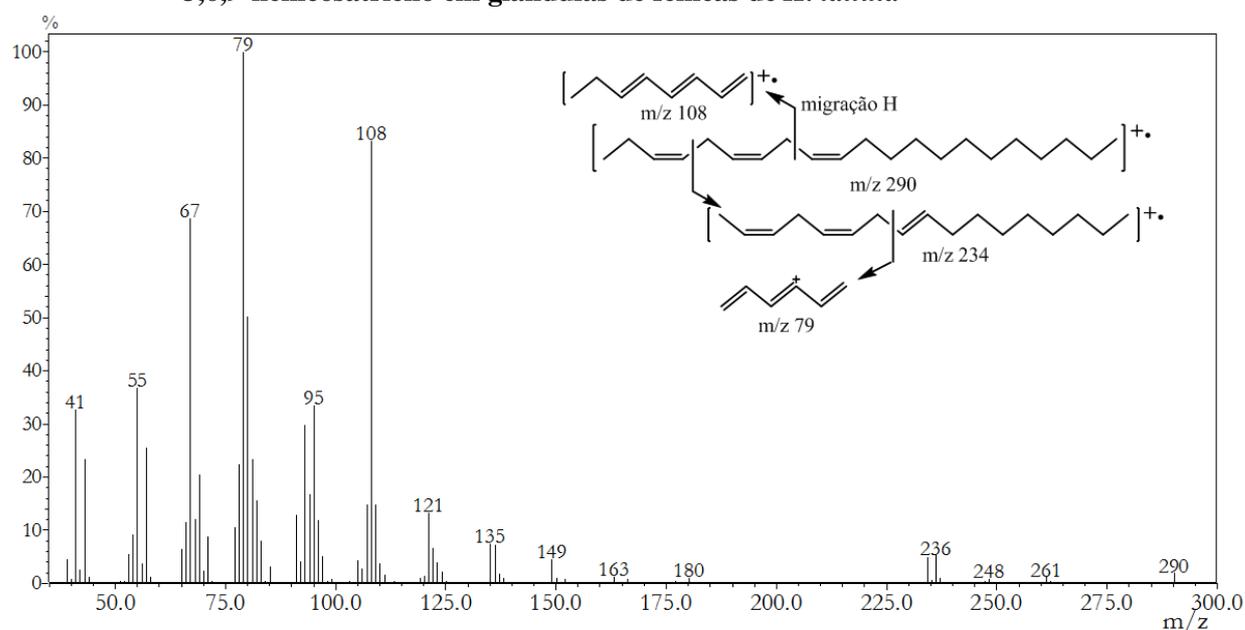
O composto 6 (Tabela 6, pag 67) confirmado com injeção de padrão corresponde à ácido (Z)-9-octadecenoico, apresenta padrão de fragmentação similar ao ácido 9-hexadecenoico (Figura 39). O Z9-18:Acid apresenta pico do íon molecular em m/z 282 (2%), perda de uma molécula de água  $[M-18]^+$  em m/z 264 (11%), além da perda de radical

hidroxila  $[M-17]^+$  em  $m/z$  265 (3%). Rearranjos de MacLafferty podem ser observados, um no íon molecular e outro no fragmento gerado pelo primeiro rearranjo, para formar os cátions radicais  $m/z$  222 (4%) e  $m/z$  180 (3%). A fragmentação na posição  $\alpha$  à dupla ligação no carbono 9 gera o cátion  $m/z$  111 (23%) correspondente a  $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CHCH}]^+$  e a fragmentação deste gera os picos mais estáveis da molécula na sequência de  $m/z$  97, 83, 69, 55, 41, sendo o cátion  $m/z$  55  $[\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2)_2]^+$  o pico base.

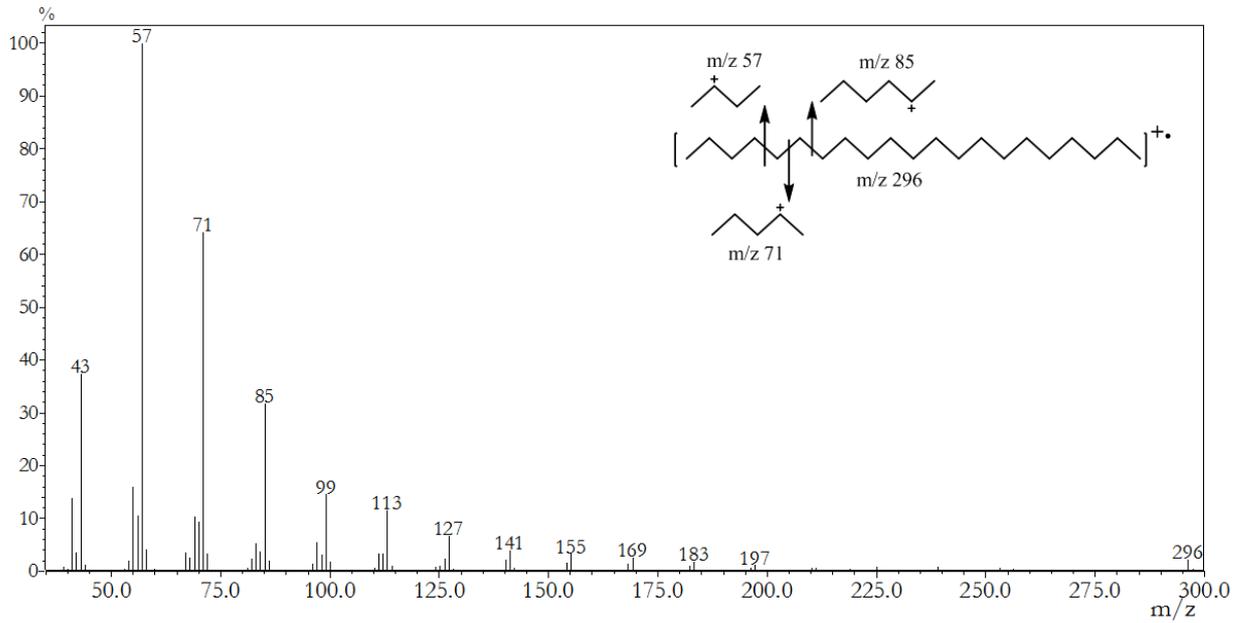
**Figura 40 - Espectro de massas e mecanismo de fragmentação do composto 2. ácido hexadecanoico em glândulas de fêmeas de *H. taltula***



**Figura 41 - Espectro de massas e mecanismo de fragmentação do composto 3. 3,6,9-henicosatrieno em glândulas de fêmeas de *H. taltula***

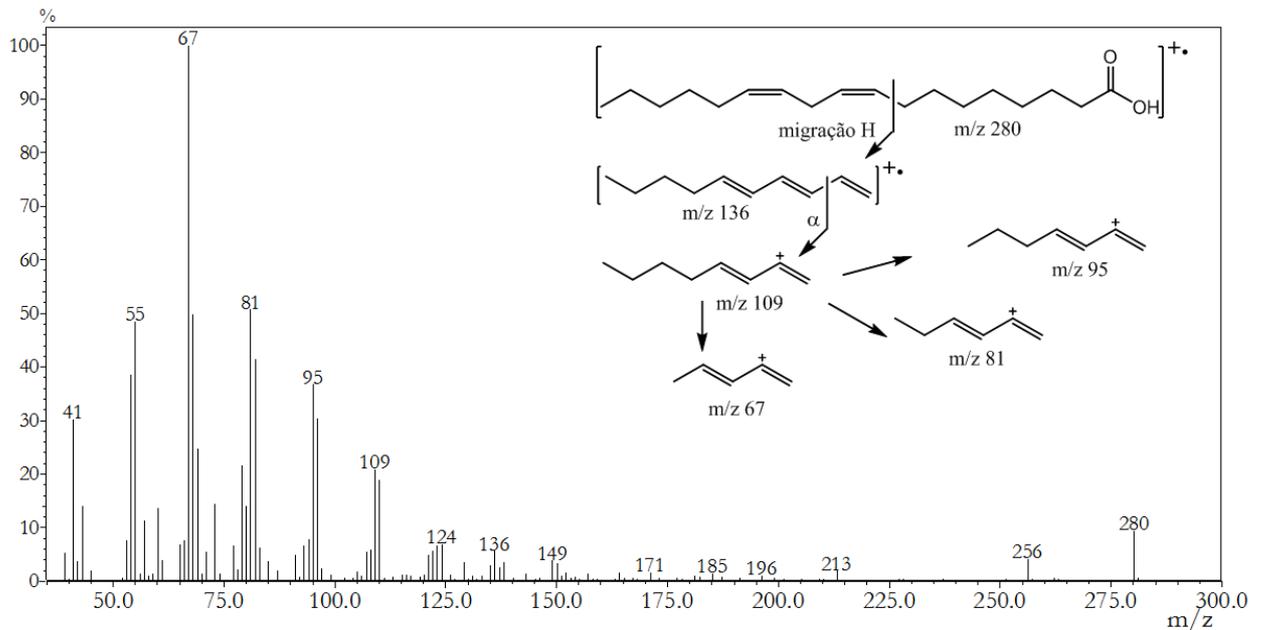


**Figura 42 - Espectro de massas e mecanismo de fragmentação do composto 4. henicosano em glândulas de fêmeas de *H. taltula***

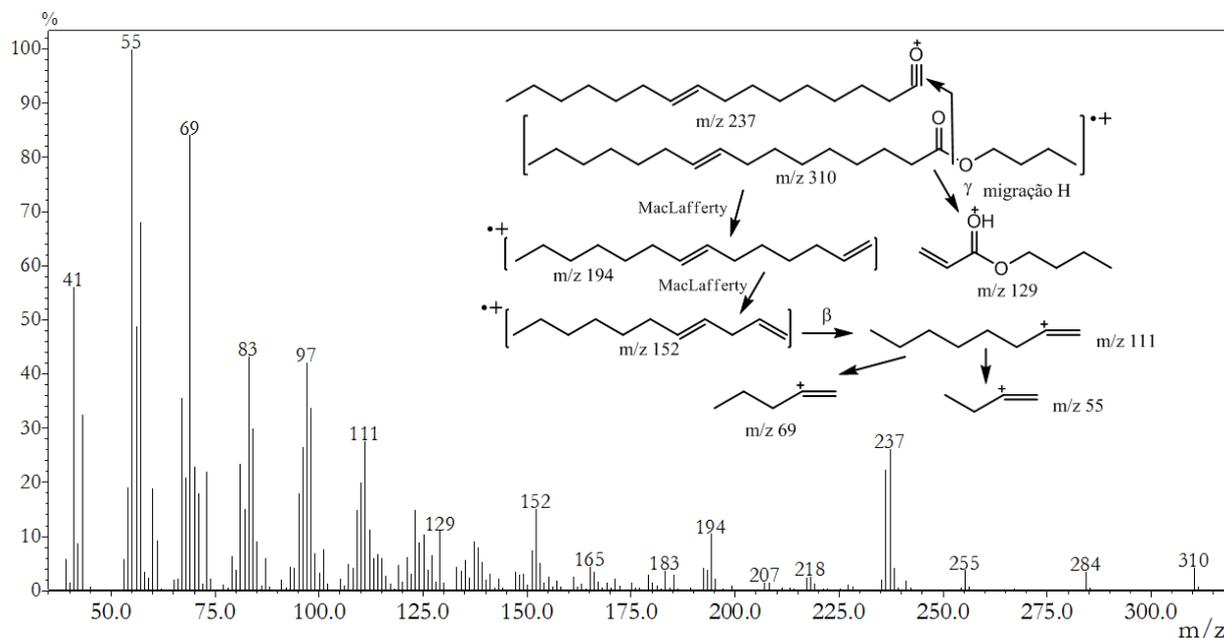


Os compostos 10, 12, 13 e 14 (Tabela 6, pag 67) correspondentes à tricosano, tetracosano, pentacosano e hexacosano confirmados com injeção de padrões e apresentam perfil de fragmentação igual ao henicosano, característico de hidrocarbonetos lineares.

**Figura 43 - Espectro de massas e mecanismo de fragmentação do composto 5. ácido 9,12-octadecadienoico em glândulas de fêmeas de *H. taltula***

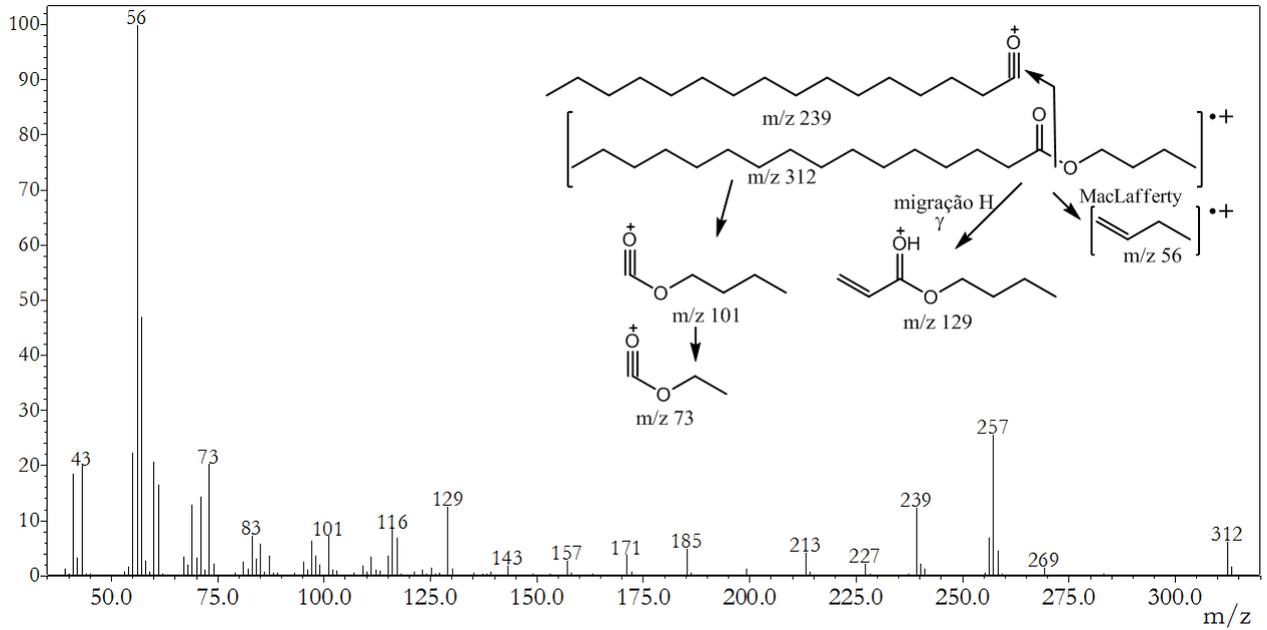


**Figura 44 - Espectro de massas e mecanismo de fragmentação do composto 7.**  
**(Z ou E)-9-hexadecenoato de butila em glândulas de fêmeas de *H. taltula***

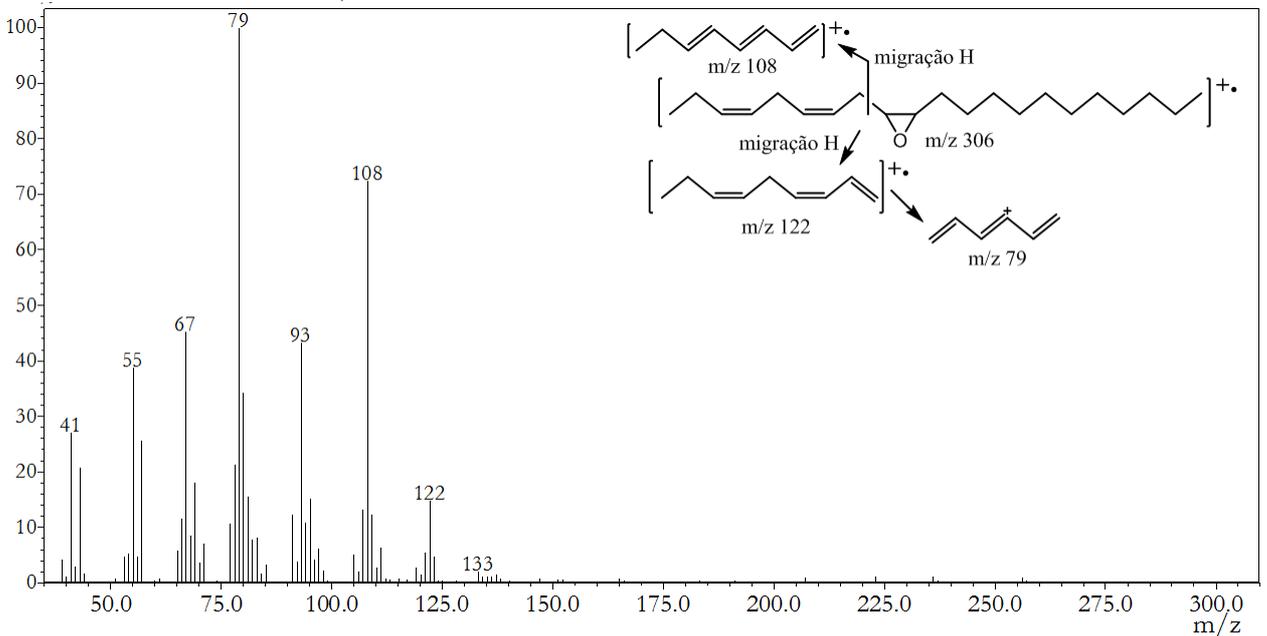


O composto 11 (Tabela 6, pag 67) corresponde ao 9-octadecenoato de butila e apresenta padrão de fragmentação similar ao 9-hexadecenoato de butila (Figura 44). O 9-18:Obut apresenta pico do íon molecular em m/z 338 (6%), rearranjos de MacLafferty podem ser observados, um no íon molecular e outro no fragmento gerado pelo primeiro rearranjo para formar os cátions radicais m/z 222 (14%) e m/z 180 (14%). Quebra da ligação na posição gama à carbonila e migração de hidrogênio geram o cátion de m/z 129 (9%), enquanto que a quebra homolítica promove a perda do radical Butóxido para produzir o cátion m/z 265 (40%). A fragmentação na posição  $\alpha$  à dupla ligação entre os carbonos 8 e 9 gera o cátion m/z 111 (40%) correspondente a  $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CHCH}]^+$  e a fragmentação deste gera os picos mais estáveis da molécula na sequência de m/z 97, 83, 69, 55, 41, sendo o cátion m/z 55  $[\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2)_2]^+$  o pico base.

