



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS – UFAL
REDE NORDESTE DE BIOTECNOLOGIA - RENORBIO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**



KELLY BARBOSA DA SILVA

**SEMIOQUÍMICOS ENVOLVIDOS NA INTERAÇÃO INTRAESPECÍFICA DE
EUPALAMIDES CYPARISSIAS (FABRICIUS) (LEPIDOPTERA: CASTNIIDAE) E
AUTOMERIS LIBERIA (CRAMER) (LEPIDOPTERA: SATURNIIDAE) PRAGAS DE
ARECACEAE**

**MACEIÓ-AL
2019**

KELLY BARBOSA DA SILVA

**SEMIOQUÍMICOS ENVOLVIDOS NA INTERAÇÃO INTRAESPECÍFICA DE
EUPALAMIDES CYPARISSIAS (FABRICIUS) (LEPIDOPTERA: CASTNIIDAE) E
AUTOMERIS LIBERIA (CRAMER) (LEPIDOPTERA: SATURNIIDAE) PRAGAS DE
ARECACEAE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação da Rede Nordeste em Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, como requisito para obtenção do título de Doutor (a) em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Santana

Co-Orientador: Prof. Dr. Henrique Fonseca Goulart

MACEIÓ-AL
2019

Catálogo na fonte
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale – CRB4 - 661

S586s Silva, Kelly Barbosa da.
Semioquímicos envolvidos na interação intraespecífica de *Eupalamides cyparissias* (Fabricius) (Lepidoptera: Castniidae) e *Automeris liberia* (Cramer) (Lepidoptera: Saturniidae) pragas de Arecaceae / Kelly Barbosa da Silva. – 2019.
181 f. : il. Color.

Orientador: Antônio Euzébio Goulart Santana.

Coorientador: Henrique Fonseca Goulart.

Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. RENORBIO. Maceió, 2019.

Inclui bibliografias.

1. Ecologia química. 2. Semioquímicos. 3. Lepidoptera. 4. Sensila. 5. Controle de pragas. I. Título.

CDU: 542.913:577.19

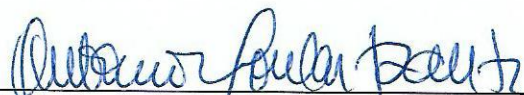
KELLY BARBOSA DA SILVA

Semioquímicos envolvidos na interação intraespecífica de *Eupalamides cyparissias* (Fabricius) (Lepidoptera: Castniidae) e *Automeris liberia* (Cramer) (Lepidoptera: Saturniidae), pragas de Arecaceae

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia – RENORBIO, Ponto Focal Alagoas, Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutora em Biotecnologia, Área de Concentração: Biotecnologia em Recursos Naturais.

Aprovada em: 28/02/2019.

BANCA EXAMINADORA



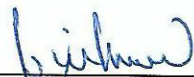
Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Santana
Orientador - Universidade Federal de Alagoas - UFAL



Prof. Dr. Henrique Fonseca Goulart
Coorientador - Universidade Federal de Alagoas - UFAL



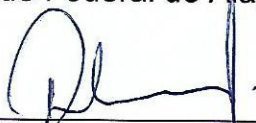
Profa. Dra. Aldenir Feitosa dos Santos
Universidade Estadual de Alagoas - UNEAL



Prof. Dr. José Maurício Simões Bento
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" – ESALQ/USP



Profa. Dra. Marília Oliveira Fonseca Goulart
Universidade Federal de Alagoas – UFAL



Dr. Ricardo Salles Tinôco
Grupo AGROPALMA

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, fonte indispensável de fé que me manteve firme a cada passo durante minha jornada. A minha família Marinalva Sabino (Mãe), José Barbosa (Pai), Alexandre, Acássio e Chryslane (irmãos), Claudinice e Cleidemeri (Cunhadas), Gabriel, Gustavo e Guilherme (Sobrinhos). A toda minha família exemplo de simplicidade e humanidade, alicerce primordial e principal exemplo de vida para minha formação como pessoa e futura profissional.

A minha primeira família acadêmica o Grupo de Pesquisa em Química da Universidade Estadual de Alagoas. Sou grata a todo conhecimento e amizade compartilhada com a Dra. Aldenir Feitosa dos Santos e aos amigos Carla Tatiana dos Santos, Tassia Sena, Thiago, Thierry e Aparecido.

A toda equipe e amigos da Embrapa Tabuleiros Costeiros/Rio Largo. Principalmente aos pesquisadores e amigos João Gomes, Tamara Gomes, Elio Guzzo.

Ao Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais principalmente ao Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart pela orientação e o Dr. Henrique Fonseca Goulart pela coordenação. Sou grata por abrirem as portas do laboratório me permitindo ter a possibilidade de aprendizagem e conhecimento, que me levaram a entender o quão forte é nossa fé, determinação e sonhos diante de uma pequena brecha de oportunidade. Agradeço por toda paciência, apoio e confiança durante esses anos.

Aos Amigos Aldy dos Santos pela imensa ajuda e colaboração e a Dra Cenira Monteiro de Carvalho por toda apoio científico e amizade. Aos amigos do LPqRN que obtive durante a caminhada por todo apoio e carinho meus sinceros agradecimento: Ana Paula, Paulo Henrique, Pedro, Daniel, Aurea, Angelica, Habibu, Jessica, Suelen, Regina, Jane, Karlos, Antônio, Mauricio, Raquel, Igor, Jussara, Iris, Gebson, Bela, Alessandre, Gessica, Dailson, Paulo. Aos amigos cultivados em outros laboratórios da Ufal: Orlando, Jadriane, Kivia, Junia, Andressa, Monica, Mily, Rita, Elida, Kalliana, Jenny, Karlly, Mariana, Nathaly, Raphael, Raissa e todos os demais amigos e colegas.

Aos funcionários do IQB/UFAL e grandes amigos Sra Aparecida e Jovem por todo apoio amizade e força durante a realização de meu trabalho. Ao pessoal da SERVIPA pela segurança disponibilizada durante os dias de análises.

Ao departamento de química do IFAL/MACEIO Prof. Dr. Jonathan Duarte Freitas e Jeniffer Duarte Freitas pela indispensável colaboração e ensinamentos durante as análises de microscopia. A Poliana (UFAL) pela imensa colaboração nas análises histológicas e pela disponibilidade em ajudar e compartilhar conhecimento.

A empresa Agropalma pelo apoio, confiança e credibilidade dada ao trabalho que estava sendo desenvolvido. Meus sinceros agradecimentos ao Dr. Ricardo Tinoco (Gerente fitossanidade), Gilson Chia, Malta, Elielson Lobo, João Batista, Geoquinho, Sandro, Robson, Ana. Em suma, a todos os amigos da polinização, carpintaria e demais departamento nos quais tive o prazer de fazer sinceras amizades.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa.

Enfim, a todos que conheci e que participaram da minha caminhada de alguma forma, saiba que sua presença foi fundamental nessa jornada.

Sem sonhos, as perdas se tornam insuportáveis, as pedras no caminho se tornam montanhas, os fracassos se transformam em golpes fatais.

Mas, se você tiver grandes sonhos.

Seus erros produzirão crescimento, seus desafios produzirão oportunidades, seus medos produzirão coragem.

Augusto Cury

RESUMO

Os lepidópteros *Eupalamides cyparissias* Fabricius, 1776 (Castniidae) e *Automeris liberia* Cramer, 1780 (Saturniidae) são pragas que causam danos às plantas da família Arecaceae de importância econômica como a palma de óleo (*Elaeis guineensis* Jacq.) e o coqueiro (*Cocos nucifera* L.). Na fase de larva *E. cyparissias* forma galerias no interior do estipe. Na fase de larva *A. liberia* desfolha as partes aéreas da planta. Uma forma de reduzir o uso de inseticidas e conseguir conter a expansão e os danos de pragas em ambientes agrícolas é por meio do controle comportamental utilizando semioquímicos (feromônio), uma ferramenta já utilizada em algumas culturas, útil no controle e monitoramento. O trabalho investigou os semioquímicos envolvidos na interação intraespecífica de *E. cyparissias* (Castniidae) e *A. liberia* (Saturniidae). Foram obtidas pupas e larvas em plantios da palma de óleo do Grupo Agropalma, Tailândia-Pa. O material foi mantido em laboratório à 25,2°C e 12:00 horas (Escotofase:Fotofase) até obtenção de adultos. A microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi realizada para verificação da morfologia e tipologia de sensilas usando antenas de insetos com 24-48h de idade de ambas os sexos de *E. cyparissias* e *A. liberia*. Análise histológica foi realizada com a glândula sexual de *A. liberia*. Os extratos de ambos os insetos foram obtidos por extração com solvente hexano grau HPLC e analisados por CG/EAG, CG/DIC e CG/EM. Nas antenas de *E. cyparissias* (♂ e ♀) foram identificados tipos de sensilas como: cerdas de Böhm's bristles, esquamiformes, caéticas, tricóides, ampullaceas, aurilicas, coelocônicas e basicônicas. Os bioensaios eletrofisiológicos indicaram no extrato da asa do macho de *E. Cyparissias*, a presença de um composto eletrofisiologicamente ativo, o geranilgeraniol, que proporcionou a despolarização das antenas de fêmeas virgens da mesma espécie. Foi observado em *A. liberia* dimorfismo sexual na antena do macho (bipectinada) e fêmea (filiforme), os tipos de sensilas identificadas foram: cerdas de Bohm's bristles, sensilas esquamiformes, tricóides, basicônicas, coelocônicas, caéticas e estilocônicas. A glândula produtora de feromônio em *A. liberia* foi identificada na membrana intersegmental entre os últimos segmentos abdominais e estudo histológico sugere a presença de célula glandular. As análises eletrofisiológicas demonstram que o extrato da glândula sexual de *A. liberia* causa despolarização da antena de machos virgens sugerindo que o extrato da fêmea possui composição eletrofisiologicamente ativa. Na *E. cyparissias* foi identificado um componente que provoca estímulo às antenas dos insetos coespecíficos do sexo oposto desta espécie enquanto a *A. liberia* apresentou o extrato da glândula sexual de fêmeas virgens eletrofisiologicamente ativo para machos, estas informações são relevantes e podem delinear perspectivas futuras para ecologia química destas espécies com o intuito de alternativa de controle.

Palavras-chave: Ecologia química. Lepidoptera. Semioquímicos. Sensila. Controle de pragas.

ABSTRACT

The Lepidoptera *Eupalamides cyparissias* Fabricius, 1776 (Castniidae) and *Automeris liberia* Cramer, 1780 (Saturniidae) are pests that damage the plants of the family Arecaceae of economic significance as the oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) And coconut tree (*Cocos nucifera* L.). In the larval stage *E. cyparissias* forms galleries inside the stipe. In the larval stage *A. liberia* defoliation the aerial parts of the plant. One way to reduce the use of insecticides and control expansion and damage of pests in agricultural environments is through behavioral control using semiochemicals (pheromones), a useful tool for controlling and monitoring pests that has been used in some crops. This work investigated the semiochemicals involved in the intraspecific interaction of *E. cyparissias* (Castniidae) and *A. liberia* (Saturniidae). Pupae and larvae were obtained in plantations of oil palm from the Agropalma Group, Thailand-Pa. The material was kept in the laboratory at 25.2 ° C and 12:00 hours (Scotophase: Photophase) until obtention of adults. Scanning electron microscopy (SEM) was performed to verify the morphology and typology of sensilla using antennas of *E. cyparissias* and *A. liberia* insects of both sexes with 24-48h. Histological analysis was performed with the sexual gland of *A. liberia*. The extracts of both insects were obtained by extraction with HPLC grade hexane solvent and analyzed by GC / EAD, GC / FID and GC / MS. In the antennas of *E. cyparissias* (♂ and ♀), sensilla types were identified as Böhm's bristles, squamiformia, trichodea, basiconica, chaetica, aurillica, coeloconica, ampullacea. The electrophysiological bioassays indicated in the male wing extract of *E. cyparissias* the presence of an electrophysiologically active compound, geranylgeraniol that provided the depolarization of antennas of virgin females of the same species. The male (bipectinate) and female (filiform) antennae were found to have sexual dimorphism in *A. liberia*, the types of sensilla identified were trichodea, chaetica, basiconica, coeloconica, squamiformia, styloconica and Böhm's bristles. The pheromone producing gland in *A. liberia* was identified on the intersegmental membrane between the last abdominal segments and histological study suggests the presence of glandular cell. The electrophysiological analysis shows that the extract of the sexual gland of *A. liberia* causes depolarization of the antenna of virgin males suggesting that the female extract has an electrophysiologically active composition. In *E. cyparissias*, a component that stimulates the antennae of the coespecific insects of the opposite sex of this species was identified while *A. liberia* presented the extract of the sex gland of electrophysiologically active virgin females for males, this information is relevant and may outline future perspectives for chemical ecology of these species with the intention of alternative control.

Key words: Chemical ecology. Lepidoptera. Semiochemicals. Sensila. Pest control.

LISTA DE FIGURA

REVISÃO DE LITERATURA

Figura 1 - Ciclo biológico da <i>E. cyparissias</i> (Lepidoptera: Castniidae).....	20
Figura 2 - Detalhes do dimorfismo sexual. Segmentos finais do abdômen da pupa (região ventral) fêmea (A) e macho (B). Asa posterior de adulto (C) detalhe do macho (D) e fêmea (E).....	21
Figura 3 - Danos da <i>E. cyparissias</i> . Larva (A), casca da pupa na estipe da planta (B), galeria no cacho da palma de óleo (C) e galerias nas fatias do estipe da planta (D-E).....	22
Figura 4 - Fórmulas moleculares do acefato (a) e carbaryl (b).....	23
Figura 5 - Controle mecânico da <i>E. cyparissias</i> no Grupo Agropalma. Coleta de pupa e larva com gancho (A), captura de adulto com rede entomológica (B).....	24
Figura 6 - Adultos de <i>A. liberia</i> . Macho posição dorsal (A) e ventral (B), fêmea posição dorsal (C) e ventral (D).....	26
Figura 7 - Fase de desenvolvimento de <i>A. liberia</i> . Ovo (A), larva (B), pré-pupa (C); pupa (D), macho♂ e fêmea♀ adulta (E).....	27
Figura 8 - Danos da lagarta de <i>A. liberia</i> a planta hospedeira (Palma de óleo) (A), folíolos da palma de óleo danificados pela praga (B).....	28
Figura 9 - Dissecção de glândula de <i>Helicoverpa armigera</i> . Exposição dos últimos segmentos abdominais (A); corte a partir do 8º segmento abdominal com cutila esclerótica (B); Sem cutila esclerótica (C): Remoção da cutila esclerótica (3), glândula do feromônio (2) e ovipositor (1).....	32
Figura 10 - Estrutura molecular dos componentes (E, Z) -10,12-hexadecadien-1-ol (A); (E, Z) - 6,11-octadecadienal (B); (E) - 6-octadecenal (C); (Z) -5-tetradecenal (D) e (Z) -7-tetradecenal (E).....	33
Figura 11 - Estruturas moleculares dos componenetes (E, Z)-2,13-octadecadienol (A), (Z)-9-tetradecenol (B), hexadecanal(C), 6,10,14-trimetilpentadecan-2-ol(D), (2E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (E), (2Z)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (F).....	35
Figura 12 - Estruturas químicas de compostos identificados e classificados como feromônio tipo I, II e outros.....	37
Figura 13 - Tipologia das sensilas da <i>Tuta absoluta</i> (Lepidoptera: Gelechiidae): sensila caética (SCh) (A-B), sensila coelocônica (SCo) (C), sensila auricílica (SA) (D), sensila estilocônica (SSt) (D).....	39
Figura 14. Transporte de moléculas de odores em sensilas quimiorreceptoras.....	41

CAPITULO I: *Eupalamides cyparissias* (Fabricius, 1776)

(Lepidoptera:Castniidae) is problematic for Arecaceae culture: Perspectives on control.

Fig 1. Phases development of *E. cyparissias* egg (A), caterpillar (B), pre-pupa (C) and pupa (D).....82

Fig 2. Sexual dimorphism in the adult insect. Rear wing of male with single bristle (A), Rear wing of female bristle (B). Adult of *E. cyparissias* (C).....83

Fig 3. Damage to host palm oil plant. Pupa bark in the (red circle) strain of the plant indicating newly emerged adult (A), plant strain with galleries caused by caterpillar (B) and bunch of oil palm with caterpillar galleries (C).....84

CAPITULO II: Estrutura da sensila na antena de *Eupalamides cyparissias*

Fabricius, 1776 (Lepidoptera: Castniidae) e resposta eletrofisiológica a um componente macho-específico.

Figura 1. Antena de *E. cyparissias* (A), partes da antena escapo EC, pedicelo PE, flagelo FL, clube CL e apical AP (B), região ventral e área sensilar destaque em amarelo no flagelo e escamas Sc nas áreas laterais(C), flagelo FL e unidades de antenômero AT na região ventral (D); Região ventral do clube com área sensilar e região dorsal coberta por escamas (E).....116

Figura 2. Imagens de microscopia eletrônica de varredura dos tipos de sensilas de macho e fêmea da *E.cyparissias*. Cerdas de Bohm's bristles BB (A); Sensila squamiforme SSq (B); Escamas Sc (B-C); Sensilas caética SCha e aurilica SAu (C); Sensilas tricóide ST e coelocônica SCo (C-E); ampullacea AMP (D) e Sensila basicônica (E).117

Figura 3. Cerdas Bohm's bristles (A-B) e sensila squamiforme SSq (A e C) presentes na antena de macho e fêmea.118

Figura 4. Estrutura da sensila caética presente em ambos os sexos. Sensila caética SCha I (A); Ponta apical da sensila caética I (B); Sensila caética SCha II sua base possui soquete S (C); parede cuticular estriada (D).....119

Figura 5. Sensilas tricóides e basicônica presentes na área sensilar da antena de *E. cyparissias*. Sensila tricóide ST (A-D) e Sensila basicônica SBa (A-C); indicação (→) da possível presença de poros P na parede cuticular da sensila tricóide (B e D); possível presença de poros P (→) na parede cuticular da sensila basicônica (C)..120