**Figura 45 - Espectro de massas e mecanismo de fragmentação do composto 8. hexadecanoato de butila em glândulas de fêmeas de *H. taltula***



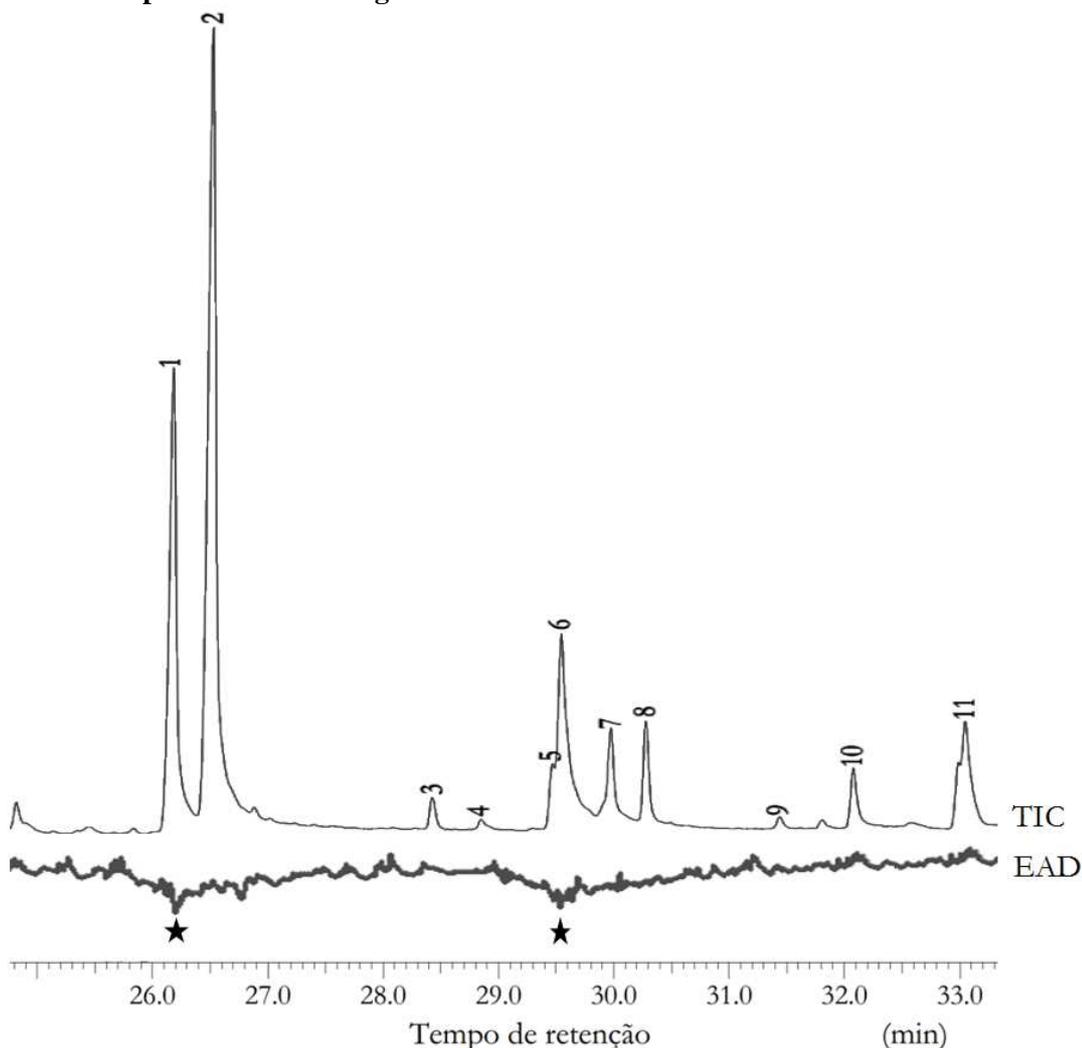
**Figura 46 - Espectro de massas e mecanismo de fragmentação do composto 9. 9,10-epoxi-henicosa-3,6-dieno em glândulas de fêmeas de *H. taltula* (2-(Octa-2,5-dienil)-3-undeciloxirano)**



#### 4.5. Resposta eletroantenografica de antenas de macho ao extrato de glândulas abdominais de fêmeas

Observou-se que as antenas dos machos de *H. taltula* apresentaram resposta antenográfica em todas as repetições aos ácidos Z9-16:Acid e Z9-18:Acid presentes nos extratos das glândulas abdominais da fêmea, estes compostos correspondentes aos picos 1 e 6 da Figura 47.

**Figura 47 - Cromatograma de íons totais de extrato hexânico de glândulas abdominais de fêmeas e resposta eletroantenografica da antena do macho em *H. taltula***



Nota: TIC de CG-MS equipado com coluna NST-5 (30mx25mmx25 $\mu$ m), EAD de CG-EAD equipado com coluna RTX-5 (30mx25mmx25 $\mu$ m) método cromatográficos descritos na seção 3.7 de materiais e métodos (pag 52). 1. Z9-16:Acid; 2. 16:Acid; 3. Z3,Z6,Z9-21:H; 4. 21:H; 5. Z9,Z12-18:Acid; 6. Z9-18:Acid; 7. Z9-16:Obut; 8. 16:Obut; 9. Z3,Z6,epo9-21:H; 10. 23:H; 11. Z9-18:Obut.

#### 4.6. Composição química de hairpencils em machos

Nas análises cromatográficas realizadas com os extratos de hairpencils de machos de *H. taltula* observou-se a presença de 13 compostos constantes em todas as repetições (Figura 48). A Tabela 7 indica o composto proposto para cada pico cromatográfico, o índice de Kovats calculado e comparado com índices de Kovats reportados ou obtidos com padrões. As Figuras 49 a 56 correspondem ao espectro de massas dos compostos e os respectivos mecanismos de fragmentação.

**Tabela 7 - Composição química do extrato hexânico de hairpencils em machos de *H. taltula***

No. Pico	IK <sup>a</sup>	Composto	Identificação <sup>b</sup>	IK <sup>c</sup>
1	1100	Nonanal	9:Ald	1101
2	1202	Decanal	10:Ald	1204 <sup>d</sup>
3	1260	( <i>E</i> )-2-Decenal	E2-10:Ald	1261
4	1752	Ácido tetradecanoico	14:Acid	1756
5	1877	Hexadecanol	16:OH	1879
6	1939	Ácido 9-hexadecenoico	Z9-16:Acid	1938 <sup>e</sup>
7	1959	Ácido hexadecanoico	16:Acid	1955
8	2051	3,13-Octadecadienol	Z3,Z13-18:OH	-
9	2075	3,6,9-Henicosatrieno	Z3,Z6,Z9-21:H	-
10	2082	Octadecanol	18:OH	2082
11	2142	Ácido-( <i>Z</i> )-9-octadecenoico	Z9-18:Acid	2138
12	2156	Ácido octadecanoico	18:Acid	2172 <sup>f</sup>
13	2299	Tricosano	23:H	2300

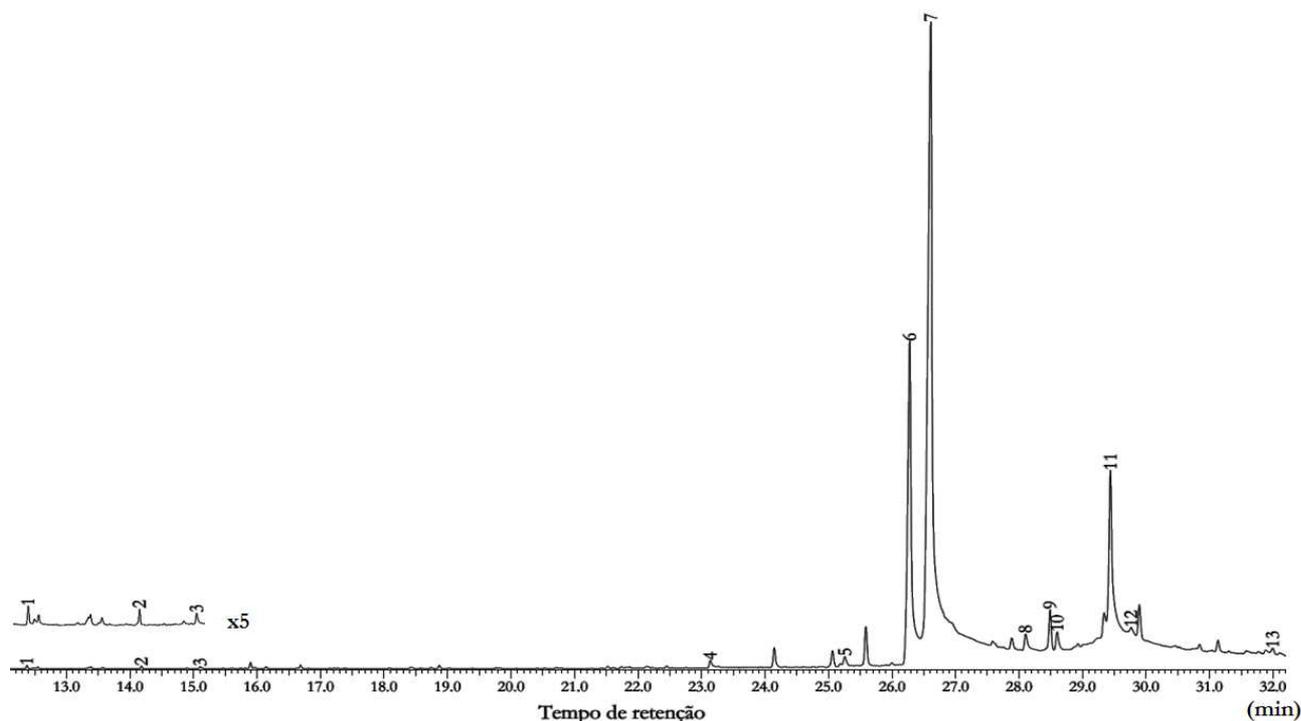
Nota: <sup>a</sup>Índice de Kovats calculado com a fórmula indicada na seção 3.7 de materiais e métodos (pag 53).

<sup>b</sup>Nomenclatura usada para identificação dos compostos no texto.

<sup>c</sup>Índice de Kovats reportado ou calculado com padrão. Referências de índices de Kovats em colunas de fase estacionária igual à RTX-5: <sup>d</sup> Qian e Reineccius (2003) <sup>e</sup> Berdague et al.,(1991)

<sup>f</sup> Pino et al.(2005).

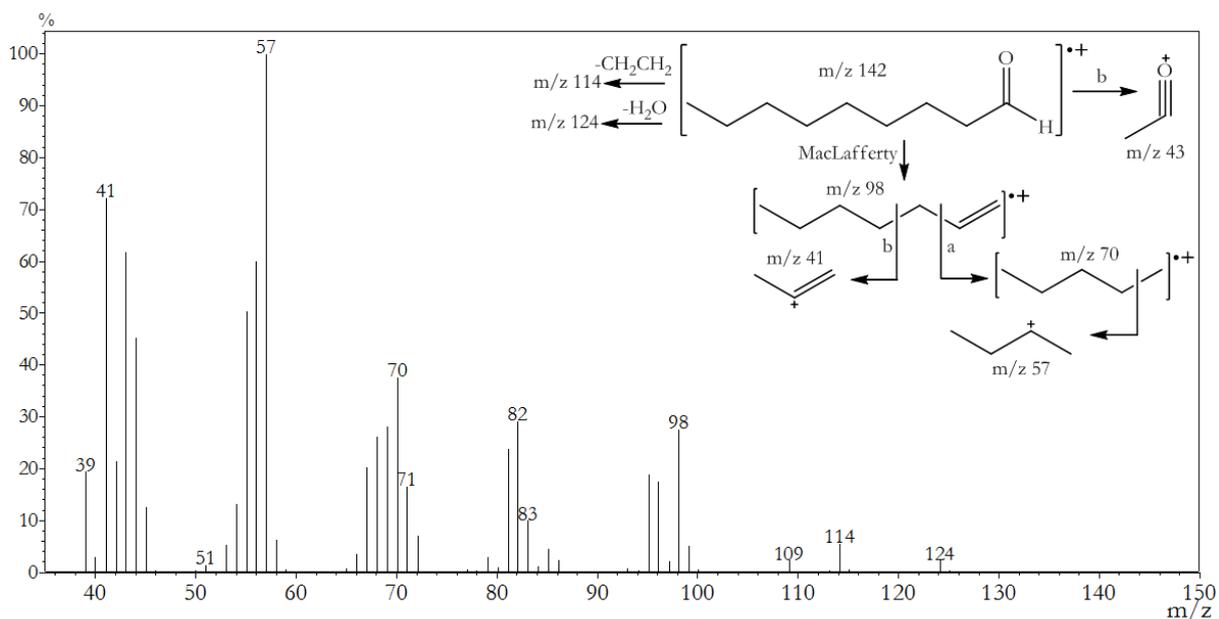
**Figura 48 - Cromatograma de íons totais de extrato hexânico de hairpencils em machos de *H. taltula***



Nota: TIC de CG-MS equipado com coluna NST-5 (30mx25mmx25 $\mu$ m), método cromatográfico descrito na seção 3.7 de materiais e métodos (pag 52). **1.** 9:Ald; **2.** 10:Ald; **3.** E2-10:Ald; **4.** 14:Acid; **5.** 16:OH; **6.** Z9-16:Acid; **7.** 16:Acid; **8.** Z3,Z13-18:OH; **9.** Z3,Z6,Z9-21:H; **10.** 18:OH; **11.** Z9-18:Acid; **12.** 18:Acid; **13.** 23:H.

Os compostos correspondentes aos picos 1, 3, 4, 5, 7, 10, 11 e 13 foram identificados como 9:Ald, E2-10:Ald, 14:Acid, 16:OH, 16:Acid, 18:OH e Z9-18:Acid, pelos tempos de retenção e espectros de massas mediante o uso de padrões, respectivamente, conforme é mostrado na Figura 57 (pag 81) pela comparação dos tempos de retenção.