Figura 6. Estrutura morfológica das sensila coelocônica e auricílica em ambos os sexos. Sensila coelocônica SCo (A e C); sensila auricílica SAu (B e D); parede cuticular com indicação de possível poro P (→) em sensila auricílica SAu (B).....121

Figura 7. Cromatograma de resposta eletrofisiológica de fêmea virgem diante de um componente (1) no extrato da asa posterior do macho.....122

Figura 8. Espectro de massas do geranylgeraniol (a); fórmula molecular do geranylgeraniol (b).....123

Figura 9. Cromatograma CG-DIC (Programação1) do extrato da asa posterior do macho e da fêmea com identificação do componente EAD-ativo no macho (1).124

Figura 10. Sobreposição do cromatograma do CG-DIC extrato do macho (1) com padrão autêntico do geranylgeraniol (2) (a); quantificação do composto EAD-ativo com padrão interno eicosano (b); resposta eletrofisiológica de antena de fêmea frente ao padrão autêntico do geranylgeraniol (1) (c).....125

CAPITULO III: Morphology and distribution of antennal sensilla of *Automeris*

***liberia* (Lepidoptera: Saturniidae)**

Fig. 1. Antennal dimorphism in an *A. liberia* female, filiform (A and B) and male, bipectinate (C and D).....153

Fig. 2. Division of female antennal segments ♀ (A, C and E) and male antennal segments ♂ (B, D and F).....154

Fig. 3. Sensilla squamiformia (A and C) and Böhm's bristles BB (B and D).....155

Fig. 4. Sensilla chaetica (A and B), chaetica sensilla (cuticle with vertical line-like) (C), sensilla trichodea (4A and 4B), trichodea sensilla (cuticle with transverse line-like) (D).....156

Fig. 5. Morphology of sensilla and cuticle with transverse line-like. Sensilla trichodea (A, B and D), sensilla basiconica (A, B and C).....157

Fig. 6. Sensilla coeloconica (A), sensilla styloconica with more than one connected unit (B), sensillum style with a pin (C), sensillum style with more than one pin (D)..158

Supplementary Fig S1. Sequence view for processes ID:LPQRN001-19.....159

Supplementary Fig. S2. Phylogenetic tree constructed with the sequences of *Automeris liberia* and other moths of the family Saturniidae.....160

CAPITULO IV: Morfologia, histologia do ovipositor e resposta eletrofisiológica de machos ao extrato da glândula sexual da fêmea de *Automeris liberia* (Cramer, 1780) (Lepidoptera: Saturniidae)

Figura 1. Coleta de lagarta de <i>A. liberia</i> no campo (A,B); lagarta (C) e adulto (D) mantido em sala de criação.....	163
Figura 2. Excisão dos segmentos finais a glândula sexual da fêmea de <i>A.liberia</i> (A); extração por solvente (B).....	164
Figura 3. Equipamento de microscopia eletrônica de varredura – MEV.....	167
Figura 4. Exposição da glândula sexual da fêmea de <i>A. liberia</i> (A), parte terminal do abdômen com ovipositor e glândula (região dorsal) (B).....	168
Figura 5. Estruturas do ovipositor por microscopia eletrônica de varredura. Ovipositor (A-D); sensila caética SC (C-D); soquete S (D) e microtrícas curtas M (C-D).....	169
Figura 6. Cortes histológicos da região glandular (glândula sexual). Células glandulares (Cg) e Quitina (Qt) (A).....	170
Figura 7. Cromatograma CGMS-DB1 com perfil de componentes em fêmea de <i>A. liberia</i>	171
Figura 8. Cromatograma CGMS-DB1 com perfil de componentes em macho de <i>A. liberia</i>	171
Figura 9. Intensidade da despolarização da antena de macho frente voláteis do extrato da glândula da fêmea, branco e o hexano (média±erro).....	172
Figura 10. Cromatograma do CGEAG do extrato da glândula sexual da fêmea (linha azul) com despolarização da antena de macho (linha vermelha).....	173
Figura 11. Cromatograma de ionização em chama da glândula de <i>A. liberia</i> . Pico do EAG-ativo indicado de vermelho e index de Kovats.....	173

LISTA DE TABELA

REVISÃO DE LITERATURA

Tabela 1. Tipos e funções das sensilas em <i>Tuta absoluta</i> (Lepidoptera: Gelechiidae).....	40
---	----

CAPITULO I: *Eupalamides cyparissias* (Fabricius, 1776)

(Lepidoptera:Castniidae) is problematic for Arecaceae culture: Perspectives on control.

Table 1. Relationship of semiochemicals in Castniid agricultural pests, identified compound (ind) and not identified (n.d).....	79
--	----

CAPITULO II: Estrutura da sensila na antena de *Eupalamides cyparissias* Fabricius, 1776 (Lepidoptera: Castniidae) e resposta eletrofisiológica a um componente macho-específico.

Tabela 1. Antena total de comprimento e número de antenômeros em machos e fêmeas de <i>E. cyparissias</i>	113
---	-----

Tabela 2. Comprimento estimado e largura basal de diferentes tipos de sensilas na antena de machos e fêmeas de <i>E. cyparissias</i>	114
--	-----

Tabela 3. Confirmação da identificação do componente EADativo por CGFID com o padrão autêntico.....	115
---	-----

CAPITULO III: Morphology and distribution of antennal sensilla of *Automeris liberia* (Lepidoptera: Saturniidae)

Table 1. General characteristics of the antennae of male and female <i>A. liberia</i> (n = 10 antennae).....	151
---	-----

Table 2. Length and basal width of different sensilla types on the antenna of <i>A. liberia</i> males and females.....	152
---	-----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	16
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1 Família: Arecaceae.....	18
2.1.1 Problemas fitossanitários: Inseto praga.....	18
2.2 <i>Eupalamides cyparissias</i> Fabricius (Lepidoptera: Castniidae).....	19
2.3 <i>Automeris liberia</i> (Lepidoptera: Saturniidae).....	24
2.4 Semioquímicos no manejo integrado de pragas.....	29
2.5 Aplicação do feromônio no MIP.....	30
2.6 Produção de feromônio sexual em lepidóptero fêmea.....	31
2.7 Produção de feromônio em lepidóptero macho.....	33
2.8 Estruturas químicas de feromônio para lepidópteros.....	36
2.9 Antena: sistema olfativo e sensorial do inseto.....	37
2.10 Referências.....	42
3. CAPÍTULO I: <i>Eupalamides cyparissias</i> (Fabricius, 1776)	
(Lepidoptera:Castniidae) is problematic for Arecaceae culture: Perspectives on control.....	58
Abstract.....	60
Castniidae family.....	62
<i>Eupalamides cyparissias</i> (Fabricius, 1776): Biology.....	62
Life cycle.....	63
Injury in Arecaceae from <i>Eupalamides Cyparissias</i>	63
Control.....	65
Chemical control.....	65
Biological control.....	65
Mechanical control.....	66
Biopesticide.....	66
Relevance of semiochemicals in pest management.....	66
Study of semiochemicals in Castniidae.....	67
References.....	71
4. CAPÍTULO II: Estrutura da sensila na antena de <i>Eupalamides cyparissias</i>	
Fabricius, 1776 (Lepidoptera: Castniidae) e resposta eletrofisiológica a um	
componente macho- específico.....	85
Resumo.....	86

Introdução.....	87
Materiais e Métodos.....	89
Resultados.....	92
Discussões.....	97
Conclusões.....	102
Referências.....	102
5. CAPÍTULO III: Morphology and distribution of antennal sensilla of <i>Automeris liberia</i> (Lepidoptera: Saturniidae).....	126
Abstract.....	127
Introduction.....	128
Materials and methods.....	130
Results.....	132
Discussions.....	136
Conclusions.....	141
References.....	142
6. CAPÍTULO III Morfologia, histologia do ovipositor e resposta eletrofisiológica de machos ao extrato da glândula sexual da fêmea de <i>Automeris liberia</i> (Cramer, 1780) (Lepidoptera: Saturniidae).....	161
Resumo.....	161
Introdução.....	162
Materiais e Métodos.....	163
Resultados.....	168
Discussões.....	174
Conclusões.....	176
Referências.....	177
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	181

1. INTRODUÇÃO GERAL

A família Arecaceae compreende uma diversidade de plantas que se destacam em vários países decorrentes de sua importância econômica (FARIAS, 2013; MEIRA et al., 2015; CREMONEZ et al., 2015; AGELE et al., 2017). Dentre as espécies de palmeiras cultivadas no Brasil destacam-se a palma de óleo, açazeiro, coqueiro, juçara, palmeira-real e a pupunheira dentre outras (GUNN et al., 2011; RULL e MONTOYA, 2014; AGELE et al., 2017).

No Brasil muitas regiões possuem o cultivo da palma de óleo, do coqueiro e do açazeiro que são responsáveis por empregos diretos e indiretos que parte do campo a indústria (TINOCO, 2016; FURUMO e AIDE, 2017).

A matéria prima das plantas da família Arecaceae resulta em uma variedade de produtos que atende o mercado nacional e internacional (ARRUDA et al., 2014; VILLELA et al., 2014; YAHYA et al., 2015; PIRKER et al., 2016). A importância socioeconômica de muitas dessas plantas faz com que ocorra a expansão da cultura, entretando, plantas como, por exemplo, a palma de óleo e o coqueiro vêm sofrendo com problemas fitossanitários devido à presença de diversos insetos praga (TINOCO, 2016).

Eupalamides cyparissias (Castniidae) e *Automeris liberia* (Saturniidae) são pragas que tem ganhado destaque por afetar negativamente a cultura de plantas da família Arecaceae como a palma de óleo e coqueiro dentre outras, principalmente na região Norte do Brasil, e são conhecidos por seu potencial de praga na América do Sul e América Central (OLIVEIRA et al., 2018a; OLIVEIRA et al., 2018b; TINOCO, 2016; VASQUEZ et al., 2008).

E. cyparissias é uma broca de difícil controle sua larva abre galerias no interior da estipe impedindo o transporte de nutrientes e interrompendo o desenvolvimento da planta, podendo causar sua perda total (PÉREZ e IANNACONE, 2006; VASQUEZ et al., 2008).

A. liberia (Saturniidae) é uma mariposa que na fase de larva causa a desfolha dos folíolos afetando o processo de fotossíntese e o desenvolvimento da planta (OLIVEIRA et al., 2018a; TINOCO, 2016).

Como consequência dos danos causados pelas pragas mencionadas há um aumento no replantio, atraso e/ou interrupção no desenvolvimento vegetativo e no

início da produção (DAL MOLIN e BARRETO, 2012; BEAUDOIN-OLLIVIER et al., 2017).

O controle atual desses insetos quando localizados varia desde controle mecânico por meio da coleta com rede entomológica (adulto) e/ou gancho (pupa), destruição, utilização de inseticida e/ou controle biológico (DAL MOLIN e BARRETO, 2012; SOUZA, 2006).

Apesar das tentativas de controle usadas para minimizar os impactos destes lepidópteros, sua eficiência ainda é baixa e estas pragas ainda afetam a palma de óleo e coqueiro na região norte do Brasil e em outros países. É evidente que a implementação de estratégia de controle associada ao Manejo Integrado de Pragas que proporcione baixo impacto a cultura e ao meio ambiente torna-se necessário. Desta forma, a utilização dos semioquímicos no controle comportamental de pragas é uma opção relevante para o setor agrícola não oferecendo risco ao ambiente (ANTONY et al., 2015; GROOT et al., 2016).

Na literatura as informações sobre a ecologia química destes lepidópteros são escassas. Desta forma, o presente trabalho visou investigar os semioquímicos envolvidos na interação intraespecífica da *E. cyparissias* e *A. liberia* com a finalidade de contribuir para o desenvolvimento de estratégias de monitoramento e/ou controle destas pragas.

A tese apresentada compreende uma revisão de literatura geral e quatro capítulos resultantes das pesquisas direcionadas pelo material de pesquisa da tese. No presente material três capítulos (I, II e III) foram descritos em formato de artigo e foram submetidos a revistas da área.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Família: Arecaceae

Plantas da família Arecaceae são constituídas por uma diversidade de palmeiras cerca de aproximadamente mais de 2.600 espécies, presentes nas regiões tropicais e subtropicais (HEYDUK et al., 2016). Geralmente são plantas monocotiledôneas de importância econômica, social e ambiental como, por exemplo, o coqueiro, a palma de óleo e o açazeiro dentre outras (COSTA et al., 2018; CAMPOS et al., 2018; FARIAS, 2013; FRAGOSO et al., 2001; SOUZA et al., 2013).

Dessas plantas tudo pode ser aproveitado como matéria prima para produção de cosméticos, medicamentos, combustíveis e principalmente alimentos. Dentre a variedade de produtos está o palmito, frutos, óleo, madeira, margarina, glicerol, cosméticos, detergentes sintéticos, sabão, velas, fluidos para freio de avião, biodiesel, artesanatos, móveis e produtos com potencial farmacológico (DE LA TORRE et al., 2009; SOSNOWSKA E BALSLEV, 2009; KUSS et al., 2015; MURPHY et al., 2014; BORGES et al., 2016; ARRUDA et al., 2014; SCHULTZ, 2008; LIMA et al., 2015).

As plantas de Arecaceae atendem ao mercado nacional e internacional com seus produtos e subprodutos (RAMALHO FILHO, 2010; BROKAMP et al., 2011). No Brasil o avanço no cultivo dessas plantas é crescente tornando o país um dos grandes produtores mundiais de palma de óleo e o coqueiro (PATIL et al., 2018; OKINO-DELGADO et al., 2018; BENAMI et al., 2018; SANTANA et al., 2014). Além disso, emprega grande mão de obra desde pequeno produtor a indústria (TINÔCO, 2016).

2.1.1 Problemas fitossanitários: Inseto praga

Muitas plantas de Arecaceae vêm sofrendo com os severos danos causados por pragas de distintas ordens, que dificultam sua expansão em diversos países e regiões brasileiras. O *Rhynchophorus palmarum* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) é uma das principais pragas desta cultura no Brasil (CYSNE et al., 2013). Porém a ocorrência de outros insetos desfolhadores, broqueadores de estipe e raiz necessitam de atenção por comprometer as plantas em distintas partes (LEMOS et al., 2008; PUKER et al., 2009; BARBOSA et al., 2011; DAL MOLIN e BARRETO, 2012; MEDEIROS e MESQUITA, 2014).

Lepidópteros desfolhadores como, por exemplo, *Automeris* sp (Saturniidae), *Euprosterina elaeasa* e *Acharia fusca* (Limacodidae), a broca da estipe *Eupalamides cyparissias* (Castniidae), as lagartas que se alimentam de raiz a *Sagalassa valida* (Glyphipterigidae), na ordem Coleoptera *Rhinostomus barbirostres* F. (Curculionidae) (RIBEIRO et al., 2013; ALVARADO-MORENO et al., 2014; MARTÍNEZ et al., 2014; TINÔCO, 2016).

Os insetos praga tem se tornado um dos gargalos para expansão de muitas culturas agrícolas por causarem prejuízos alarmantes nos diferentes estágios da planta, que parte desde o viveiro até a implantação, crescimento e desenvolvimento (FERREIRA, 2008; DAL MOLIN e BARRETO, 2012).

Muitas empresas e produtores tentam conter os insetos praga com formas de controle que variam desde sua destruição, queima das plantas infestadas, podas até utilização de inseticidas ou inimigos naturais (DAL MOLIN e BARRETO, 2012; GAZEL FILHO, 2000; SOUZA, 2006). Logo, é evidente a necessidade de reduzir o uso de inseticidas levando em consideração a qualidade do produto, a saúde humana e o meio ambiente, tendo vista que, os produtos das palmáceas são de consumo humano tanto de forma *in natura* quanto industrializada (TINÔCO et al., 2008).

2.2 *Eupalamides cyparissias* Fabricius (Lepidoptera: Castniidae)

A família Castniidae possui aproximadamente 133 espécies distribuídas nos Neotrópicos, Sudeste Asiático e Austrália. É uma pequena família de insetos com tamanho variado entre médio e grande porte, atribuídos de cores vibrantes onde algumas espécies são muito semelhantes às borboletas (GONZÁLEZ et al., 2010; QUERO et al., 2017).

Os lepidópteros dessa família possuem uma diversidade de plantas hospedeiras das famílias Arecaceae, Poaceae, Bromeliaceae e Musáceas (PARRALES et al., 2018; GONZÁLEZ E FERNÁNDEZ-YÉPEZ, 1993; GONZÁLEZ E COCK, 2004).

E. cyparissias também é conhecida como *Castnia daedalus*, *Cyparissius daedalus*, *Eupalamides daedalus* e por nomes comuns como broca-da-coroa-foliar, broca da coroa foliar das palmeiras, broca das palmeiras (BERNARDINO, 2007; LEMOS E BOARI, 2010). É um inseto fitófago disperso na Colômbia, Peru, Equador, Guiana, Venezuela e no Brasil com ênfase na região Norte (GONZÁLEZ E COOK,

2004; KRUG et al., 2013; DOMAGAŁA et al., 2017). Sua incidência foi relatada em plantas da família Arecaceae como, por exemplo, a palma de óleo, o coqueiro, o açaizeiro (LEMOS E BOARI 2010). Essa espécie apresenta fios longos na região ventral da asa anterior (GONZÁLEZ E COOK, 2004).

Os adultos são relativamente grandes. A fêmea tem 17 - 20 cm e o macho de 17-18 cm de envergadura. Suas cores variam do marrom, verde e púrpura (ALDANA et al., 2004). Esse lepidóptero tem atividade comportamental entre 05h30min – 06h00min fotofase e 18h00minh -18h30min escotofase (VASQUEZ et al., 2008).

Os ovos são caracterizados por estrias longitudinais, apresentam 5-6 mm de comprimento e 2 mm de largura (VASQUEZ et al., 2008). A larva que causa dano à estipe da planta possui aparência leitosa com 7 a 130 mm de tamanho (SILVA E CARNEIRO, 2001; BERNARDINO, 2007). Seu ciclo total pode chegar a 314 dias (KORKYTKOWSK e RUIZ 1980) (Figura 1).