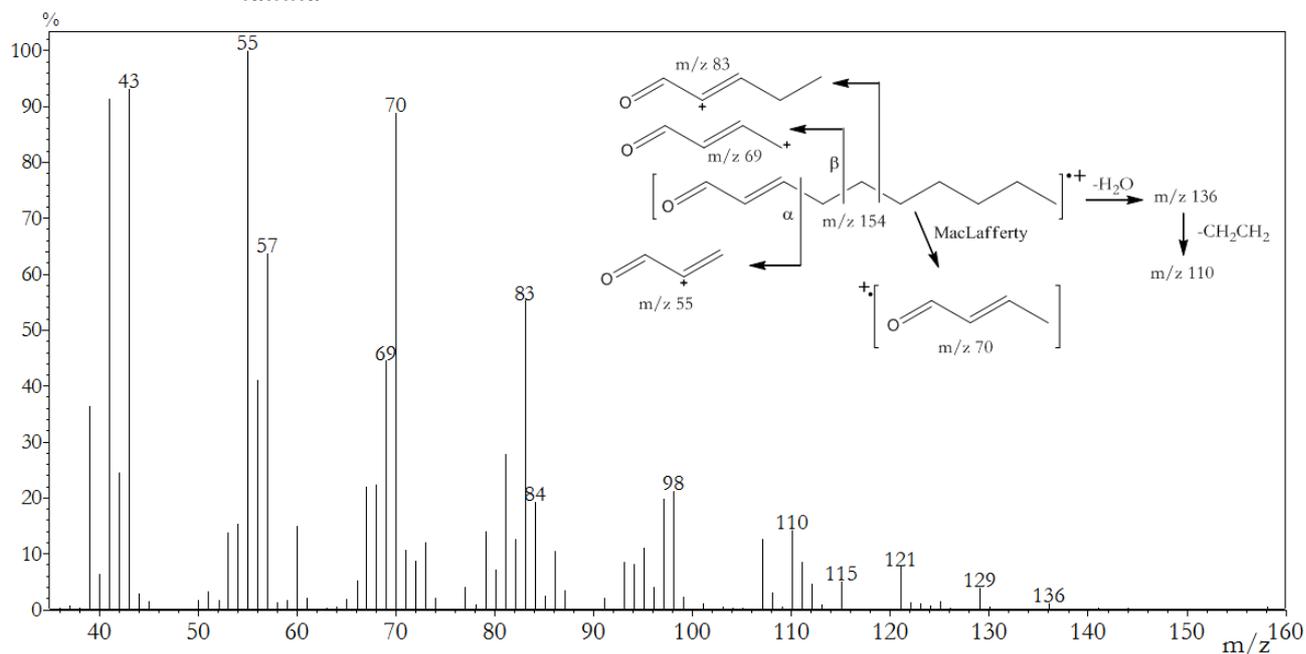
**Figura 49 - Espectro de massas do composto 1. Nonanal em hairpencils de machos de *H. taltula***



O composto 2 (Tabela 7) corresponde ao 10:Ald e apresenta padrão de fragmentação similar ao 9:Ald (Figura 49). O 10:Ald apresenta rearranjo de MacLafferty para gerar os cátions radicais  $m/z$  112 (25%),  $m/z$  44 (58%). Por meio de novo rearranjo de MacLafferty do cátion radical octeno gerado do primeiro rearranjo é obtido o fragmento  $m/z$  70 (56%). O pico  $m/z$  43 corresponde ao íon  $[\text{CH}_2\text{CHO}]^+$  gerado pela ruptura na ligação  $\beta$  à carbonila, o pico base  $m/z$  57 (100%) é correspondente a fragmentações de cadeia linear dando lugar ao íon  $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]^+$ . Perda de água  $[\text{M}-18]^+$  e eliminação de etileno mediante migração de hidrogênio  $[\text{M}-28]^+$  são observados na fragmentação.

O espectro de massas do (*E*)-2-decenal (Figura 50) apresenta as fragmentações típicas de ruptura de ligações em posição alfa, beta e gama à dupla ligação, dando origem ao pico base  $m/z$  55 (100%) e aos cátions  $m/z$  69 (45%) e  $m/z$  83 (55%), respectivamente. Observa-se também o rearranjo MacLafferty gerando os cátions radicais  $m/z$  70 (89%) e  $m/z$  84 (19%) e perda de água para formar  $m/z$  136 (1%).

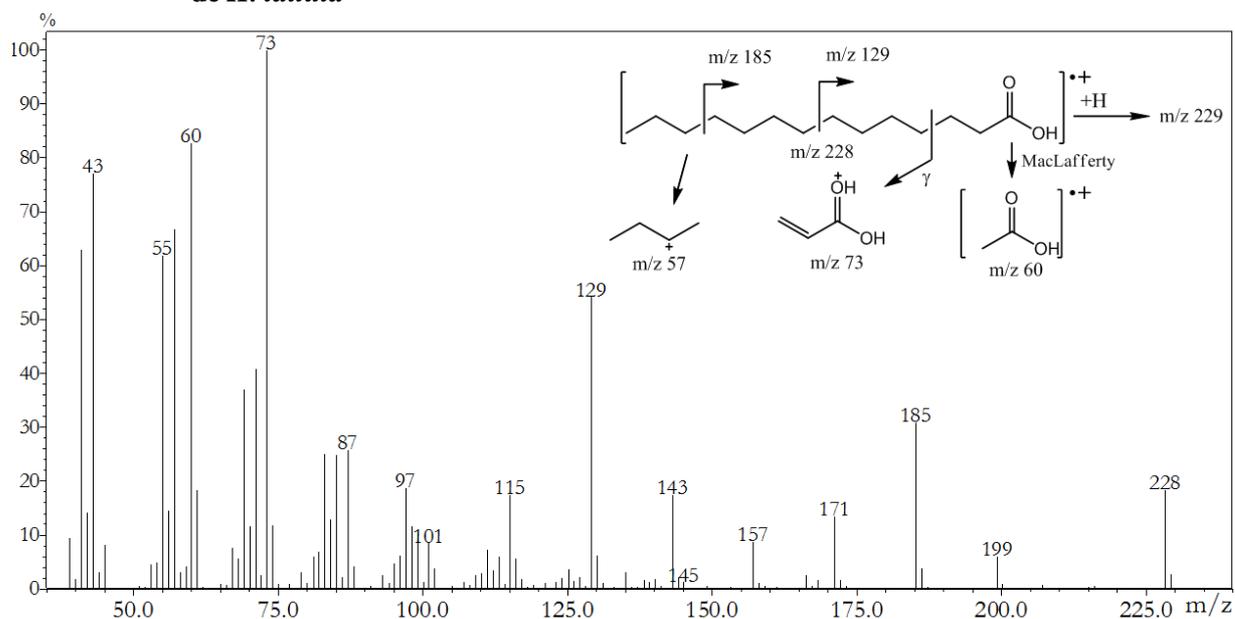
**Figura 50 - Espectro de massas do composto 3. (*E*)-2-decenal em hairpencils de machos de *H. taltula***



O composto 7 e 12 (Tabela 7 pag 74) corresponde ao 16:Acid e 18:Acid respectivamente e apresentam padrão de fragmentação similar ao 14:Acid (Figura 51). O 16:Acid e 18:Acid apresentam picos dos íons moleculares  $[\text{M}]^+$   $m/z$  256 (39%) e  $m/z$  284 (27%) e pico de íon molecular protonado  $[\text{M}+1]^+$   $m/z$  257 (7%) e  $m/z$  285 (6%), respectivamente. O rearranjo de MacLafferty gera os cátions radicais equivalentes a  $[\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}]^+$   $m/z$  60 nos ácidos e  $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{CHCH}_2]^+$  ( $n=11$   $m/z$  196 (1%) em 16:Acid e

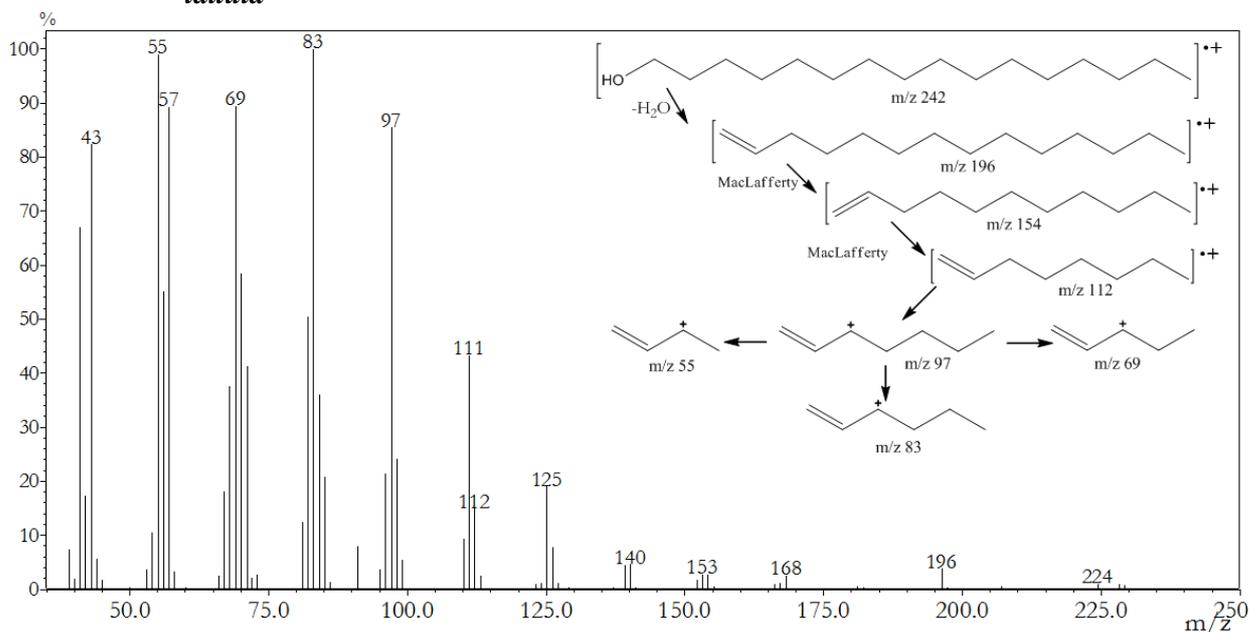
$n=13$   $m/z$  257 (1%) em 18:Acid). O cátion radical correspondente a  $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{CHCH}_2]^+$  sofre novos rearranjos de McLafferty dando origem ao cátion  $m/z$  55  $[\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CHCH}]^+$  ( $[\text{M}]^+$  pico base do 18:Acid). A ruptura da ligação em posição  $\gamma$  à carboxila e migração de hidrogênio geram os fragmentos estabilizados do tipo  $[(\text{CH}_2)_n\text{CO}_2\text{H}]^+$ , produzindo a sequência  $m/z = 73, 87, 129, 143, 157, 171, 185, 213$  em 16:Acid e  $m/z$  241 além em 18:Acid.

**Figura 51 - Espectro de massas do composto 4. ácido tetradecanoico em hairpencils de machos de *H. taltula***



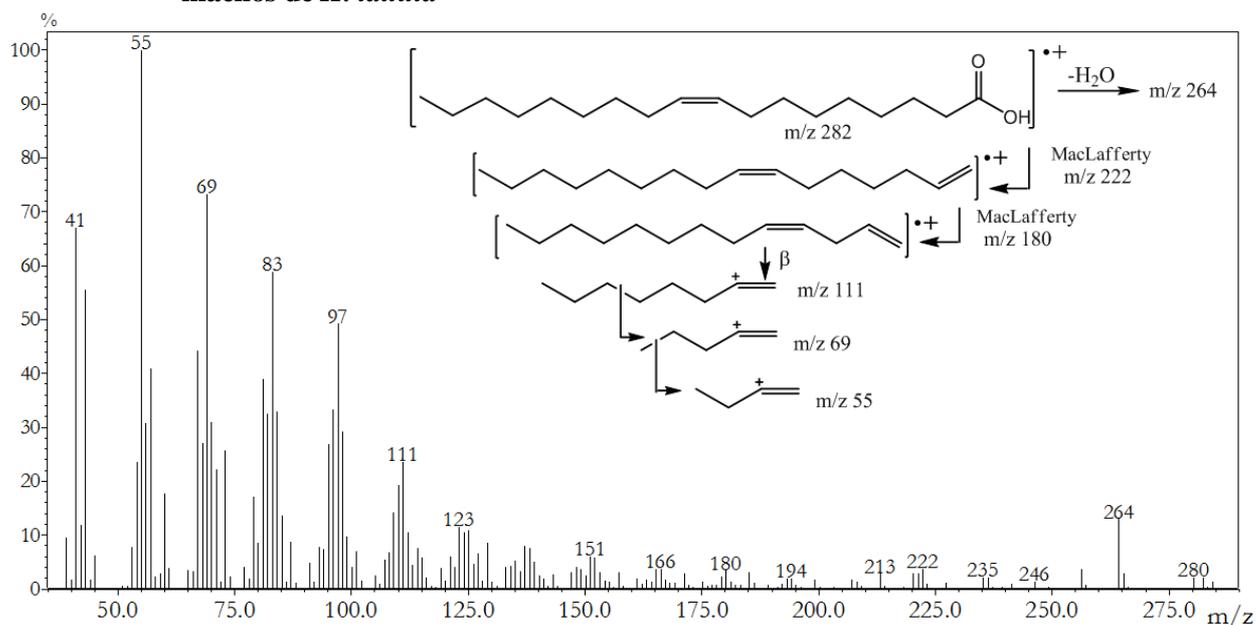
Os alcoóis hexadecanol (Figura 52) e octadecanol (Composto 10 Tabela 7 pag 74) apresentam um padrão de fragmentação similar. Perda de uma molécula de água para dar origem aos fragmentos  $m/z$  224 (1%) em 16:OH e  $m/z$  252 (1%) em 18:OH. A posterior perda de etileno gera o cátion radical das cadeias insaturadas  $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11,12}\text{CHCH}_2]^+$   $m/z$  196 (4%) em 16:OH e  $m/z$  224 (3%) em 18:OH. O Octadecanol sofre outra perda de etileno para a formação do cátion  $m/z$  196 (1%) e a série de fragmentos do tipo  $[\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2)_n]^+$  pela perda de metileno dá origem à sequência  $m/z$  41, 55, 69, 83, 97, 111..

**Figura 52 - Espectro de massas do composto 5. hexadecanol em hairpencils de machos de *H. taltula***



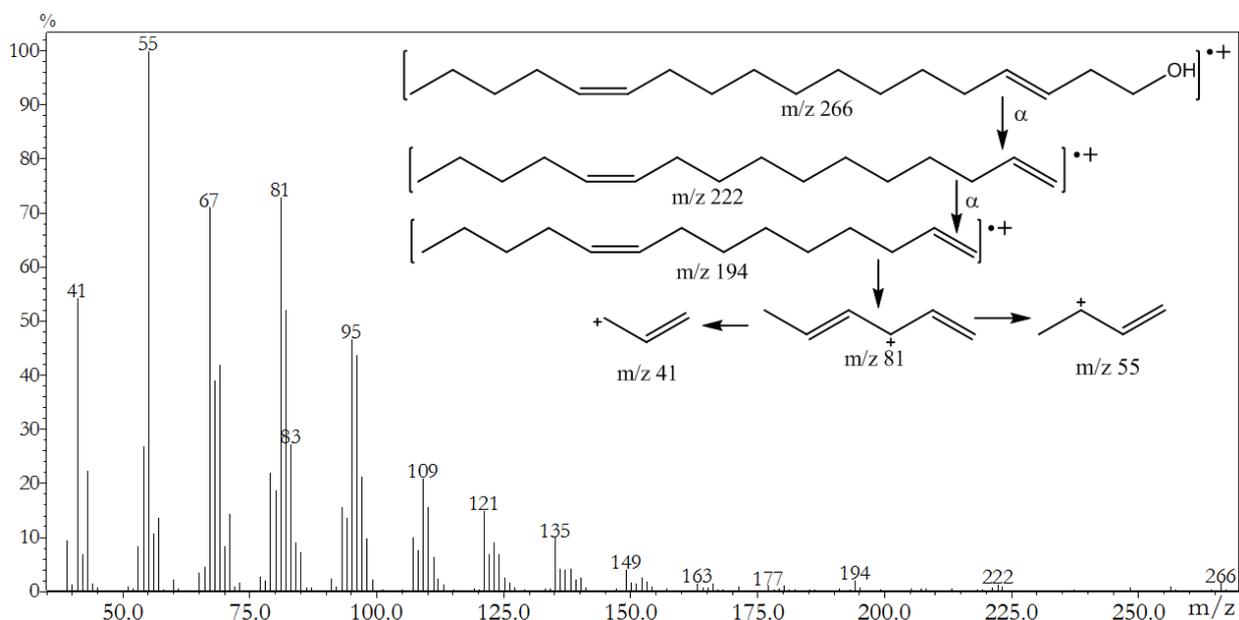
Os espectros de massas dos picos 6 e 11 (Tabela 7 pag 74) revelam a presença de ácidos insaturados correspondentes a ácido (*ZouE*)-9-hexadecenoico e ácido (*Z*)-9-octadecenoico (Figura 53), apresentando fragmentação similar. Este dois compostos apresentam pico do íon molecular, 9-16:Acid em m/z 254 (3%) e Z9-18:Acid em m/z 282 (2%), perda de uma molécula de água  $[M-18]^+$  em m/z 236 (12%) para 9-16:Acid e m/z 264 (13%) para Z9-18:Acid, além da perda de radical hidroxila  $[M-17]^+$  em m/z 237 (3%) e m/z 265 (3%). Rearranjos de MacLafferty podem ser observados, um no íon molecular e outro no fragmento gerado pelo primeiro rearranjo para formar os cátions radicais m/z 194 (5%) e m/z 152 (8%) para 9-16:Acid e m/z 222 (4%) e m/z 180 (4%) para Z9-18:Acid. A fragmentação na posição  $\alpha$  à dupla ligação no carbono 9 gera o cátion m/z 111 correspondente a  $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CHCH}]^+$  e a fragmentação deste gera os picos mais estáveis das moléculas na sequência de m/z 97, 83, 69, 55, 41, sendo o cátion m/z 55  $[\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2)_2]^+$  o pico base em ambas as moléculas.

**Figura 53 - Espectro de massas do composto 11. ácido (Z)-9-octadecenoico em hairpencils de machos de *H. taltula***



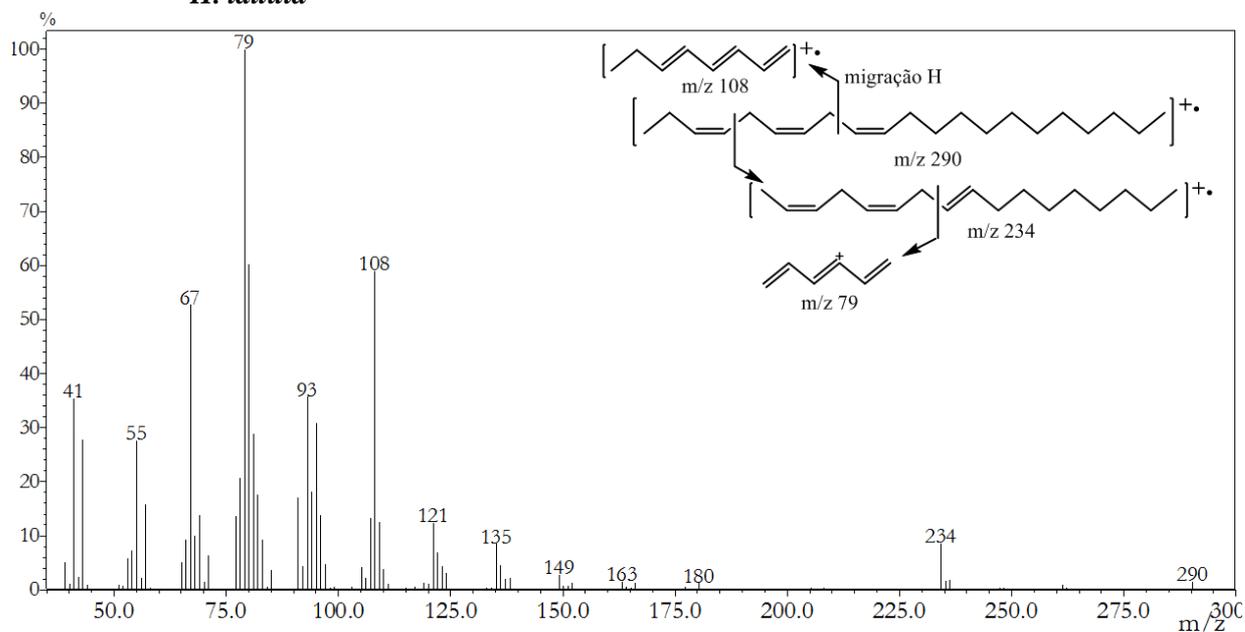
O composto do pico 8 (Tabela 7 pag 74) foi identificado como octadecadienol (Figura 54), apresenta pico referente ao íon molecular em m/z 266 (2%), sofre a perda de etenol gerando o cátion radical  $[M-44]^+$  m/z 222 (1%), bem como a perda de etileno para gerar o pico m/z 194 (2%). O pico base corresponde ao cation  $[CH_2CH(CH_2)_2]^+$  de m/z 55. A molécula sofre rearranjo e migração de hidrogênio para a formação da série homóloga do cátion  $[CH_2(CH)_3(CH_2)_n]^+$  onde duas duplas ligações estão conjugadas resultando, assim, em m/z 67 (71%), m/z 81 (73%), m/z 95 (47%), m/z 109 (21%).

**Figura 54 - Espectro de massas do composto 8. octadecadienol em hairpencils de machos de *H. taltula***



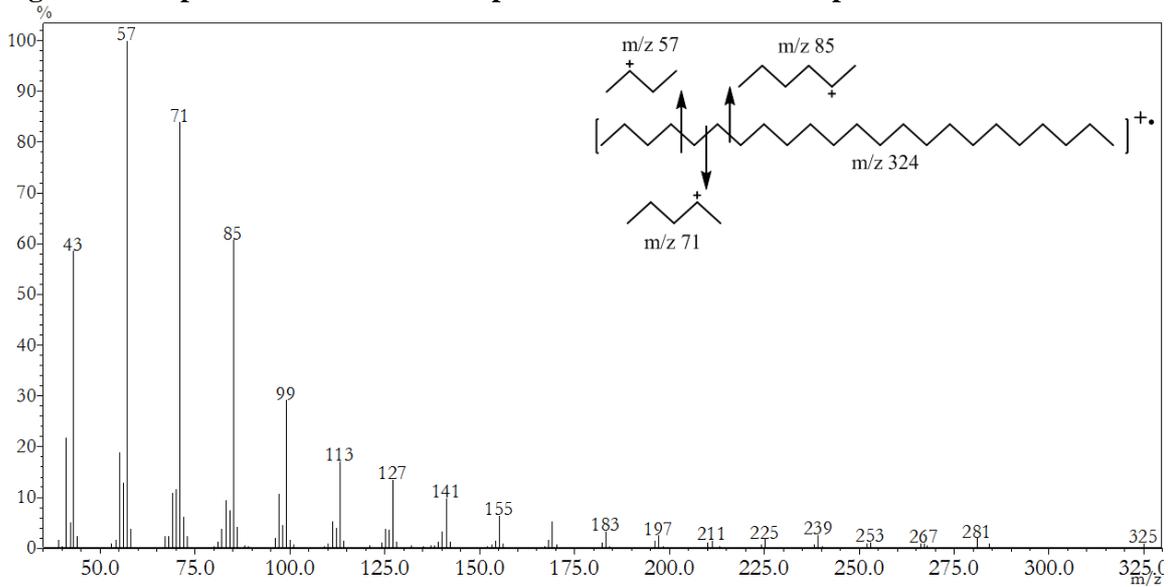
O espectro de massas de 3,6,9-henitricoseno (Figura 55) apresenta o pico do íon molecular com  $m/z$  290 (100%), e o íon  $[M-56]$   $m/z$  234 (9%) corresponde à  $[H(CH=CH)_3R]^+$  produzido por rearranjo e ruptura da ligação entre o  $C_4$  e  $C_5$ , dando lugar a outra dupla ligação entre  $C_9$  e  $C_{10}$ . O íon  $m/z$  108 (60%) é devido ao fragmento  $[CH_3CH_2(CH=CH)_3H]^+$  pela ruptura da ligação entre  $C_8$  e  $C_9$  com transferência de hidrogênio.

**Figura 55 - Espectro de massas do composto 9. 3,6,9-henitricoseno em hairpencil de machos de *H. taltula***

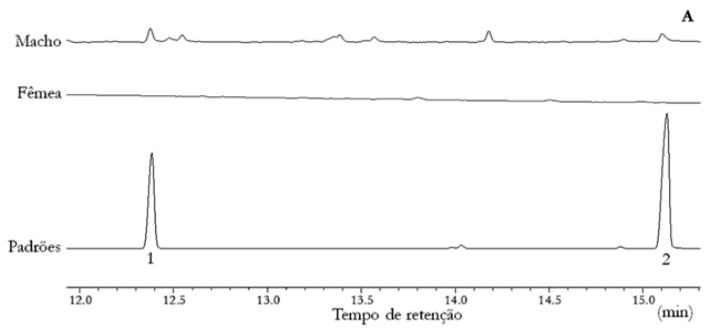


O último composto presente nos extratos de hairpencil (Tabela 7 pag 74) foi o tricosano o qual apresenta fragmentação típica de alcanos lineares Figura 56, fragmentações separadas por unidades de 14  $m/z$  com estabilidade na série homóloga de íons alquila  $[C_nH_{2n+1}]^+$  de 4, 5 e 6 átomos de carbono, dando origem aos cátions  $m/z$  57(100%),  $m/z$  71(84%) e  $m/z$  85 (61%).

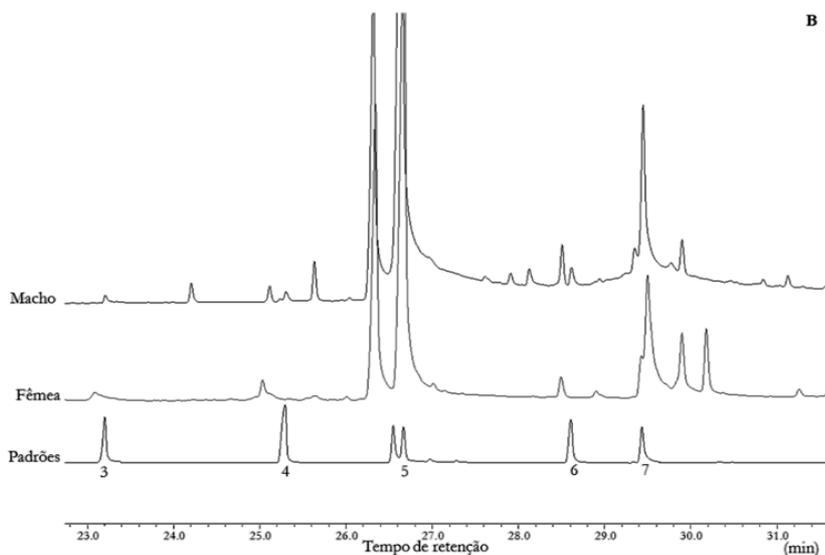
**Figura 56 - Espectro de massas do composto 13. tricosano em hairpencil de machos de *H. taltula***



**Figura 57 - TIC comparativos de extratos de glândula abdominal de fêmea, hairpencil de machos e padrões dos compostos elucidados**



Nota: TICs de CG-MS equipado com coluna NST-5 (30mx25mmx25 $\mu$ m), método cromatográfico descrito na seção 3.7 de materiais e métodos (pag 52). **A:** 1. 9:Ald; 2. E2-10:Ald. **B:** 3. 14:Acid; 4. 16:OH; 5. 16:Acid; 6. 18:OH; 7. Z9-18:Acid.



## 5. DISCUSSÃO

### 5.1. Análise etológica do comportamento sexual da *H. taltula*

O acasalamento em *H. taltula* envolveu a sequência de comportamentos de ambos sexos. As fêmeas apresentaram o comportamento padrão de chamamento no qual usualmente ficam estáticas e estendem seu abdômen para a exposição e contração do ovipositor e da glândula. Esta glândula é reconhecida em muitas mariposas como a glândula de produção de feromônio (FELIX et al., 2011). Alguns aspectos do chamamento da fêmea de *H. taltula*, como a extrusão do ovipositor e permanência parcialmente estática, também foram observados nas Noctuidae *Heliothis subflexa* (Guenée, 1852) (CIBRIANTOVAR;MITCHELL, 1991), *Sesamia nonagrioides* Lefebvre, 1827 (LÓPEZ;EIZAGUIRRE;ALBAJES, 2003), *Busseola fusca* Fuller, 1901 (FREROT et al., 2006) e *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (LEPPLA et al., 1987).

Os comportamentos no macho que evidenciaram a presença de um estímulo emitido pela fêmea foram a antenação e agitação de asas antes de empreender voo em procura desta, como também foi observado em *Busseola fusca* (FREROT et al., 2006). Esses comportamentos prévios ao cortejo são considerados como a ativação do acasalamento (LÓPEZ;EIZAGUIRRE;ALBAJES, 2003). Observou-se que caminhar agitando as asas e voar em direção aleatória tiveram uma frequência maior com relação ao comportamento normal do inseto. O aumento destes comportamentos foi sincronizado com o chamamento da fêmea, o que pode indicar uma relação entre a liberação de feromônios por parte da fêmea e a correspondente resposta do macho ao estímulo químico. Esta sincronia também foi observada em *Heliothis subflexa* (CIBRIANTOVAR;MITCHELL, 1991), *Sesamia nonagrioides* (LÓPEZ;EIZAGUIRRE;ALBAJES, 2003).

Posteriormente, o macho aproximou-se da fêmea e se posicionou sobre ou sob a asa da fêmea para curvar seu abdômen, acoplar os genitais, girar 180 graus e copular. Neste movimento foi claramente observável a exposição dos hairpencils do macho. A exposição e a curvatura do abdômen também são observadas em *Sesamia nonagrioides* (LÓPEZ;EIZAGUIRRE;ALBAJES, 2003), e *Mamestra brassicae* (Linnaeus, 1758) (Lep.: Noctuidae) (BIRCH;LUCAS;WHITE, 1989). O giro de 180 graus é característico de Noctuideos (BIRCH;LUCAS;WHITE, 1989; FREROT et al., 2006; KRASNOFF;ROELOFS, 1990; NAGAYAMA et al., 2004). Por sua vez, a fêmea responde à cópula com agitação de

asas permanecendo no mesmo lugar, comportamento observado também em *Heliothis subflexa* (CIBRIANTOVAR;MITCHELL, 1991).

O fato da localização da fêmea por parte do macho e a posterior indução ao cortejo é consequente da presença de um feromônio feminino que favorece esta localização. A fêmea de *H. taltula* parece ser quem determina se o acasalamento é exitoso ou não, já que é ela quem aceita ou rejeita a tentativa de cópula do macho, comportamento que também é observado nas fêmeas Noctuidae de *Mamestra brassicae* (BIRCH;LUCAS;WHITE, 1989) e em *Busseola fusca* (FREROT et al., 2006). Este comportamento da fêmea em conjunto com a exposição dos hairpencils, a fricção do abdômen nas paredes das gaiolas (Figura 28 pag 59) e a tentativa de interrupção da cópula de casais por parte dos machos sugerem a presença de feromônios masculinos que favorecem a receptividade. O comportamento de tentativa de interrupção da cópula de casais também foi observado em *Mamestra brassicae* (BIRCH;LUCAS;WHITE, 1989).

Os hairpencils dos machos de *H. taltula* possuem a morfologia típica de Noctuoideos e comumente são constituídos por um par de grupos de pelos em forma de pincel com glândulas de armazenamento (BIRCH;LUCAS;WHITE, 1989; HILLIER;VICKERS, 2004). Estes órgãos foram observados principalmente no momento da cópula ou no comportamento de ativação do macho, como acontece em *Heliothis subflexa* (CIBRIANTOVAR;MITCHELL, 1991).

Mediante a correlação de comportamentos, mostrada na Figura 29 (pag 61), chegou-se à conclusão que caminhar agitando as asas e voar compreendem um único comportamento no macho, isto é, a probabilidade que ocorram em sequência é grande ( $\rho = 0,96$ ;  $P < 0.01$ ). Em adição, estes dois eventos estão altamente associados a todos os demais comportamentos presentes no cortejo do macho, confirmando que estes comportamentos fazem parte do repertório normal de machos de *H. taltula*, como também é reportado para *Hydraecia micacea* (Esper, 1789) (Lep.: Noctuidae) (BURNS;TEAL, 1989). Também foi confirmado que o voo em direção à fêmea e pousar perto da fêmea estão altamente relacionados com a tentativa de cópula ou a cópula ( $\rho = 0,80$ ;  $\rho = 0,71$ , respectivamente  $P < 0.01$ ).

Observou-se uma rápida resposta do macho ao sentir o estímulo no ambiente, demorando no máximo oito minutos em concretizar a cópula, sendo que na maioria das observações antes

dos dois minutos ocorreu a copula. Esta rápida resposta do macho também é observada em outras mariposas Noctuoides (BURNS;TEAL, 1989; NAGAYAMA et al., 2004).

Embora o comportamento de corte seja variável, mesmo em espécies afins, a atração dos machos por fêmeas está presente em quase todas as famílias de mariposas. Sendo a especificidade da atração, desconsiderando os fatores ecológicos, baseada na composição química dos feromônios e nas proporções entre os componentes deste (RENOU et al., 1988B).

## 5.2. Morfologia das antenas de *H. taltula*

A subdivisão e a morfologia das antenas de *H. taltula* é encontrada também em Noctuidae como *Copitarsia consueta* Walker, 1857, *Helicoverpa armigera*, *Trichoplusia ni*, *Heliothis zea*, *Prodenia ornithogalli* (Guenée, 1852), *Spodoptera exigua* e na Erebidae *Catocala remissa* Staudinger, 1891 (CASTREJON-GOMEZ et al., 1999; DIONGUE;YANG;LAI, 2013; JEFFERSON et al., 1970; ZHENG et al., 2014). As sensilas tricóides caracterizadas na *H. taltula* apresentam forma estrutural com anelações similares às observadas em *Helicoverpa armigera* (DIONGUE;YANG;LAI, 2013). Os poros presentes nestas sensilas são pontos de entrada para moléculas odoríferas (KAISSLING, 1971), atuando juntamente com as estilocônicas como receptores olfativos em mariposas (JEFFERSON et al., 1970). As sensilas tricóides são particularmente responsáveis pela detecção de feromônios sexuais (LEAL, 2005). Nas espécies *Bombix mori* Linnaeus, 1758 (Lep.: Bombycidae) e *Antheraea pernyi* (Guérin-Méneville, 1855) (Lep.: Saturniidae) estas sensilas são encontradas em fêmeas e machos, mas apenas as sensilas tricóides de machos apresentam resposta eletroantenográfica ao feromônio sexual de fêmeas (SCHNEIDER, 1957; SCHNEIDER;LACHER;KAISSLING, 1964). Algumas sensilas tricóides são caracterizadas pela presença de multiporos em sua estrutura, como acontece em *Helicoverpa armigera* (DIONGUE;YANG;LAI, 2013), ou podem também não apresentar poros, como nas espécies *Parnara sp.* e *Pelopidas sp.* (Lep.: Hesperiiidae) (XIANGQUN et al., 2014). Na *H. taltula* foi observado um único poro presente na ponta das sensilas tricóides. As sensilas caéticas descritas na *H. taltula* são conhecidas por ter propriedades mecanorreceptivas e quimiossensoras em mariposas (JEFFERSON et al., 1970) e têm sido reportadas em muitas mariposas Noctuidae (CALATAYUD et al., 2006; MALO et al., 2004). A estrutura comprida e superfície rugosa das sensilas caéticas presentes na *H. taltula* foram observadas também nas sensilas caéticas de *Pseudaletia Unipuncta* (Lep.: Noctuidae) (LAVOIEDORNIK;MCNEIL, 1987). Uma sensila presente só em antenas de fêmeas foi a sensila esquamiforme, essa sensila

lisa tem sido relatada com propriedades mecanoreceptoras principalmente pela ausência de porosidade (SCHNEIDER, 1964). As sensilas esquamiformes tem sido reportadas em antenas de mariposas como *Synanthedon scitula* (Harris, 1839) (Lep.: Sesiidae), *Coleophora sp.* (Lep.: Coleophoridae) e *Zamagiria dixolophella* Dyar, 1914 (Lep.: Pyralidae) (FAUCHEUX, 2011; FRANK; LESKEY; BERGH, 2010; GOMEZ et al., 2003).