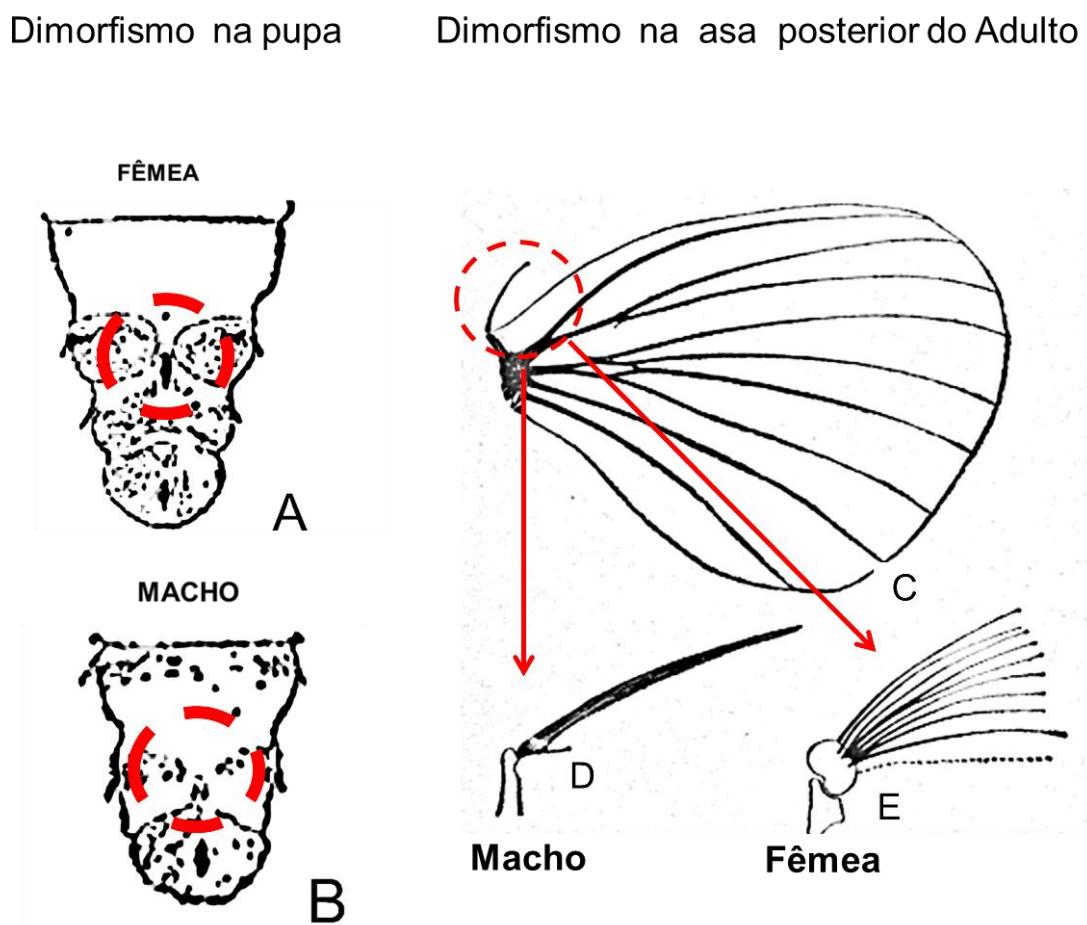
Figura 1- Ciclo biológico da *E. cyparissias* (Lepidoptera: Castniidae).



Adaptado de KORKYTKOWSK e RUIZ (1980). Fotos: Kelly B. Da Sillva (2016).

Segundo Korkytrowsk e Ruiz (1980) o dimorfismo sexual foi observado na fase de pupa (Figura 2 A-B). Na fase adulta do inseto também foi observado dimorfismo com a presença de uma cerda única na asa posterior do macho (Figura 2 C-D) e a fêmea possui cerdas volumosas na asa posterior na região próxima ao tórax (Figura 2 C-E).

Figura 2 - Detalhes do dimorfismo sexual. Segmentos finais do abdômen da pupa (região ventral) fêmea (A) e macho (B). Asa posterior de adulto (C) detalhe do macho (D) e fêmea (E).

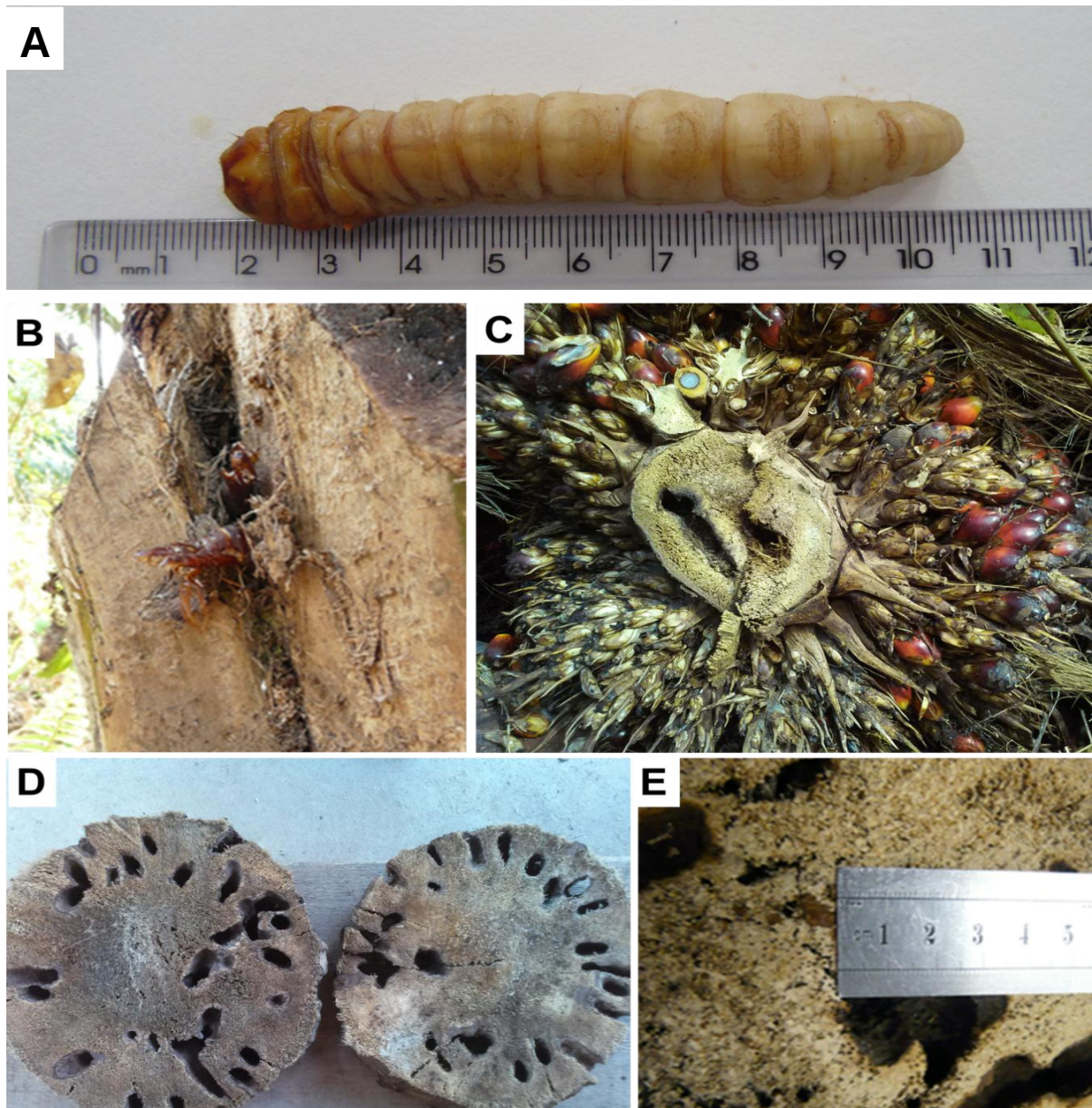


Fonte: Adaptado KORKYTKOWSK e RUIZ (1980).

Na fase de larva a *E. cyparissias* causa danos diretos e indiretos à planta hospedeira. O dano direto é provocado pelas larvas que perfuram a estipe formando galerias no interior da planta até os cachos durante o processo de alimentação (Figura 3). Essas galerias rompem os vasos que permitem o transporte de

nutrientes, ou seja, a seiva bruta elaborada, importante para o desenvolvimento da planta e produção dos cachos (ALDANA et al., 2004).

Figura 3 - Danos da *E. cyparissias*. Larva (A), casca da pupa no estipe da planta (B), galeria no cacho da palma de óleo (C) e galerias nas fatias do estipe da planta (D-E).



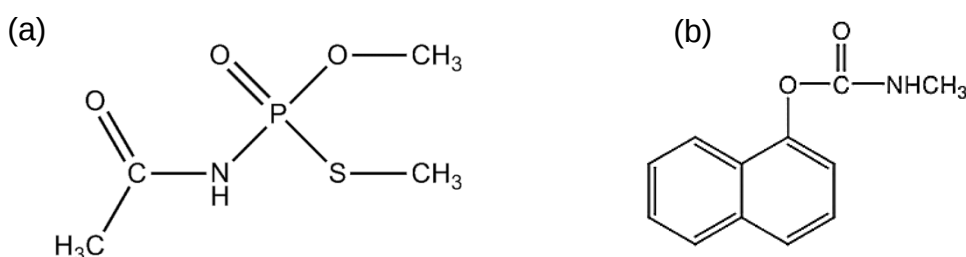
Fotos: Kelly B. Da Silva (2016).

Essas galerias são traçadas desde o estipe, pêndulo dos cachos e base foliar e como consequência ocorre o abortamento de cachos, baixo desenvolvimento de flores e arqueamento foliar. Em casos mais extremos, pode ocorrer a podridão de tecidos abaixo do meristema da planta (ALDANA et al., 2004; VASQUEZ et al, 2008; LEMOS e BOARI 2010).

O dano indireto causado pela larva de *E. cyparissias* pode deixar a planta susceptível ao ataque de outros insetos. As lesões causadas por esta broca contribuem para o processo de fermentação de tecido vegetal e os voláteis dispersos desse processo atuam na atração de insetos como o *Rhynchophorus palmarum* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). Além disso, a galeria formada pelo ataque da larva pode ser alvo de agentes fitopatogênicos (BERNARDINO, 2007).

Logo, houve teste de mortalidade com lagartas de *E. cyparissias* apontaram que o acefato e o carbaryl (Figura 4) a 0,1% provocaram a mortalidade do inseto (MULLER et al., 2000). Entretanto, a forma de aplicação de alguns produtos (inseticidas) por perfuração coloca a planta em estado de vulnerabilidade devido à necessidade de aplicação interna do produto (SILVA et al., 2003).

Figura 4 - Fórmulas moleculares do acefato (a) e carbaryl (b).



Dentre os parasitóides relatados para possível controle biológico de *E. cyparissias* destaca-se *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) (RIBEIRO et al., 2013) e *Ooencyrtus* sp. (Hymenoptera: Encyrtidae) (ALDANA et al., 2003). Segundo Perez e Iannaccone (2008) extratos de plantas *Sacha yoco* (*Paullinia clavigera*), *Achiote* (*Bixa orellana*) *Yuquilla* (*Euphorbia cotinifolia*) provocaram de mortalidade de lagartas em estágio inicial.

Devido ao fato da lagarta se alojar no interior da planta permanecendo protegida de inimigos naturais e da ação externa de controle, algumas alternativas acabam não tendo um resultado satisfatório. Desta forma, o método de controle mecânico acaba sendo comumente usado por algumas empresas e produtores na região norte do Brasil, para minimizar o impacto da praga. A coleta de pupas e adultos ocorre respectivamente com gancho (Figura 5A-B) e rede entomológica (Figura 5C-D) podendo ser seguida de destruição por queima (DELGADO e COUTURIER, 2003; BERNARDINO, 2007).

Figura 5 - Controle mecânico da *E. cyparissias*. Coleta de pupa e larva com gancho (A), captura de adulto com rede entomológica (B).



Fotos: Kelly B. da Silva, 2016.

Ainda não há descrição de controle comportamental para *E. cyparissias*, mas estudos envolvendo a presença de semioquímicos em espécies da família Castniidae ganharam destaque com a *Telchin licus* (Drury) demonstrando que o extrato de fêmeas estimulam o comportamento dos machos, indicando que existem moléculas que podem estar envolvidas na interação intraespecífica (REBOUÇAS et al., 1999). E com a espécie *Paysandisia archon* (Burmeister) com a identificação de compostos presentes no extrato de machos da que estimulam resposta olfativa no sexo oposto (QUERO et al., 2017).

COSTA (2015) identificou em distintas partes do corpo de *E. cyprissias* a presença de hidrocarbonetos insaturados, ésteres, álcoois, aldeídos dentre outros compostos. Entretanto, a função de feromônio para as moléculas identificadas em insetos Castniidae ainda é uma incógnita. O controle comportamental para muitos insetos Castniidae ainda é desconhecido, tornando as espécies dessa família, pragas de difícil controle.

2.3 *Automeris liberia* (Lepidoptera: Saturniidae)

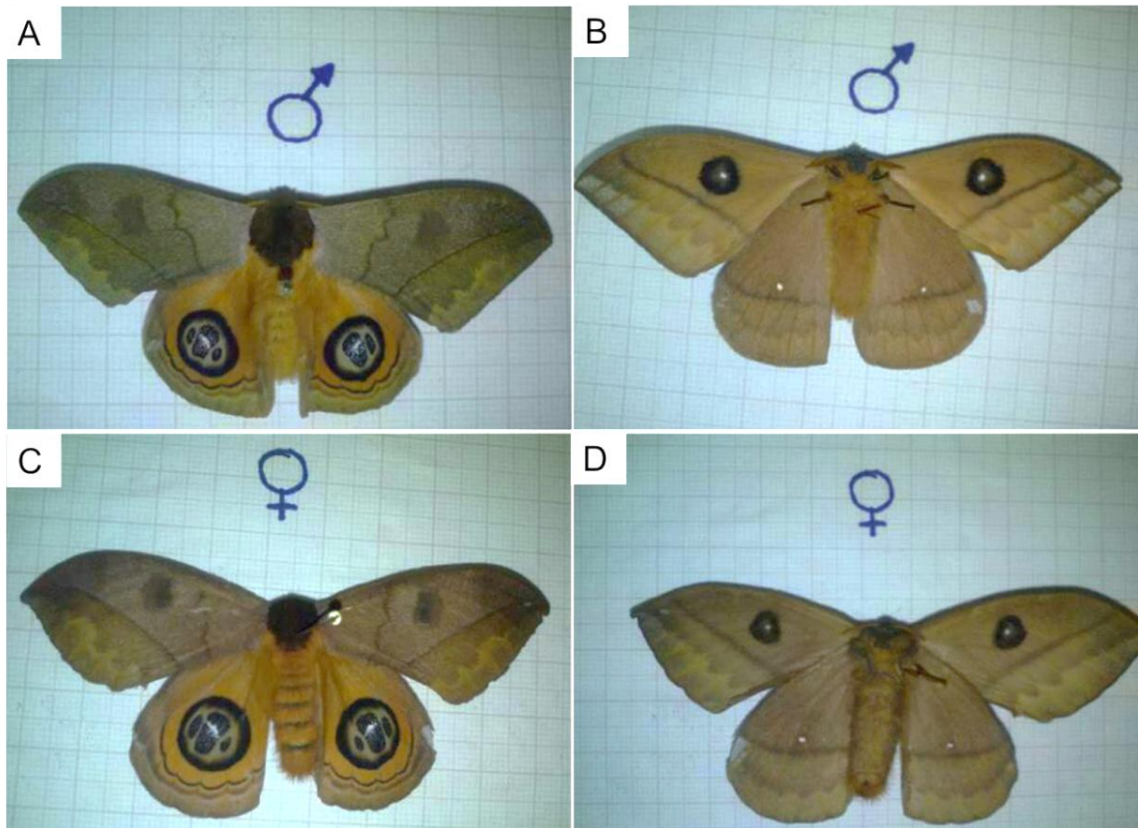
Lepidópteros que compreendem a família Saturniidae apresentam cerca de 2.349 espécies, distribuídas em 169 gêneros e 09 subfamílias (LARA-PÉREZ et al., 2017). O Brasil possui o registro de 422 espécies desta família (CORRÊA, 2017).

Dentro da família Saturniidae, destaca-se o gênero *Automeris* que compreende larvas com hábito gregário e corpo repleto de cerdas que parecem espinhos e são urticantes, por isso uma possível perfuração com as cerdas provoca alguns efeitos colaterais podendo destacar a dor, ardência, inchaço, em casos raros tonturas (GÓMEZ, 2014).

Há insetos do gênero *Automeris* com manchas ocelares nas asas posteriores na região dorsal em forma de pupila e configuração de arco, sendo este detalhe característico de algumas espécies como, por exemplo, *Automeris naranja* Schaus; *Automeris liberia* Cremer, *Automeris jucunda* Cramer e *Automeris illustris* Walker (COCK 2005; SPECHT et al., 2006; SPECHT et al., 2007; COMOGLIO e RACHELI, 2016).