As sensilas auricílicas são estudadas como as antenas responsáveis pela percepção de voláteis de plantas. Os machos e as fêmeas de *Scoliopteryx libatrix* (Linnaeus, 1758) (Lep.: Noctuidae) apresentam dois tipos de sensilas auricílicas que são sensíveis aos compostos  $\Delta$ -3-careno, linalol e  $\alpha$ -pineno presentes em voláteis de plantas (ANDERSON; HALLBERG; SUBCHEV, 2000). As sensilas auricílicas (A1) presentes na *H. taltula* são as mais estudadas com relação às auricílicas (A2), e comumente apresenta-se apenas um tipo desta sensila nas antenas de mariposas. As sensilas A1 são a segunda sensilas mais abundantes em *Catocala remissa* (ZHENG et al., 2014)

As sensilas estilocônicas podem apresentar diferentes morfologias, variando em quantidade de picos na extremidade da sensila. Nas fêmeas de *H. taltula* observou-se apenas um pico nestas sensilas, mas em espécies como *Catocala remissa* foram observadas sensilas estilocônicas com dois e três picos (ZHENG et al., 2014).

Dimorfismo sexual foi observado entre as antenas de fêmeas e machos de *H. taltula*. Os machos apresentam maior quantidade de sensilas tricoides e de sensilas caéticas. Além disso, o comprimento das sensilas caéticas C1 é menor nas antenas femininas. A ausência de sensilas esqualiformes e estilocônicas nas antenas dos machos é outra diferença observada entre as antenas masculina e femininas da *H. taltula*. Em adição, a diferença do comprimento das sensilas caéticas entre as fêmeas e os machos da mesma espécie também tem sido observada em *Busseola fusca* (CALATAYUD et al., 2006).

### **5.3. Determinação da atividade biológica do extrato abdominal da fêmea da *H. taltula***

Ao comparar o número de vezes que foi repetido um comportamento dos machos (N=20) com relação à presença da fêmea e do extrato, observou-se que estes não apresentavam diferença significativa ( $P < 0.01$ ) pelo teste de Mann-Whitney (Tabela 5 pag 66). Comportamentos como voar e caminhar agitando as asas aumentaram sua frequência na presença do extrato como também foi evidenciado em presença da fêmea. Esta maior atividade nos machos tem sido reportada como a fase de ativação ao receber um estímulo

sexual (LÓPEZ;EIZAGUIRRE;ALBAJES, 2003). Por outro lado a presença destes comportamentos durante o bioensaio com Hexano corrobora o fato de que são comportamentos habituais do inseto.

Voar na direção da fonte, caminhar agitando asas na gaiola da fonte e a tentativa de cópula com a gaiola da fonte revelam a presença de um feromônio sexual no extrato, que atraiu o macho e desencadeou estes comportamentos caracterizados previamente como comportamentos sexuais. O comportamento de pousar na gaiola teve diferença significativa entre os três tratamentos devido a que o macho permaneceu mais vezes na gaiola quando era a fêmea a fonte de estímulo que quando o extrato estava presente. O fato de não ser a fêmea a fonte de liberação pode fazer que o macho a curta distância precise do estímulo visual da presença da fêmea para continuar com acasalamento, no entanto estando longe da fonte a presença do estímulo olfativo no ar pode confundi-lo, fazendo empreender a procura normal da fonte. Pelo anterior o comportamento de voar na direção da fonte não diminuiu como foi observado a diminuição de permanecer sobre o lugar da fonte, quando esta era o extrato das glândulas.

#### **5.4. Composição química das glândulas abdominais de fêmeas da *H. taltula***

Cadeias lineares de hidrocarbonetos entre C<sub>21</sub> e C<sub>26</sub> foram encontradas na glândula de *H. taltula*. Estes compostos são encontrados comumente na cutícula dos insetos (GIROTTI;MIJAILOVSKY;JUÁREZ, 2012). Estudos em lepidópteros reportam a presença de tricosano nos extratos corpóreos de espécimes das famílias Crambidae, Pyralidae, Lymantriidae e Tortricidae (EL-SAYED, 2014). Os hidrocarbonetos saturados cumprem várias funções biológicas nos lepidópteros, desde oferecer proteção, até servir como compostos estimulantes de curto alcance, como acontece em machos Lymantridae de *Orgyia leucostigma* (Smith, 1797) que se vêm atraídos a septos que contém os hidrocarbonetos das escamas de fêmeas da mesma espécie (GRANT et al., 1987).

A glândula abdominal da *H. taltula* está composta principalmente por ácidos graxos como: ácido (Z)-9-hexadecenoico (ácido palmitoleico), ácido hexadecanoico (ácido palmítico), ácido (Z,Z)-9,12-octadecadienoico (ácido linoléico) e ácido (Z)-9-octadecenoico (ácido oleico). Estes ácidos são comumente reportados em extratos corpóreos de lepidópteros. Z9-16:Acid, 16:Acid e Z9-18:Acid são reportados no ovipositor da broca-gigante-da-cana *Telchin licus* (Drury, 1773) (Lep.: Castiniidae) (REBOUÇAS et al., 1999) e o 16:Acid é

reportado fazendo parte dos voláteis de machos e fêmeas de *Papilio polytes* Linnaeus, 1758 (Lep.: Papilionidae) (OMURA;HONDA, 2005), a abundância destes ácidos na natureza com insaturações na posição 9 e 12 e configuração (Z) auxilia a identificação estrutural destes nas glândulas abdominais da *H. taltula*, no entanto, é necessário sua confirmação mediante o uso de padrão e as técnicas de separação de isômeros por cromatografia gasosa com o uso de colunas quirais. Destes ácidos insaturados só o ácido (Z)-9-octadecenoico foi confirmado com padrão (Figura 57 pag 81).

A resposta eletroantegráfica da antena dos machos de *H. taltula* revela a presença de receptores olfativos sensíveis ao ácido (Z)-9-hexadecenoico e ácido (Z)-9-octadecenoico (pico 1 e 6 Figura 47 pag 73). Embora os ácidos não sejam relatados como componentes feromonais, são importantes precursores para a biossíntese de feromônios femininos em mariposas (JURENKA, 2004) e estão envolvidos em comportamentos biológicos em adultos de mariposas (DENOTTER et al., 1989).

A esterificação dos ácidos é uma das modificações que está presente na biossíntese dos compostos da glândula da *H. taltula*. Os ésteres (Z)-9-hexadecenoato de butila, hexadecanoato de butila e (Z)-9-octadecenoato de butila presentes na glândula, são produtos da esterificação de Z9-16:Acid, 16:Acid e Z9-18:Acid. Estes ésteres são os segundos compostos mais abundantes na glândula. Os ésteres insaturados são reportados como feromônios de tipo I principalmente na família Lymantriidae (ANDO;INOMATA;YAMAMOTO, 2004). Wakamura et al.(2001) reportam na Arctiidae *Eilema spp.*, os compostos Z7-18:But, Z7-18:Oisobut e derivados metílicos destes fazendo parte do feromônio sexual das fêmeas. Embora a similaridade dos compostos encontrados na glândula de *H. taltula* com os reportados para a família Lymantriidae seja muito alta, não são esperados estes compostos como feromônios da *H. taltula* já que na subfamília Herminiinae predomina os feromônios tipo II.

O ácido (Z,Z)-9,12-octadecadienoico é um ácido graxo essencial que é adquirido mediante a alimentação (JURENKA, 2004). O Z9,Z12-18:Acid é importante como precursor para a biossíntese de feromônios do tipo II (MILLAR, 2000) e pode sofrer modificações como reduções, oxidações, epoxidações e alongamento de cadeia para a formação de feromônios importantes na subfamília Herminiinae da *H. taltula*.

Entre as modificações que pode sofrer o Ácido linolênico adquirido na dieta dos insetos estão o alongamento da cadeia e a descarboxilação, para dar produtos de cadeias de C<sub>19</sub>, C<sub>21</sub> e C<sub>23</sub>, como o Z3,Z6,Z9-21:H. Esta molécula foi encontrada na glândula de *H. taltula* e é um dos compostos mais descritos como parte da mistura feromonal de várias mariposas.

Na subfamília Catocalinae o composto Z3,Z6,Z9-21:H apresenta-se como feromônio feminino ou atratante masculino nas espécies *Achaea janata* (Linnaeus, 1758) praga da mamoneira (KRISHNAKUMARI et al., 1998), *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 importante praga da cultura da soja no Brasil (HEATH et al., 1988), *Caenurgina erechtea* (Cramer, 1780) (UNDERHILL et al., 1983), duas *Mocis spp.* (LANDOLT;HEATH, 1989; LANDOLT;HEATH;LEPPLA, 1986), *Gonodonta spp.* e *Melipotis januaris* Guenée, 1852 (RENOU et al., 1988A). E na *Aedia leucomelas* (Linnaeus, 1758) da subfamília Ophiderinae (TAMAKI et al., 1996).

Mas dentre os Herminiinae estudados, apenas a *Tetanolita mynesalis* (Walker, 1859) usa o Z3,Z6,Z9-21:H como parte da mistura feromonal (HAYNES et al., 1996), embora também seja observado nos feromônios femininos da família Geometridae, em espécies como *Mnesampela privata* Guenée, 1858 (WALKER et al., 2009), *Cystidia couaggaria* Guenée, 1858 (YAMAKAWA et al., 2012), *Colotois pennaria* (Linnaeus, 1761) (SZOCS et al., 1993) e na família Arctiidae em *Edema japônica* (FUJII et al., 2010), *Halysidota leda* Druce, 1890 (DESCOINS et al., 1989) apud (MILLAR, 2000), *Cretonotos transiens* Walker, 1855, *Cretonotos gangis* (Linnaeus, 1763) (BELL;MEINWALD, 1986), *Pareuchaetes pseudoinsulata* Rego Barros, 1956 (SCHNEIDER et al., 1992).

O Z3,Z6,Z9-21:H pode servir como base para a biossíntese de epóxidos (WEI et al., 2003), como o Z3,Z6,epo9-21:H, composto do tipo II também presente em *H. taltula*.

O Z3,Z6,epo9-21:H foi identificado pelos seus característicos fragmentos de m/z 79 (100%), 108 (73%) e 122 (15%). Mesmo que o Z3,Z6,epo9-19:H tenha o mesmo padrão de fragmentação (MILLAR, 2000) a distinção foi feita pelo índice de Kovats, já que para o Z3,Z6,epo9-19:H reporta-se IK em 2056 (em coluna DB-5) e para o Z3,Z6,epo9-21:H em 2261 (em coluna DB-5) (GIBB et al., 2006) correlacionando-se com IK observado 2254 (em coluna RTX-5).

Na subfamília Herminiinae predominam as cadeias C<sub>19</sub> e C<sub>21</sub> com uma ou duas insaturações e epóxidos como compostos feromonais (MILLAR, 2000). A epoxidação do

Z3,Z6,Z9-21:H na posição 6 é a mais reportada (ANDO et al., 1995; HAYNES et al., 1996; MILLAR et al., 1991A). No entanto Renou et al. (1988A) descrevem mais de sete espécimes da subfamília Catocalinae que usam como feromônio sexual o epóxido na posição 9 do Z3,Z6,Z9-21:H com configuração 9S,10R.

Dentro do grupo Quadrifinae, as espécies *Syllectra erycata* Stoll, 1780 da subfamília Ophiderinae (RENOU et al., 1988A), *Oraesia excavata* (Butler, 1878) da subfamília Calpinae (OHMASA et al., 1991) e *Hypena* sp. (VAN HAI et al., 2002; WONG et al., 1985) da subfamília Hypeninae apresentam o Z3,Z6,epo9-21:H como atraente masculino ou como feromônio feminino.

A estereoquímica do epóxido é uma característica importante para a bioatividade do composto como feromônio sexual (MILLAR, 2000). Um enantiômero pode ser altamente atraente, enquanto o outro pode ser fortemente antagonista, como acontece na mariposa-cigana *Lymantria dispar* (Linnaeus, 1758) (Lep.: Lymantriidae) na qual o enantiômero (7R,8S) de seu feromônio sexual (Me2,epo7-20:H) é bioativo e o enantiômero oposto inibe a resposta feromonal (MORI, 2007). Ou a mistura não-racêmica dos dois enantiômeros é bioativa, mas cada enantiômero individualmente é inativo como acontece em *Syllectra erycata* (Lep.: Ophiderinae) (RENOU et al., 1988A).

Na subfamília Catocalinae podem ser encontradas espécies como *Mocis megas* (Guenée, 1852) (DESCOINS et al., 1990), *Caenurgina distincta* Neumoegen, 1883 e *Euclidia cuspidea* Hübner, 1818 (MILLAR et al., 1991C) que apresentam os compostos Z3,Z6,Z9-21:H e Z3,Z6,epo9-21:H fazendo parte de sua mistura feromonal. Ainda que estes dois compostos não tenham apresentado resposta eletroantegráfica em antenas de machos neste trabalho, a quimiositemática indica uma grande probabilidade que estes compostos sejam parte da mistura feromonal da fêmea da *H. taltula*

##### **5.5. Composição química de hairpencils em machos da *H. taltula***

Os feromônios sexuais podem ser produzidos por fêmeas ou por machos de acordo com a espécie e, em alguns casos, ambos os sexos contribuem para a comunicação química envolvida no acasalamento (HOU;SHENG, 2000). O estudo da composição química dos feromônios em machos é fundamental para a elucidação dos sistemas de comunicação química destes lepidópteros (TEAL;TUMLINSON, 1989).

A maioria dos compostos elucidados nos hairpencils de *H. taltula* têm sido reportados fazendo parte da composição dos voláteis, feromônios ou extratos corpóreos de lepidópteros masculinos, conforme é mostrado na Tabela 8.

Dentro dos compostos elucidados, alguns como o ácido hexadecenoico, octadecadienol e henicostrieno precisam de outras análises químicas para elucidar completamente a molécula. A posição da dupla ligação terá que ser confirmada mediante derivatização e a configuração usando padrões de referência ou sintéticos e analisados em colunas cromatográficas quirais. Os isômeros são indistinguíveis em CG-EM de coluna não quiral, já que comumente coeluem e o padrão de fragmentação é o mesmo (SOJÁK, 2004).

Os dois aldeídos identificados, 9:Ald e 10:Ald encontram-se em glândulas e voláteis de machos da família Pyralidae, *Achroia obscurevittella* Ragonot, 1990 (NEMOTO;KUWAHARA;SUZUKI, 1990) e *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758), neste último o 9:Ald é o principal componente do feromônio masculino (LEBEDEVA et al., 2002; SVENSSON et al., 2014).

**Tabela 8 - Espécies de lepidópteros que contêm como parte de seu feromônio masculino os componentes do hairpencil de *H. taltula***

Familia	Especie	Composto							Referência	
		14:Acid	16:Acid	18:Acid	16OH	18OH	Z9-16:Acid	Z3,Z6,Z9-21:F		Z9-18:Acid
<b>Danaidae</b>										
	<i>Amauris spp.</i>	☞☞☞	☞☞☞	☞☞☞					☞☞☞	Schulz et al.(1993)
	<i>Danaus chrysippus</i> (Linnaeus, 1758)		☞☞☞	☞☞☞						Schulz et al.(1993)
	<i>Tirumala formosa</i> (Godman, 1880)	☞☞☞	☞☞☞	☞☞☞	☞☞☞					Schulz et al.(1993)
<b>Sphingidae</b>										
	<i>Acherontia atropos</i> (Linnaeus, 1758)		☞☞☞	☞☞☞			☞☞☞		☞☞☞	Moritz et al.(1991)
<b>Noctuidae</b>										
	<i>Heliothis virescens</i> (Fabricius, 1777)	☞☞☞	☞☞☞	☞☞☞	☞☞☞	☞☞☞				Teal et al.(1989)
	<i>Achaea janata</i> (Linnaeus, 1758)							☞☞☞		Jyothi et al.(2005)
	<i>Anticarsia gemmatalis</i> Hübner, 1818							☞☞☞		Heath et al.(1988)
<b>Erebidae</b>										
	<i>Hyponomea taltula</i> Schaus, 1904	☞☞☞	☞☞☞	☞☞☞	☞☞☞	☞☞☞	☞☞☞	☞☞☞	☞☞☞	<u>Presentes neste trabalho</u>

Os ácidos carboxílicos são importantes compostos encontrados nas androcônias masculinas de vários lepidópteros. Schulz et al. (2008) reportam os ácidos 14:Acid, 16:Acid e 18:Acid como componentes das glândulas abdominais dos machos de vários *Danaidae. spp.* e Scheneider et al. (1992) relatam que estes ácidos fazem parte do coremata dos machos Arctiidae *Pareuchaetes pseudoinsulata* Rego Barros, 1956. Os ácidos desenvolvem diferentes papéis no comportamento do inseto. Moritz, Kirchner e Crewe (1991) relatam que

o 16:Acid e 18:Acid servem em *Acherontia atropos* (Linnaeus 1758) como cairomônios, e são usados pelas mariposas para ter acesso ao néctar e mel em colônias de abelhas sem ser afetadas. Por outro lado Denotter et al. (1989) reportam o 16:Acid como antagonista do feromônio da fêmea nos machos Tortricidae *Adoxophyes orana* (Fisch.von Rösl., 1834), e estes, ao perceber o feromônio sexual das fêmeas, agitam as asas na direção do vento, emitindo o feromônio masculino que é detectado por outros machos e inibe o comportamento sexual destes últimos.