As espécies do gênero *Automeris* possuem uma diversidade de plantas hospedeiras, destacando a *A. illustris* que tem como fonte alimentar plantas como a bananeira *Musa paradisiaca* Linnaeus (Musaceae), abacateiro *Persea americana* Mill (Lauraceae), citros *Citrus sp.* (Rutaceae), cafeeiro *Coffea arabica* Linnaeus (Rubiaceae) (SPECHT et al., 2006). A *A. naranja* por sua vez tem como hospedeira a *Annona cherimolia* Mill (Annonaceae), o cafeeiro *Coffea arabica* Linnaeus (Rubiaceae), o maracujá *Passiflora sp.* (Passifloraceae) (SPECHT et al., 2007). Segundo TINÔCO (2016) e OLIVEIRA et al (2018b) a *A. liberia* (Figura 6) afeta a cultura da palma de óleo (*Elaeis guineensis* Jacq) na região Norte do Brasil. Esse lepidóptero foi relatado como praga de palma de óleo na América Central, Perú, Colômbia, Equador e Venezuela (OLIVEIRA et al., 2018a)

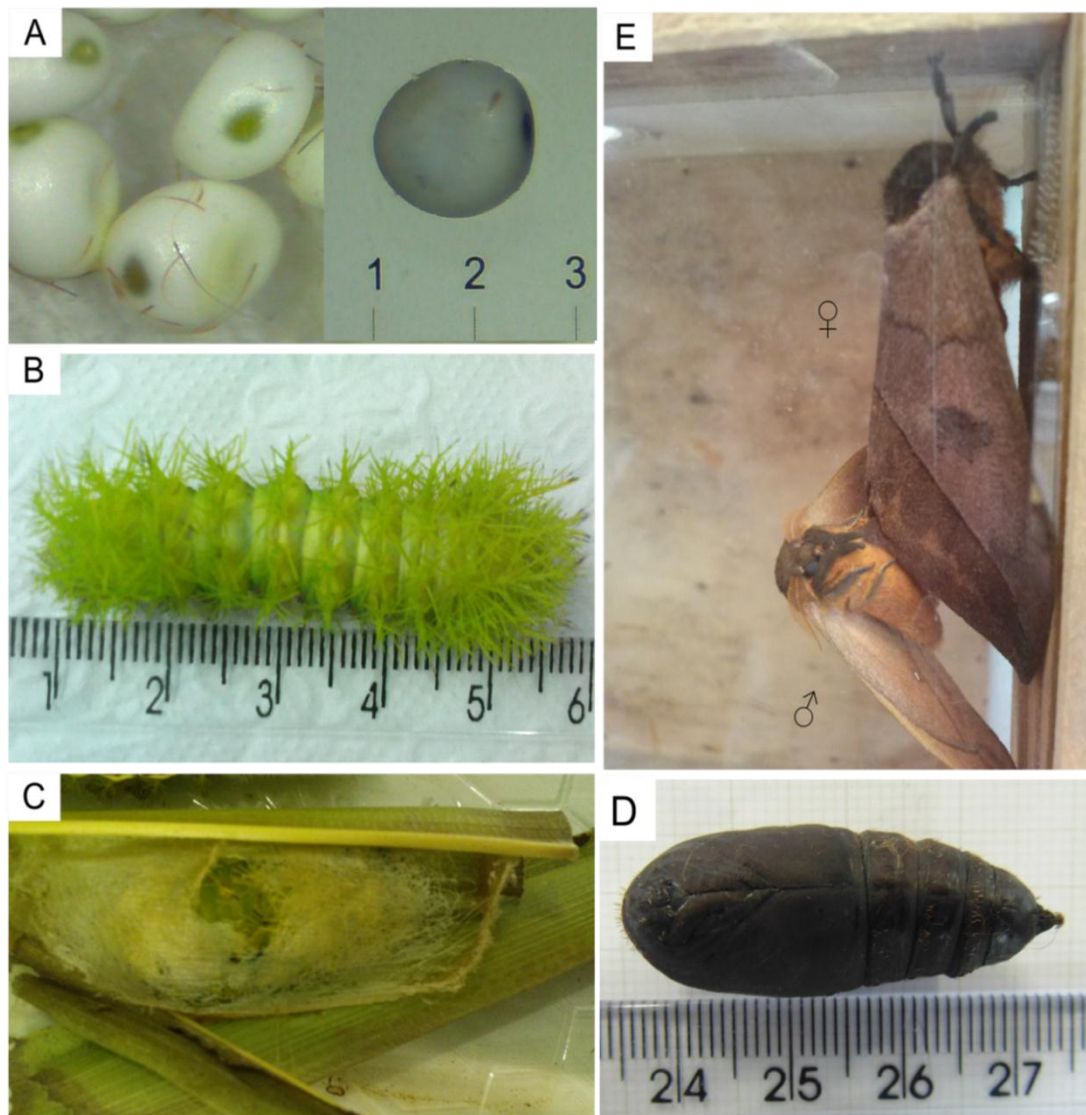
Figura 6 - Adultos de *A. liberia*. Macho posição dorsal (A) e ventral (B), fêmea posição dorsal (C) e ventral (D).



Fotos: Kelly B. da Silva, 2017.

A. liberia possui um ciclo holometábolo que compreende as fases de ovo, larva, pré-pupa, pupa e adulto (Figura 7). Morfologicamente seus ovos são caracterizados como brancos e meio achatados apresentando coreo verde claro que fica escuro quando está próximo de eclodir a larva (OLIVEIRA et al., 2018a). A larva é verde com listras brancas nas laterais e possui a presença de cerdas similares a espinhos por todo corpo (Figura 7B). Para a fase de pré-pupa a larva cria um casulo com seda e pedaços de folha (Figura 7C) permanecendo até a fase de pupa (OLIVEIRA et al., 2018a). O adulto apresenta dimorfismo sexual acentuado na fase adulta, onde a antena do inseto macho é bipectinada e da fêmea filiforme (Figura 8).

Figura 7 - Fase de desenvolvimento de *A. liberia*. Ovo (A), larva (B), pré-pupa (C); pupa (D), macho♂ e fêmea♀ adulta (E).



Fotos: Kelly B. da Siva, 2016.

Na fase de larva *A. liberia* afeta a cultura a partir dos ínstaes iniciais, apresentando hábito gregário provocando grande dano à área foliar infestada. Seu principal dano consite na desfolha dos folíolos na parte aérea da planta hospedeira jovem, comprometendo o processo de fotossíntese em início de desenvolvimento produtivo (Figura 8) (OLIVEIRA et al., 2018a).

Figura 8 - Danos da lagarta de *A. liberia* a planta hospedeira (Palma de óleo) (A), folíolos da palma de óleo danificados pela praga (B).



Fotos: Kelly B. da Silva, 2017.

A presença de microorganismos e inimigos naturais são descritas para *A. liberia*. Trabalhos relatam a presença de um fungo *Metarhizium* e a presença de parasitismo pela vespa *Telenomus sp.* (Scellionidae) e por parasitoide da família Tachinidae (OLIVEIRA et al., 2018a).

2.4 Semioquímicos no manejo integrado de pragas (MIP)

A questão em torno de problemáticas que envolvem a degradação ambiental, o acúmulo de resíduo em alimento, geração de resistência da praga alvo e/ou erradicação de inimigo natural, provocado pela dependência de uma única alternativa de controle, como uso recorrente de inseticidas para conter pragas em ambientes agrícolas, tem preocupado organizações de âmbito nacional e internacional. Essa preocupação tem desencadeado o interesse por pesquisa que envolve uso de semioquímico para controle e/ou monitoramento de pragas no campo. Essa é uma das alternativas do manejo integrado de pragas (DAMOS et al., 2015; MCGHEE et al., 2014).

Os insetos fazem uso dos semioquímicos (sinais químicos) para sua comunicação química e sobrevivência no habitat. Os semioquímicos são compostos produzidos de forma natural pelos insetos, através de glândulas e reconhecido pela antena (olfato do inseto), sendo intermediários de diversas reações comportamentais. É através do processo de emissão e detecção desses odores que os insetos encontram parceiros para o acasalamento, fonte de alimento (planta hospedeira), reconhecimento de habitats e escolhem local de oviposição (LIMA-MENDONÇA et al., 2014; ZARBIN et al., 2009).

Os semioquímicos são atribuídos de distintas funções fisiológicas e comportamentais conforme a interação e/ou custo benefício de cada indivíduo, podendo ser classificada como intraespecífica onde os compostos designados de feromônios estão envolvidos nas interações entre indivíduos da mesma espécie ou interespecíficos que são compostos denominados de aleloquímicos e estão relacionados às interações entre indivíduos de espécies distintas (SARLES et al., 2015; BECK et al., 2017).

O manejo integrado de pragas combina várias estratégias para serem aplicadas em ambientes agrícolas, priorizando evitar perdas nas culturas sem causar desequilíbrio ecológico. O controle comportamental é uma dessas

estratégias sendo mediado pelo uso de semioquímicos que são atribuídos de diversas vantagens, são produtos atóxicos, espécie específico atuando somente na praga alvo, não provoca acúmulo de resíduo em culturas alimentares e não causam detrimento aos inimigos naturais e polinizadores no campo (ANTONY et al., 2015; WITZGALL et al., 2010; DAMOS et al., 2015; MCGHEE et al., 2014).

2.5 Aplicação do feromônio no MIP

O emprego de feromônio no manejo integrado de praga tem como um de seus propósitos o equilíbrio ecológico. Sua aplicação no ambiente agrícola para controle comportamental de praga é atribuída de finalidades vantajosas decorrente da alta especificidade das substâncias atrativas, sua utilização pode ocorrer de acordo com a necessidade do produtor e pode ter a finalidade de atuar no monitoramento, coleta massal e/ou confundimento sexual (SAHA e CHANDRAN, 2017; BARZMAN et al., 2015).

No monitoramento o feromônio é colocado em armadilhas dispostas no campo para captura de insetos praga verificando a presença, ausência e/ou flutuação populacional das espécies de pragas presentes no ambiente agrícola, atuando como medida preliminar, ou seja, é usada para monitorar e determinar a presença de espécies de praga no campo para definir a tomada de decisão adequada para usar o controle mais conveniente (LARSSON, 2016; ZARBIN et al., 2009).