Os ácidos 16:Acid e 18:Acid são precursores para a produção de feromônios. Estes ácidos são sintetizados pelos insetos, mediante a mesma rota sintética de ácidos graxos em todos os organismos vivos, através de acetil-CoA, malonil-CoA por meio de uma ácido graxo sintase. Posteriormente, sofrem diferentes modificações como os mostrados na Figura 13 (pag 38) para chegar aos produtos finais. Os alcoóis 16:OH e 18:OH presentes em hairpencils da *H. taltula* derivam possivelmente da redução dos ácidos, como ocorre em *Bombyx mori* Linnaeus, 1758 (Lep.: Bombycidae) (MOTO et al., 2003) ou em *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) (Lep.: Noctuidae). De igual forma a presença dos ácidos graxos monoinsaturados Z9-16:Acid e Z9-18:Acid pode acontecer pela ação da  $\Delta 9$  dessaturase em 16:Acid e 18:Acid, respectivamente (JURENKA, 2004). Posteriores alongamentos e dessaturações nestes ácidos graxos monoinsaturados podem produzir o Octadecadienol encontrado em hairpencils da *H. taltula*

Sabe-se que os machos de mariposas são ativos a compostos emitidos por machos coespecíficos (HILLIER;VICKERS, 2011), desencadeando comportamentos de agregação, atração ou repelência entre estes, como acontece em *Adoxophyes orana* (Lep.: Tortricidae) (DENOTTER et al., 1989) ou em *H. virescens* (Lep.: Noctuidae) (HILLIER;VICKERS, 2011). Por conseguinte, a presença de atividade antenográfica dos machos da *H. taltula* frente aos compostos Z9-16:Acid e Z9-18:Acid (Figura 47 pag 73) pode também estar relacionada com a presença destes compostos nos extratos de hairpencil, embora sejam necessários bioensaios com estes dois ácidos para definir seu papel biológico na *H. taltula*.

Moritz, Kirchner e Crewe (1991) indicam que o Z9-16:Acid e Z9-18:Acid em *Acherontia atropos* não tiveram diferenças nos extratos de distintas partes do corpo, nem foram discriminatórios entre extratos de machos e fêmeas. Por outro lado o octadecadienol só tem sido reportado em mariposas fazendo parte do feromônio sexual em fêmeas como o

(*E,Z*)-2,13-octadecadienol na Tineidae *Tineola bisselliella* (Hummel,1823) (TAKACS;GRIES;GRIES, 2001).

Dado que os componentes liberados pelos hairpencils são importantes para o sucesso reprodutivo, uma vez que induzem as fêmeas a começar a chamar e a tornar-se receptivas ao cortejo masculino (HILLIER;VICKERS, 2011), a perda destes compostos com a idade explicaria porque machos velhos de *H. taltula* não tiveram o mesmo êxito de acasalamentos que os machos novos. Teal e Tumlinson (1989) estudaram a mudança da concentração do 16:OH presente em hairpencils de *Heliothis virescens* e encontraram que a maior concentração deste componente ocorre às 24h de idade, indicando uma maturação reprodutiva. Também demonstraram que esta concentração diminuía durante as tentativas de acasalamento sem êxito ao longo da vida da mariposa.

Z3,Z6,Z9-21:H é um importante composto encontrado nos hairpencils de machos e em glândulas abdominais de fêmeas de *H. taltula*. Este componente com configuração (*Z*) nas suas duplas ligações é um feromônio tipo II e tem sido reportado como parte do feromônio masculino em espécies da superfamília Noctuoidea. Heath et al. (1988) documentam que o composto (*Z,Z,Z*)-3,6,9-Henicosatrieno é liberado por hairpencils de machos e glândulas sexuais de fêmeas em *Anticarsia gemmatalis*, mas indica que a resposta dos machos à mistura feromonal da fêmea é diferente à mistura liberada pelos machos, e concluíram que o Z3,Z6,Z9-21:H funciona como um feromônio de cortejo que facilita a aceitação feminina. Entretanto Jyothi, Prasuna e Prasad (2005) chegaram a mesma conclusão ao demonstrar que o Z3,Z6,Z9-21:H atua como afrodisíaco para as fêmeas de *Achaea janata* ao ser liberado pelos machos.

As fêmeas de mariposas apresentam receptores que respondem aos componentes de seu próprio feromônio, como acontece em *Spodoptera littoralis* *Spodoptera littoralis* (Lep.: Noctuidae) (LJUNGBERG;ANDERSON;HANSSON, 1993). Não obstante, a razão da existência destes receptores não é conhecida (HILLIER;KLEINEIDAM;VICKERS, 2006), embora a presença de compostos comuns no feromônio masculino e feminino das mariposas como acontece na *H. taltula* talvez possa explicar este fato.

Sabe-se que os compostos dos hairpencils são liberados principalmente durante o período de cortejo e acasalamento, possivelmente numa concentração maior, comparado com o liberado durante o período de chamamento da fêmea. Isto pode explicar o observado na *H. taltula* em que machos tentavam interromper a cópula de outros casais, talvez pela

proximidade ao casal e como um fenômeno secundário resultante da competição entre machos pelas fêmeas.

Pelo fato de Z3,Z6,Z9-21:H ser um composto encontrado comumente em feromônios de machos e fêmeas dos Quadrifinae, e que faz parte também dos compostos encontrados na glândula da fêmea pode-se propor que o 3,6,9-henicosatrieno seria um composto candidato do feromônio masculino em *H. taltula*.

## 6. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Este estudo da ecologia química da *H. taltula* descreve em detalhe o comportamento sexual da espécie em laboratório e apresenta a principal composição química da glândula sexual da fêmea e dos hairpencils dos machos. A partir dos resultados, foram propostos prováveis compostos componentes do feromônio sexual feminino e masculino o que serve como base para pesquisas com vistas ao combate e controle desta praga, principalmente no método de controle por comportamento do MIP baseado em feromônios sexuais.

Os resultados obtidos apresentam impacto científico ao contribuir para o conhecimento acerca do comportamento sexual e da composição química dos feromônios em uma espécie da subfamília Herminiie a qual tem poucos aportes científicos na área da ecologia química.

A continuidade deste projeto é a completa elucidação estrutural dos componentes do feromônio sexual feminino e masculino da *H. taltula* visando à síntese e formulação do feromônio. Após a obtenção do produto sintético, a bioatividade deste será confirmada mediante bioensaios e análises eletrofisiológicas e posteriormente será testada em bioensaios de campo.

As sínteses destes compostos bioativos estarão direcionadas para desenvolver produtos biotecnológicos eficientes para o controle da *H. taltula* e assim, pretende-se reduzir a perda ocasionada por este inseto, resultando em uma prática agrícola mais sustentável da cultura da cana-de-açúcar.

## 7. CONCLUSÃO

A atividade sexual da *H. taltula* foi caracterizada pelos comportamentos de chamamento e receptividade por parte da fêmea e cortejo por parte do macho finalizando com a cópula com duração de  $75 \pm 15$  minutos. As antenas de *H. taltula* apresentaram forma filiforme e apresentaram dimorfismo sexual. Foram caracterizadas três tipos de sensila tricoide, dois tipos de sensila caética e auricílica, e sensilas coelocônicas em antenas de machos, enquanto que nas antenas de fêmeas foram descritas dois tipos de sensilas tricoide, caética, auricílica e estilocônica, sensilas coelocônicas e sensilas esquamiformes. No extrato obtido das glândulas abdominais das fêmeas foram identificados os compostos Z9-16:Acid, 16:Acid, Z3,Z6,Z9-21:H, 21:H, Z9,Z12-18:Acid, Z9-18:Acid, Z9-16:Obut, 16:Obut, Z3,Z6,epo9-21:H, 23:H, Z9-18:Obut, 24:H, 25:H, 26:H e os bioensaios de atração realizados em arena evidenciaram a presença de feromônio sexual na glândula abdominal da fêmea, confirmando que esta glândula correspondia à glândula sexual, produtora de feromônio. Como preliminar proposta da composição da mistura feromonal feminino encontram-se os compostos Z3,Z6,Z9-21:H e Z3,Z6,epo9-21:H. A resposta eletroantegráfica da antena dos machos frente ao extrato da glândula feminina revela a presença de receptores olfativos sensíveis ao Z9-16:Acid e Z9-18:Acid. Comportamentos de receptividade da fêmea e cortejo do macho caracterizam a presença de um feromônio sexual produzido pelo macho. Os compostos identificados nos hairpencils dos machos foram 9:Ald, 10:Ald, E2-10:Ald, 14:Acid, 16:OH, Z9-16:Acid, 16:Acid, Z3,Z13-18:OH, Z3,Z6,Z9-21, 18:OH, Z9-18:Acid, 18:Acid, 23:H e como preliminar proposta de um dos componentes ou do feromônio sexual masculino encontra-se o Z3,Z6,Z9-21:H.

## REFERÊNCIAS

- ANDERSON, P.; HALLBERG, E.; SUBCHEV, M. Morphology of antennal sensilla auricillica and their detection of plant volatiles in the Herald moth, *Scoliopteryx libatrix* L. (Lepidoptera : Noctuidae). **Arthropod Struct Dev**, v. 29, n. 1, p. 33-41, 2000.
- ANDO, T.; INOMATA, S.; YAMAMOTO, M. Lepidopteran sex pheromones. **Top Curr Chem**, v. 239, p. 51-96, 2004.
- ANDO, T. et al. Sex Attractants of Geometrid and Noctuid Moths - Chemical Characterization and Field-Test of Monoepoxides of 6,9-Dienes and Related-Compounds. **J Chem Ecol**, v. 21, n. 3, p. 299-311, 1995.
- ANDO, T. et al. Hydrocarbons with a Homoconjugated Polyene System and Their Monoepoxy Derivatives - Sex Attractants of Geometrid and Noctuid Moths Distributed in Japan. **J Chem Ecol**, v. 19, n. 4, p. 787-798, 1993.
- ARRUDA-GATTI, I. C.; VENTURA, M. U. Iscas contendo cucurbitacinas para o manejo de *Diabrotica* spp. Curcubitocin containing baits for *Diabrotica* spp. management. **Ciências Agrárias**, v. 24, n. 2, p. 331-336, 2003.
- BABUSHOK, V. I. et al. Development of a database of gas chromatographic retention properties of organic compounds. **J Chromatogr A**, v. 1157, n. 1-2, p. 414-421, 2007.
- BAKER, T. C.; CARDE, R. T. Courtship Behavior of the Oriental Fruit Moth (*Grapholitha Molesta*)(Lepidoptera-Tortricidae) - Experimental-Analysis and Consideration of the Role of Sexual Selection in the Evolution of Courtship Pheromones in the Lepidoptera. **Ann Entomol Soc Am**, v. 72, n. 1, p. 173-188, 1979.
- BATISTA-PEREIRA, L. G. et al. Isolation, identification, synthesis, and field evaluation of the sex pheromone of the Brazilian population of *Spodoptera frugiperda*. **J Chem Ecol**, v. 32, n. 5, p. 1085-1099, 2006.
- BELL, T.; MEINWALD, J. Pheromones of two arctiid moths (*Cretonotos transiens* and *C. gangis*). **J Chem Ecol**, v. 12, n. 2, p. 385-409, 1986.
- BERDAGUE, J. L. et al. Volatile components of dry-cured ham. **J Agr Food Chem**, v. 39, n. 7, p. 1257-1261, 1991.
- BERGMANN, J.; GONZÁLEZ, A.; ZARBIN, P. H. G. Insect pheromone research in South America. **J Brazil Chem Soc**, v. 20, n. 7, p. 1206-1219, 2009.
- BINYAMEEN, M. et al. Spatial Organization of Antennal Olfactory Sensory Neurons in the Female *Spodoptera littoralis* Moth: Differences in Sensitivity and Temporal Characteristics. **Chem Senses**, v. 37, n. 7, p. 613-629, 2012.
- BIRCH, M. C.; LUCAS, D.; WHITE, P. R. The Courtship Behavior of the Cabbage Moth, *Mamestra-Brassicae* (Lepidoptera, Noctuidae), and the Role of Male Hair-Pencils. **Journal of Insect Behavior**, v. 2, n. 2, p. 227-239, 1989.

BIRCH, M. C.; POPPY, G. M.; BAKER, T. C. Scents and Eversible Scent Structures of Male Moths. **Annu Rev Entomol**, v. 35, p. 25-58, 1990.

BURNS, E. L.; TEAL, P. E. A. Response of male potato stem borer moths, *Hydraecia micacea* (Esper) to conspecific females and synthetic pheromone blends in the laboratory and field. **J Chem Ecol**, v. 15, n. 4, p. 1365-1378, 1989.

CALATAYUD, P. A. et al. Sexual dimorphism of antennal, tarsal and ovipositor chemosensilla in the African stemborer, *Busseola fusca* (Fuller) (Lepidoptera : Noctuidae). **Ann Soc Entomol Fr**, v. 42, n. 3-4, p. 403-412, 2006.

CANAOESTE. Pragas da cana. São Paulo, 2013. Disponível em: <  
<http://www.canaoeste.com.br/conteudo/pragas-na-cana> >. Acesso em: 28 dez. 2014.

CASTREJON-GOMEZ, V. R. et al. Morphology and distribution of the sense organs on the antennae of *Copitarsia consueta* (Lepidoptera : Noctuidae). **Fla Entomol**, v. 82, n. 4, p. 546-555, 1999.

CENTRO-DE-TECNOLOGIA-CANAVIEIRA. **Pragas e Doenças da cana-de-açúcar "Roguing"**. Centro de Tecnologia Canavieira. (CTC): 55 p. 2013. Disponível em: <  
<http://www.ctcanavieira.com.br/> >. Acesso em: 30 dez. 2014.

CIBRIANTOVAR, J.; MITCHELL, E. R. Courtship Behavior of *Heliothis-Subflexa* (Gn) (Lepidoptera, Noctuidae) and Associated Backcross Insects Obtained from Hybridization with *H-Virescens* (F). **Environ Entomol**, v. 20, n. 2, p. 419-426, 1991.

COCCO, A.; DELIPERI, S.; DELRIO, G. Control of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) in greenhouse tomato crops using the mating disruption technique. **J Appl Entomol**, v. 137, n. 1-2, p. 16-28, 2012.

COMPANHIA-NACIONAL-DE-ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileira : cana-de-açúcar, terceiro levantamento**. (CONAB). Brasília: 32 p. 2014. Disponível em: <  
[http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253&&Pagina\\_objcmsconteudos=1#A\\_objcmsconteudos](http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253&&Pagina_objcmsconteudos=1#A_objcmsconteudos) >. Acesso em: 29 dez. 2014.

CHAPMAN, R. F. **The Insects Structure and Function**. 4th. New York: Cambridge University Press, 2009. p.

CHAVEZ, M. S.; PARRA, A. B.-D. L.; GOMEZ-GOMEZ, I. **Mutant bacillus thuringiensis CRY genes and methods of use**. Google patent. Mexico 2014. Disponível em: <  
<http://www.google.je/patents/CN103748228A?cl=en> >. Acesso em: 29 dez. 2014.

DARIO, G. J. A. et al. **Ocorrência das brocas gigante (*Castia licus drury*) e peluda (*Hyponeuma taltula schaus, 1904*) em canaviais do nordeste e o controle com o inseticida tiametoxam + clorantraniliprole**. Campo Verde. 2014.

DENOTTER, C. J. et al. Palmitic Acid as a Component of the Male-to-Male Inhibitory Pheromone of the Summerfruit Tortrix Moth, *Adoxophyes-Orana*. **Entomologia Experimentalis Et Applicata**, v. 52, n. 3, p. 291-294, 1989.

DERBY, C. D.; STEULLET, P. Why do animals have so many receptors? The role of multiple chemosensors in animal perception. **The Biological bulletin**, v. 200, n. 2, p. 211-215, 2001.

DESCOINS, C. et al. Comparative-Study of Pheromonal Secretions Produced by Arctiid and Ctenuchid Female Moths (Insects, Lepidoptera) from the Neotropical Area. **Cr Acad Sci Iii-Vie**, v. 309, n. 13, p. 577-581, 1989.

DESCOINS, C. et al. Chemical-Analysis of the Pheromone Blends Produced by Males and Females of the Neotropical Moth, *Mocis-Megas* (Guenee) (Lepidoptera, Noctuidae, Catocalinae). **Experientia**, v. 46, n. 5, p. 536-539, 1990.

DIAZ-GOMEZ, O. et al. Pheromone trap for monitoring *Copitarsia decolora* (Lepidoptera: Noctuidae) activity in cruciferous crops in Mexico. **Fla Entomol**, v. 95, n. 3, p. 602-609, 2012.

DIONGUE, A.; YANG, J. T.; LAI, P. Y. Biomorphometric characteristics of different types of sensilla detected on the antenna of *Helicoverpa armigera* by scanning electron microscopy. **J Asia-Pac Entomol**, v. 16, n. 1, p. 23-28, 2013.

DOWNING, K. J.; LESLIE, G.; THOMSON, J. A. Biocontrol of the sugarcane borer *Eldana saccharina* by expression of the *Bacillus thuringiensis cry1Ac7* and *Serratia marcescens chiA* genes in sugarcane-associated bacteria. **Appl Environ Microb**, v. 66, n. 7, p. 2804-2810, 2000.

EL-SAYED, A. M. **The pherobase**. Database of pheromones and semiochemicals 2014. Disponível em: < <http://www.pherobase.com/> >. Acesso em: 29 dez. 2014.

EXOSECT<sup>(R)</sup>. Exosect's Enabling Technologies. 2014. Disponível em: < <https://www.exosect.com/default.aspx> >. Acesso em: 2 jan. 2015.

FALCO, M. C. et al. Mechanisms of sugarcane response to herbivory. **Genetics and Molecular Biology**, v. 24, p. 113-122, 2001.

FAUCHEUX, M. J. Antennal sensilla in adult males of five species of *Coleophora* sp. (Lepidoptera: Coleophoridae). Considerations on their structure and function. **Nota lepidopterologica**, v. 34, n. 1, p. 61-69, 2011.

FAUCHEUX, M. J. Antennal sensilla of male *Lophocorona pediasia* Common 1973 and their phylogenetic implications (Lepidoptera : Lophocoronidae). **Ann Soc Entomol Fr**, v. 42, n. 1, p. 113-118, 2006.

FELIX, A. E. et al. Sex pheromone composition and reproductive isolation in two *Busseola* species (Lepidoptera: Noctuidae) in Kenya. **Chemoecology**, v. 21, n. 2, p. 107-111, 2011.

FITZPATRICK, S. M.; MCNEIL, J. N.; MILLER, D. Age-Specific Titer and Antennal Perception of Acetic-Acid, a Component of Male *Pseudaletia-Unipuncta* (Haw) (Lepidoptera, Noctuidae) Hairpencil Secretion. **J Chem Ecol**, v. 15, n. 2, p. 641-648, 1989.

FOOD-AND-AGRICULTURE-ORGANIZATION. **AGP Integrated Pest Management.**

**IPM definition.** (FAO) 2013. Disponível em: <

<http://www.fao.org/agriculture/crops/thematic-sitemap/theme/pests/ipm/en/> >. Acesso em: 31 dez. 2014.

FRANK, D.; LESKEY, T.; BERGH, J. Morphological characterization of antennal sensilla of the Dogwood Borer (Lepidoptera: Sesiidae). **Ann Entomol Soc Am**, v. 103, n. 6, p. 993-1002, 2010.

FREITAS, M. R. T. et al. The biology of *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae) reared under laboratory conditions. **The Florida Entomologist**, v. 90, p. 309 - 313, 2007.

FREROT, B. et al. Courtship behaviour of the African maize stem borer: *Busseola fusca* (Fuller) (Lepidoptera : Noctuidae) under laboratory conditions. **Ann Soc Entomol Fr**, v. 42, n. 3-4, p. 413-416, 2006.

FUJII, T. et al. Female sex pheromone of a lichen moth *Eilema japonica* (Arctiidae, Lithosiinae) Components and control of production. **J Insect Physiol**, v. 56, n. 12, p. 1986-1991, 2010.

GALLO, D. et al. **Entomologia agrícola**. FEALQ. Piracicaba: 2002. 920 p.

GIBB, A. R. et al. Identification of sex pheromone components of a New Zealand geometrid moth, the common forest looper *Pseudocoremia suavis*, reveals a possible species complex. **J Chem Ecol**, v. 32, n. 4, p. 865-879, 2006.

GIRARD, B. Retention index calculation using Kováts constant model for linear temperature-programmed gas chromatography. **J Chromatogr A**, v. 721, n. 2, p. 279-288, 1996.

GIROTTI, J. R.; MIJAILOVSKY, S. J.; JUÁREZ, M. P. Epicuticular hydrocarbons of the sugarcane borer *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Physiol Entomol**, v. 37, n. 3, p. 266-277, 2012.

GOMEZ, V. R. C. et al. The antennal sensilla of *Zamagiria dixolophella* Dyar (Lepidoptera : Pyralidae). **Ann Entomol Soc Am**, v. 96, n. 5, p. 672-678, 2003.

GRANT, G. G. et al. Copulation Releaser Pheromone in Body Scales of Female Whitemarked Tussock Moth, *Orgyia-Leucostigma* (Lepidoptera, Lymantriidae) - Identification and Behavioral Role. **J Chem Ecol**, v. 13, n. 2, p. 345-356, 1987.

GRAVENA, S. Controle Biológico no Manejo Integrado de Pragas. **Pesq. agropec. bras**, v. 27, p. 281-299, 1992.

GREENFIELD, M. D. Moth sex pheromones: an evolutionary perspective. **Fla Entomol**, p. 4-17, 1981.

GUAGLIUMI, P. Situação das cigarrinhas e das brocas nos canaviais do estado de Santa Catarina e descobrimento de uma nova praga da cana [*Saccharum* spp, Brasil]. **Brasil Acucareiro**, v. 81, n. 3, p. 10-13, 1973.

- GUERRERO, A. et al. Semiochemical and natural product-based approaches to control *Spodoptera* spp. (Lepidoptera: Noctuidae). **J Pest Sci**, v. 87, n. 2, p. 231-247, 2014.
- HANSSON, B. Olfaction in lepidoptera. **Experientia**, v. 51, n. 11, p. 1003-1027, 1995.
- HAYNES, K. F. et al. Identification of sex pheromone of *Tetanolita mynesalis* (Lepidoptera: Noctuidae), a prey species of bolas spider, *Mastophora hutchinsoni*. **J Chem Ecol**, v. 22, n. 1, p. 75-89, 1996.
- HEATH, R. R. et al. Identification of Male Cabbage-Looper Sex-Pheromone Attractive to Females. **J Chem Ecol**, v. 18, n. 3, p. 441-453, 1992.
- HEATH, R. R. et al. Identification of a Male-Produced Pheromone of *Anticarsia Gemmatalis* (Hubner) (Lepidoptera, Noctuidae) Attractive to Conspecific Males. **J Chem Ecol**, v. 14, n. 4, p. 1121-1130, 1988.
- HERNANDEZ-ROLDAN, J. L. et al. Morphological and chemical analysis of male scent organs in the butterfly genus *Pyrgus* (Lepidoptera: Hesperidae). **Org Divers Evol**, v. 14, n. 3, p. 269-278, 2014.
- HILLIER, N. K.; KELLY, D.; VICKERS, N. J. A specific male olfactory sensillum detects behaviorally antagonistic hairpencil odorants. **Journal of Insect Science**, v. 7, 2007.
- HILLIER, N. K.; KLEINEIDAM, C.; VICKERS, N. J. Physiology and glomerular projections of olfactory receptor neurons on the antenna of female *Heliothis virescens* (Lepidoptera : Noctuidae) responsive to behaviorally relevant odors. **J Comp Physiol A**, v. 192, n. 2, p. 199-219, 2006.
- HILLIER, N. K.; VICKERS, N. J. Hairpencil Volatiles Influence Interspecific Courtship and Mating Between Two Related Moth Species. **J Chem Ecol**, v. 37, n. 10, p. 1127-1136, 2011.
- HILLIER, N. K.; VICKERS, N. J. The role of heliothine hairpencil compounds in female *Heliothis virescens* (Lepidoptera : Noctuidae) behavior and mate acceptance. **Chem Senses**, v. 29, n. 6, p. 499-511, 2004.
- HOU, M. L.; SHENG, C. F. Calling behaviour of adult female *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lep., Noctuidae) of overwintering generation and effects of mating. **J Appl Entomol**, v. 124, n. 2, p. 71-75, 2000.
- JACQUIN, E.; NAGNAN, P.; FREROT, B. Identification of Hairpencil Secretion from Male *Mamestra-Brassicae* (L) (Lepidoptera, Noctuidae) and Electroantennogram Studies. **J Chem Ecol**, v. 17, n. 1, p. 239-246, 1991.
- JEFFERSON, R. N. et al. Sex Pheromones of Noctuid Moths. Xxii. the External Morphology of the Antennae of *Trichoplusia ni*, *Heliothis zea*, *Prodenia ornithogalli*, and *Spodoptera exigua*. **Ann Entomol Soc Am**, v. 63, n. 5, p. 1227-1238, 1970.
- JURENKA, R. Insect pheromone biosynthesis. **Top Curr Chem**, v. 239, p. 97-131, 2004.

JYOTHI, K. N.; PRASUNA, A. L.; PRASAD, A. R. Evidence for presence of female produced pheromone components in male scent brush extract of castor semi-looper moth *Achaea janata* L. **Indian journal of experimental biology**, v. 43, n. 4, p. 335-341, 2005.

JYOTHI, K. N. et al. Development of indigenous pheromone technology for monitoring of spotted bollworm, *Earias vittella* fab (Lepidoptera Noctuidae) on cotton. **J. Agri. Tech.**, v. 10, n. 1, p. 197-207, 2014.

KAISSLING, K.-E. Insect Olfaction. In: BEIDLER, L. (Ed.). **Olfaction**: Springer Berlin Heidelberg, 1971. v.4 / 1 cap. 14, p.351-431.

KALINOVA, B. et al. Identification of two components of the female sex pheromone of the sugarcane-borer *Diatraea flavipennella* (Lepidoptera: Crambidae). **J Appl Entomol**, v. 136, n. 3, p. 203-211, 2012.

KALINOVÁ, B. et al. (11Z)-hexadec-11-enal enhances the attractiveness of *Diatraea saccharalis* main pheromone component in wind tunnel experiments. **J Appl Entomol**, v. 129, n. 2, p. 70-74, 2005.

KEIL, T. A. Functional morphology of insect mechanoreceptors. **Microsc Res Tech**, v. 39, n. 6, p. 506-531, 1997.

KRASNOFF, S. B.; ROELOFS, W. L. Evolutionary trends in the male pheromone systems of arctiid moths: evidence from studies of courtship in *Phragmatobia fuliginosa* and *Pyrrharctia isabella* (Lepidoptera: Arctiidae). **Zool J Linn Soc**, v. 99, n. 4, p. 319-338, 1990.

KRISHNAKUMARI, B. et al. Behavioural and electrophysiological responses of *Achaea janata* Linn. (Lepidoptera: Noctuidae) males to synthetic female-produced sex pheromone components. **J. Entomol. Res.**, v. 22, p. 197-202, 1998.

LALEL, H. J. D.; SINGH, Z.; TAN, S. C. Glycosidically-bound aroma volatile compounds in the skin and pulp of 'Kensington Pride' mango fruit at different stages of maturity. **Postharvest Biology and Technology**, v. 29, n. 2, p. 205-218, 2003.

LANDOLT, P. J.; HEATH, R. R. Lure Composition, Component Ratio, and Dose for Trapping Male *Mocis-Latipes* (Lepidoptera, Noctuidae) with Synthetic Sex-Pheromone. **J Econ Entomol**, v. 82, n. 1, p. 307-309, 1989.

LANDOLT, P. J.; HEATH, R. R.; LEPPLA, N. C. (Z,Z,Z)-3,6,9-Eicosatriene and (Z,Z,Z)-3,6,9-Heneicosatriene as Sex-Pheromone Components of a Grass Looper, *Mocis-Disseverans* (Lepidoptera, Noctuidae). **Environ Entomol**, v. 15, n. 6, p. 1272-1274, 1986.

LANDOLT, P. J. et al. Attraction of moths (Lepidoptera: Arctiidae, Geometridae, Noctuidae) to enantiomers of several epoxydienes. **Fla Entomol**, v. 79, n. 3, p. 392-397, 1996.

LAUGHLIN, J. D. et al. Activation of pheromone-sensitive neurons is mediated by conformational activation of pheromone-binding protein. **Cell**, v. 133, n. 7, p. 1255-1265, 2008.

- LAVOIEDORNIK, J.; MCNEIL, J. N. Sensilla of the Antennal Flagellum in *Pseudaletia Unipuncta* (Haw) (Lepidoptera, Noctuidae). **Int J Insect Morphol**, v. 16, n. 2, p. 153-167, 1987.
- LEAL, W. S. Pheromone reception. **Chemistry of Pheromones and Other Semiochemicals II**, v. 240, p. 1-36, 2005.
- LEAL, W. S. et al. Female Sex-Pheromone of the Longhorn Beetle *Migdolus-Fryanus* Westwood - N-(2's)-Methylbutanoyl 2-Methylbutylamine. **Experientia**, v. 50, n. 9, p. 853-856, 1994.
- LEBEDEVA, K. et al. Identification of pheromone of the greater wax moth *Galleria mellonella* from the different regions of Russia. **IOBC-WPRS Bulletin**, v. 259, p. 229-231, 2002.
- LECOMTE, C. et al. Transfer, perception, and activity of male pheromone of *Acrolepiopsis assectella* with special reference to conspecific male sexual inhibition. **J Chem Ecol**, v. 24, n. 4, p. 655-671, 1998.
- LEPPLA, N. C. et al. Laboratory Studies of the Courtship of the Velvetbean Caterpillar Moth, *Anticarsia-Gemmatalis* (Hubner) (Lepidoptera, Noctuidae). **Ann Entomol Soc Am**, v. 80, n. 2, p. 278-283, 1987.
- LESLIE, G. Pests of Sugarcane. In: JAMES, G. (Ed.). **Sugarcane**: Blackwell Publishing Ltd, 2007. p.78-100.
- LJUNGBERG, H.; ANDERSON, P.; HANSSON, B. S. Physiology and Morphology of Pheromone-Specific Sensilla on the Antennae of Male and Female *Spodoptera-Littoralis* (Lepidoptera, Noctuidae). **J Insect Physiol**, v. 39, n. 3, p. 253-260, 1993.
- LONG, W. H.; HENSLEY, S. D. Insect Pests of Sugar Cane. **Annu Rev Entomol**, v. 17, p. 149-176, 1972.
- LÓPEZ, C.; EIZAGUIRRE, M.; ALBAJES, R. Courtship and mating behaviour of the Mediterranean corn borer, *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae). **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 1, n. 1, p. 43-51, 2003.
- MACEDO, D. **BROCA PELUDA *Hyponeuma taltula***. ASSOCANA. Maracaju, MG 2005.
- MACEDO, D.; MACEDO, N. Aspectos da Biologia de *Hyponeuma Taltula* (Lepidoptera: Noctuidae) em Laboratório. **STAB tecnologia e pesquisa**, v. 25, n. 4, p. 44-46, 2007.
- MALO, E. A. et al. Antennal sensilla and electrophysiological response of male and female *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera : Noctuidae) to conspecific sex pheromone and plant odors. **Ann Entomol Soc Am**, v. 97, n. 6, p. 1273-1284, 2004.
- MERRILL, S. C. et al. Spatial Variability of Western Bean Cutworm (Lepidoptera: Noctuidae) Pheromone Trap Captures in Sprinkler Irrigated Corn in Eastern Colorado. **Environ Entomol**, v. 40, n. 3, p. 654-660, 2011.

MILLAR, J. G. Polyene hydrocarbons and epoxides: A second major class of lepidopteran sex attractant pheromones. **Annu Rev Entomol**, v. 45, p. 575-604, 2000.

MILLAR, J. G. et al. Chiral Lepidopteran Sex Attractants - Blends of Optically-Active C20 and C21 Diene Epoxides as Sex Attractants for Geometrid and Noctuid Moths (Lepidoptera). **Environ Entomol**, v. 20, n. 2, p. 450-457, 1991a.

MILLAR, J. G. et al. Synthesis and Field Screening of Chiral Monounsaturated Epoxides as Lepidopteran Sex Attractants and Sex-Pheromone Components. **J Chem Ecol**, v. 17, n. 5, p. 911-929, 1991b.

MILLAR, J. G. et al. Sex Attractants and Sex-Pheromone Components of Noctuid Moths *Euclidea-Cuspidea*, *Caenurgina-Distincta*, and Geometrid Moth *Eupithecia-Annulata*. **J Chem Ecol**, v. 17, n. 11, p. 2095-2111, 1991c.

MINYAILO, V. A. et al. On the attractiveness of disparlure, the sex pheromone of the gipsy moth *Porthetria dispar* (Lepidoptera, Orgyidae) for males of *Zanclognatha lunaris* (Lepidoptera, Noctuidae). **Zoologicheskii Zhurnal**, v. 56, n. 2, p. 309-310, 1977.

MITCHELL, A.; MITTER, C.; REGIER, J. C. Systematics and evolution of the cutworm moths (Lepidoptera : Noctuidae): evidence from two protein-coding nuclear genes. **Syst Entomol**, v. 31, n. 1, p. 21-46, 2006.

MONTES, D. A. N. **Manejo Integrado de Plagas**. University of Kentucky College of Agriculture. El Salvador 2000. Disponível em: < <http://www2.ca.uky.edu/agcomm/> >. Acesso em: 30 dez. 2014.

MORAES, G. C.; ÁVILA, C. J. **Insetos-praga associados ao solo na cultura da cana-de-açúcar, no Estado de Mato Grosso do Sul**. Embrapa Agropecuária Oeste. Dourados, MS: 37 p. 2014.

MORI, K. Significance of chirality in pheromone science. **Bioorgan Med Chem**, v. 15, n. 24, p. 7505-7523, 2007.

MORITZ, R. F. A.; KIRCHNER, W. H.; CREWE, R. M. Chemical Camouflage of the Deaths Head Hawkmoth (*Acherontia-Atropos L*) in Honeybee Colonies. **Naturwissenschaften**, v. 78, n. 4, p. 179-182, 1991.

MOTO, K. et al. Pheromone gland-specific fatty-acyl reductase of the silkworm, *Bombyx mori*. **P Natl Acad Sci USA**, v. 100, n. 16, p. 9156-9161, 2003.

NAGAYAMA, A. et al. Emergence and mating behavior of the pink borer, *Sesamia inferens* (Walker) (Lepidoptera : Noctuidae). **Appl Entomol Zool**, v. 39, n. 4, p. 625-629, 2004.

NATURALEZA-CURIOSA. **Plantas carnívoras, así es como se alimentan**. (NC) 2013. Disponível em: < <http://www.naturalezacuriosa.com/plantas-carnivoras-asi-es-como-se-alimentan-video/> >. Acesso em: 2 jan. 2014.

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, p. 32-36, 2002.

NEMOTO, T.; KUWAHARA, Y.; SUZUKI, T. Isolation and Identification of Male Sex-Pheromone Present in the Wing Gland of *Achroia-Innotata-Obsoletivittella* Ragonot (Lepidoptera, Pyralidae). **Appl Entomol Zool**, v. 25, n. 2, p. 261-264, 1990.

NI, X. Z. et al. Integrated pest management is the lucrative bridge connecting the ever emerging knowledge islands of genetics and ecology PREFACE. **Insect Science**, v. 21, n. 5, p. 537-540, 2014.

OHMASA, Y. et al. Sex-Pheromone of the Fruit-Piercing Moth, *Oraesia-Excavata* (Butler) (Lepidoptera, Noctuidae) - Isolation and Identification. **Appl Entomol Zool**, v. 26, n. 1, p. 55-62, 1991.

OMURA, H.; HONDA, K. Chemical composition of volatile substances from adults of the swallowtail, *Papilio polytes* (Lepidoptera: Papilionidae). **Appl Entomol Zool**, v. 40, n. 3, p. 421-427, 2005.

PAROLIN, P. et al. Introducing the term 'Biocontrol Plants' for integrated pest management. **Sci Agr**, v. 71, n. 1, p. 77-80, 2014.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; PINTO, A. S. Biological control of pests as a key component for sustainable sugarcane production. **Sugarcane bioethanol R&D for Productivity and Sustainability**, p. 441-450, 2010.

PEASE, G.; STORM, C. G. **Efficacy of pheromone-based control system, Exosex™ SPTab, against moth pests in European food processing facilities**. Proceedings of the 10th international working conference on stored-product protection: Estoril: 183–189 p. 2010.

PHELAN, P. L. et al. Chemical-Identification and Behavioral Characterization of Male Wing Pheromone of *Ephestia-Elutella* (Pyralidae). **J Chem Ecol**, v. 12, n. 1, p. 135-146, 1986.

PICANÇO, M. C. **Manejo Integrado de Pragas**. Universidade Federal De Viçosa, Viçosa, MG: 146 p. 2010.

PINO, J. A. et al. Volatile components from Mango (*Mangifera indica* L.) cultivars. **J Agr Food Chem**, v. 53, n. 6, p. 2213-2223, 2005.

POOLE, R. W. Noctuidae. Part 3. In: HEPPNER, J. B. (Ed.). **Lepidopterorum Catalogus (New Series)**. New York: Backhuys Publishers, 1989. v.118 p.1015-1314.

POPHOF, B. Olfactory responses recorded from sensilla coeloconica of the silkmoth *Bombyx mori*. **Physiol Entomol**, v. 22, n. 3, p. 239-248, 1997.

POWELL, J. A. Lepidoptera: Moths, Butterflies. In: CARDÉ, V. H. R. T. (Ed.). **Encyclopedia of Insects 2ª**. San Diego: Academic Press, 2009. cap. 151 p.559-587.

- PRAÇA, L. B. **Anthonomus grandis Boheman, 1843 (Coleoptera:Curculionidae)**. Brasília, DFF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia: 23 p. 2007. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/documents> >. Acesso em: 31 dez. 2014.
- QIAN, M.; REINECCIUS, G. Potent aroma compounds in Parmigiano Reggiano cheese studied using a dynamic headspace (purge-trap) method. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 18, n. 3, p. 252-259, 2003.
- REBOUÇAS, L. M. C. et al. Composição química da glândula abdominal da fêmea da mariposa *Castnia licus* (Drury) (Lepidoptera:Castniidae): possíveis feromônios e precursores. **Química Nova**, v. 22, p. 645-648, 1999.
- RENOU, M. et al. Electroantennographic Analysis of Sex-Pheromone Specificity in Neotropical Catocalinae (Lepidoptera, Noctuidae) - a Multivariate Approach. **J Insect Physiol**, v. 34, n. 6, p. 481-488, 1988a.
- RENOU, M. et al. Multivariate-Analysis of the Correlation between Noctuidae Subfamilies and the Chemical-Structure of Their Sex-Pheromones or Male Attractants. **J Chem Ecol**, v. 14, n. 4, p. 1187-1215, 1988b.
- REPSOLD, C. A.; PEIXOTO, S. M. **A cultura da cana-de-açúcar**. Programa de Capacitação para Agricultura irrigada no norte fluminense. SERSE, M. D. I. e DNOS-IICA. Campos, RJ. 39: 62 p. 1984.
- RODRIGUES, A. D.; PINTO, A. D. S.; SEGATO, S. V. Controle Químico E Biológico Da Broca-Peluda, *Hyponeuma* sp. (Lepidoptera: Noctuidae), na Cana-De-Açúcar. **Nucleus**, v. 9, n. 1, p. 283-290, 2012.
- RODRÍGUEZ, L. C.; NIEMEYER, H. M. Integrated pest management, semiochemicals and microbial pest-control agents in Latin American agriculture. **Crop Prot**, v. 24, n. 7, p. 615-623, 2005.
- SAVARY, S. et al. Quantification and modeling of crop losses: a review of purposes. **Annurev. Phyto.**, v. 44, n. 0066-4286 p. 89-112, 2006.
- SCHAUS, W. Descriptions of new South American moths. **Proceedings of the United States National Museum Smithsonian Institution Washington**, v. 30, p. 85-141, 1906.
- SCHNEIDER, D. Elektrophysiologische Untersuchungen von Chemo- und Mechanorezeptoren der Antenne des Seidenspinners *Bombyx mori* L. **Z. Vergl. Physiol.**, v. 40, n. 1, p. 8-41, 1957.
- SCHNEIDER, D. Insect antennae. **Annu Rev Entomol**, v. 9, n. 1, p. 103-122, 1964.
- SCHNEIDER, D.; LACHER, V.; KAISLING, K.-E. Die Reaktionsweise und das Reaktionsspektrum von Riechzellen bei *Antheraea pernyi* (Lepidoptera, Saturniidae). **Z. Vergl. Physiol.**, v. 48, n. 6, p. 632-662, 1964.

SCHNEIDER, D. et al. Pheromones and Glandular Structures of Both Sexes of the Weed-Defoliator Moth *Pareuchaetes-Pseudoinsulata* Rego Barros (Lep, Arctiidae). **J Appl Entomol**, v. 113, n. 3, p. 280-294, 1992.

SCHULZ, S. Insect-Plant Interactions – Metabolism of Plant Compounds to Pheromones and Allomones by Lepidoptera and Leaf Beetles. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 1998, n. 1, p. 13-20, 1998.

SCHULZ, S.; BOPPRE, M.; VANEWRIGHT, R. I. Specific Mixtures of Secretions from Male Scent Organs of African Milkweed Butterflies (Danainae). **Philos T Roy Soc B**, v. 342, n. 1300, p. 161-181, 1993.

SCHULZ, S. et al. An antiaphrodisiac in *Heliconius melpomene* butterflies. **J Chem Ecol**, v. 34, n. 1, p. 82-93, 2008.

SHANI, A. Chemical communication agents (pheromones) in integrated pest management. **Drug Dev. Res.**, v. 50, n. 3-4, p. 400-405, 2000.

SILVA, E. L. **Ecologia Química das pragas das anonáceas, *Bephratelloides pomorum* Fab. (Hymenoptera: Eurytomidae) e *Cerconota Anonella* Sepp. (Lepidoptera: Oecophoridae) e da cana-de-açúcar, *Diatreasaccaralis* Fab. (Lepidoptera: Cambridae) com seus Hospedeiros.** 2004. 155 (Doutorado em Química e Biotecnologia- Ecologia química). Departamento de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió-Al.

SILVA, F. d. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. **A New Version of The Assistat-Statistical Assistance Software.** In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE. Orlando-FL-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers: 393-396 p. 2006.

SILVA, R. F. D. **Estudo comportamental em relação a compostos extraídos do abdômen de fêmeas virgens de *Hyponeuma taltula*** 2012. (Bacharelado em Química). Instituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, MACEIÓ-AL.

SOJÁK, L. Separation and identification of isomeric Hydrocarbons by capillary gas chromatography And hyphenated spectrometric techniques. **Petroleum & Coal**, v. 46, n. 3, p. 1-35, 2004.

STEINBRECHT, R. Der Feinbau olfaktorischer Sensillen des Seidenspinners (Insecta, Lepidoptera). **Z.Zellforsch**, v. 139, n. 4, p. 533-565, 1973.

SUCKLING, D. M. et al. From integrated pest management to integrated pest eradication: technologies and future needs. **Pest Manag Sci**, v. 70, n. 2, p. 179-189, 2014.

SUPRASANNA, P. et al. Biotechnological Developments in Sugarcane Improvement: An Overview. **Sugar Tech**, v. 13, n. 4, p. 322-335, 2011.

SVATOS, A. et al. Chemical characterization and synthesis of the major component of the sex pheromone of the sugarcane borer *Diatraea saccharalis*. **Collect Czech Chem C**, v. 66, n. 11, p. 1682-1690, 2001.

SVENSSON, G. P. et al. Identification, Synthesis, and Behavioral Activity of 5,11-Dimethylpentacosane, A Novel Sex Pheromone Component of the Greater Wax Moth, *Galleria Mellonella* (L.). **J Chem Ecol**, v. 40, n. 4, p. 387-395, 2014.

SZOCS, G. et al. Species discrimination in five species of winter-flying geometrids (Lepidoptera) based on chirality of semiochemicals and flight season. **J Chem Ecol**, v. 19, n. 11, p. 2721-2735, 1993.

TAKACS, S.; GRIES, G.; GRIES, R. Communication ecology of webbing clothes moth: 4. Identification of male- and female-produced pheromones. **Chemoecology**, v. 11, n. 4, p. 153-159, 2001.

TAMAKI, Y. et al. Insect attractants for *Aedia leucomelas*. **Jap. Kokai Tokkyo Koho**, v. 96, p. 295-602, 1996.

TEAL, P. E. A.; TUMLINSON, J. H. Isolation, Identification, and Biosynthesis of Compounds Produced by Male Hairpencil Glands of *Heliothis-Virescens* (F) (Lepidoptera, Noctuidae). **J Chem Ecol**, v. 15, n. 1, p. 413-427, 1989.

TREMATERRA, P. Advances in the use of pheromones for stored-product protection. **J Pest Sci**, v. 85, n. 3, p. 285-299, 2012.

TREMATERRA, P. Aspects related to decision support tools and Integrated Pest Management in food chains. **Food Control**, v. 34, n. 2, p. 733-742, 2013.

TREMATERRA, P.; GENTILE, P. Five years of mass trapping of *Ephestia kuehniella* Zeller: a component of IPM in a flour mill. **J Appl Entomol**, v. 134, n. 2, p. 149-156, 2010.

TRONA, F. et al. Mating disruption of codling moth with a continuous adhesive tape carrying high densities of pheromone dispensers. **B Insectol**, v. 62, n. 1, p. 7-13, 2009.

UNDERHILL, E. W. et al. Triunsaturated Hydrocarbons, Sex-Pheromone Components of *Caenurgina-Erechtea* (Lepidoptera, Noctuidae). **J Chem Ecol**, v. 9, n. 10, p. 1413-1423, 1983.

VAN HAI, T. et al. Sex attractants for moths of Vietnam: Field attraction by synthetic lures baited with known lepidopteran pheromones. **J Chem Ecol**, v. 28, n. 7, p. 1473-1481, 2002.

VÁSQUEZ, G. M. et al. Specificity of the receptor for the major sex pheromone component in *Heliothis virescens*. **Journal of Insect Science**, v. 13, 2013.

VILELA, E. F.; DELLA LUCIA, T. M. C. Introdução aos semioquímicos e terminologia. In: HOLOS (Ed.). **Feromônios de insetos, biologia, química e emprego no manejo de pragas**. 2a. Ed. Ribeirão Preto, 2001. cap. 1, p.9-12.

WAKAMURA, S. et al. Identification of novel sex pheromone components from a tussock moth, *Euproctis pulverea*. **Entomologia Experimentalis Et Applicata**, v. 100, n. 1, p. 109-117, 2001.

- WALKER, P. W. et al. Identification, Synthesis and Field Testing of (3Z,6Z,9Z)-3,6,9-Henicosatriene, a Second Bioactive Component of the Sex Pheromone of the Autumn Gum Moth, *Mnesampela privata*. **J Chem Ecol**, v. 35, n. 12, p. 1411-1422, 2009.
- WEI, W. et al. Polyunsaturated hydrocarbons in the hemolymph: biosynthetic precursors of epoxy pheromones of geometrid and arctiid moths. **Insect Biochem Molec**, v. 33, n. 4, p. 397-405, 2003.
- WONG, J. W. et al. Sex Attractants for Geometrid and Noctuid Moths - Field Trapping and Electroantennographic Responses to Triene Hydrocarbons and Monoepoxydiene Derivatives. **J Chem Ecol**, v. 11, n. 6, p. 727-756, 1985.
- XIANGQUN, Y. et al. Ultrastructure of antennal sensilla of four skipper butterflies in *Parnara* sp. and *Pelopidas* sp. (Lepidoptera, Hesperidae). **ZooKeys**, n. 399, p. 17-27, 2014.
- ХРОНОТОН. **Самые трудолюбивые животные на планете**. Rusia 2013. Disponível em: < <http://www.chronoton.ru/nature/trudolubivye-zivotnye> >. Acesso em: 2 jan. 2015.
- YAMAKAWA, R. et al. Female Sex Pheromone of *Cystidia couaggaria couaggaria* (Lepidoptera: Geometridae): Identification and Field Attraction. **Biosci Biotech Bioch**, v. 76, n. 7, p. 1303-1307, 2012.
- ZAHIRI, R. et al. Molecular phylogenetics of Erebidae (Lepidoptera, Noctuoidea). **Syst Entomol**, v. 37, n. 1, p. 102-124, 2012.
- ZARBIN, P. H. G. et al. Identification of male-specific chiral compound from the sugarcane weevil *Sphenophorus levis*. **J Chem Ecol**, v. 29, n. 2, p. 377-386, 2003.
- 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, p. 722-731, 2009.
- ZENKER, M. M. et al. Caracterização morfológica dos imaturos de *Hyponeuma taltula*(Schaus) (Lepidoptera, Noctuidae, Herminiinae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 24, n. 4, p. 1101-1107, 2007.
- ZHANG, S.; MAIDA, R.; STEINBRECHT, R. A. Immunolocalization of odorant-binding proteins in noctuid moths (Insecta, Lepidoptera). **Chem Senses**, v. 26, n. 7, p. 885-896, 2001.
- ZHENG, H. X. et al. Scanning electron microscopy study of the antennal sensilla of *Catocala remissa*. **B Insectol**, v. 67, n. 1, p. 63-71, 2014.