Quando a necessidade do produtor for manter uma praga alvo abaixo do nível de dano econômico na cultura é possível usar o feromônio na coleta massal e/ou confundimento sexual. Para a coleta massal o feromônio seja sexual e/ou agregação é usado em armadilhas com concentrações específicas, sua distribuição ocorre na área de atuação levando em consideração um determinado número variável de armadilha por hectare em função da praga alvo com acompanhamento regular, o feromônio vai atuar na atração de inseto do sexo oposto, sendo espécie específico (LO et al., 2015; ZARBIN et al., 2009).

O confundimento sexual ocorre com a colocação de feromônio da praga alvo de forma excessiva através de formulações apropriadas e distribuindo as armadilhas com feromônio em diversos pontos para saturar a atmosfera, provocando desorientação no inseto para evitar o acasalamento e uma nova geração (TEWARI et al., 2014; ZARBIN et al., 2009).

Outras finalidades para a aplicação do feromônio também vêm sendo introduzidas como o atrai-e-mata, que consiste numa junção do feromônio com o inseticida. O inseto é atraído para armadilha e morto pela ação do inseticida. Com esta forma de aplicação não há contato do produto com o inseticida minimizando o impacto no ambiente e no produto (TEWARI et al., 2014).

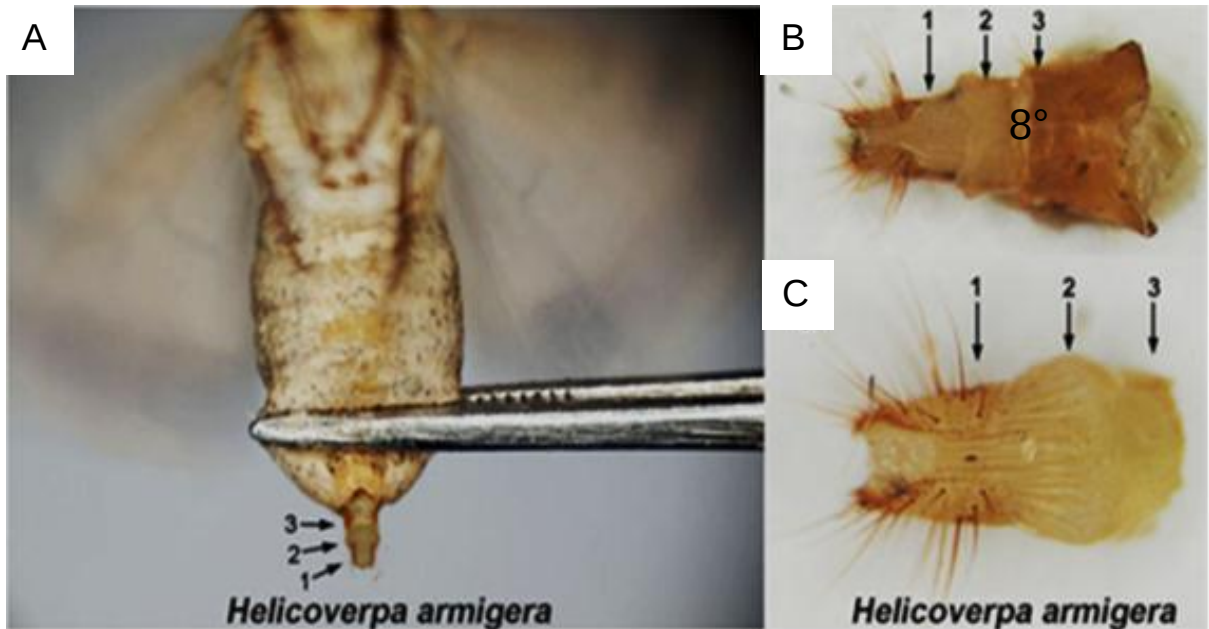
A molécula do feromônio possui a capacidade de atuar de forma específica no sistema biológico do inseto, a toxicidade é baixa não causando efeito deletério aos indivíduos e não provoca a mortalidade do inseto. Devido o potencial elevado da ação biológica dos semioquímicos a quantidade de feromônio usada é mínima (GOULART et al., 2015).

Empresas, pesquisadores e departamentos de pesquisas ligados a universidades estão envolvidos na descoberta e/ou aperfeiçoamento de tecnologias de controle que mantenham a integridade da cultura e o equilíbrio ecológico através de estudos com semioquímicos, mostrando com êxito que o feromônio é uma alternativa satisfatória para o monitoramento e controle de pragas agrícolas, gerando menor impacto sobre a agricultura, com diminuição de gastos com pulverizadores e preservação dos inimigos naturais (PINTO-ZEVALLOS e ZARBIN, 2013). A comercialização desses produtos é uma realidade através de diversas empresas, onde muitos feromônios já estão no mercado para atender a diversos produtores (GOULART et al., 2015; PRETTY e BHARUCHA, 2015; CLAUSEN et al., 2017).

2.6 Produção de feromônio sexual em lepidóptero fêmea

Muitas moléculas identificadas são usadas com êxito no controle comportamental de pragas agrícolas. A produção e a dispersão desses componentes usados para comunicação sexual mediada por fêmeas ocorrem numa região denominada de glândula sexual. Os compostos produzidos atuam na atração a longa distância de insetos coespecíficos do sexo oposto (FOSTER et al., 2014; LU et al., 2017; FOSTER e ANDERSON, 2015). Geralmente, a mariposa fêmea possui a glândula sexual localizada no último segmento abdominal, denominada de membrana intersegmental, que compreende os segmentos finais junto ao ovipositor (Figura 9) (ANDO et al., 2004; FOSTER et al., 2017).

Figura 9 - Dissecação de glândula de *Helicoverpa armigera*. Exposição dos últimos segmentos abdominais (A); corte a partir do 8º segmento abdominal com cutícula esclerótica (3) (B); Sem cutícula esclerótica (C): Remoção da cutícula esclerótica (3), glândula do feromônio (2) e ovipositor (1).



Fonte: LI et al., 2015.

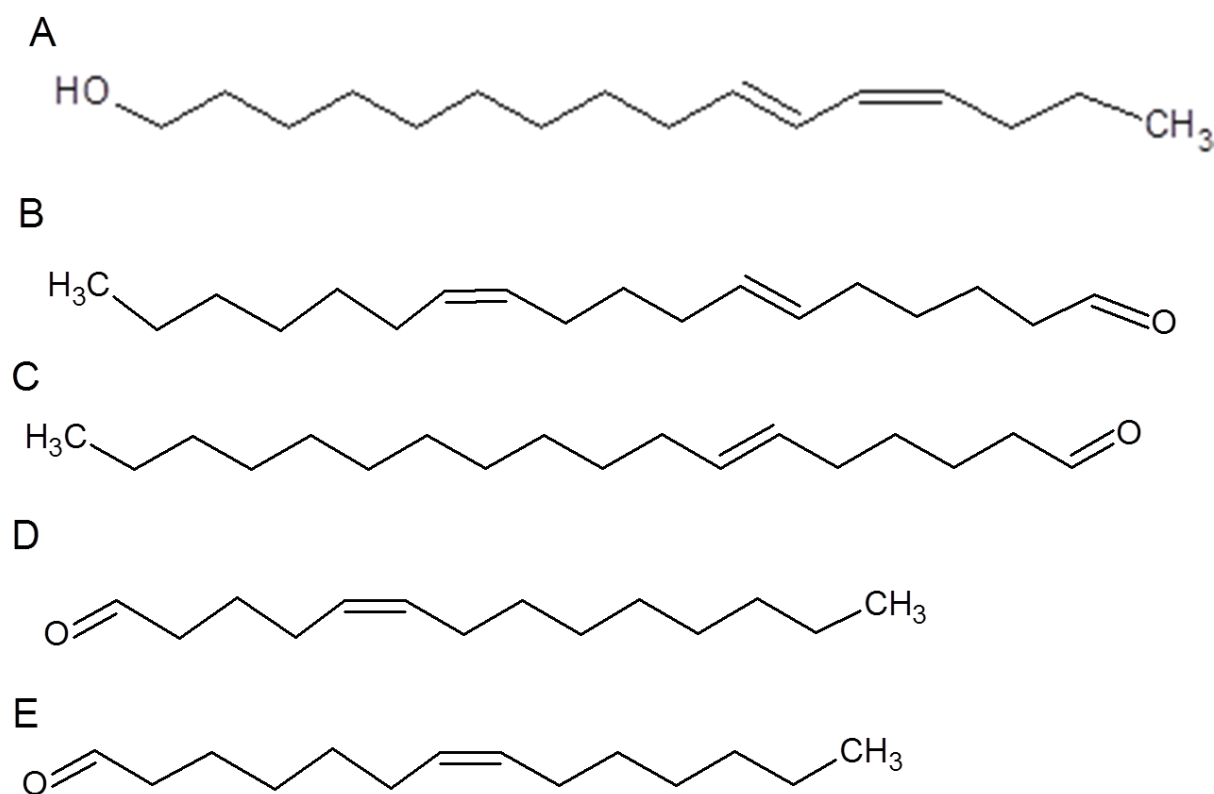
A membrana intersegmental modificada varia morfologicamente. De acordo com sua estrutura numa forma mais simples pode ser atribuída de dobra dorsal, ventral ou dobras laterais quando a membrana apresenta formato glandular, o que origina a denominada glândula de anel (MA et al., 2017a; FOSTER et al., 2017). Nessa região da membrana intersegmental há presença de epitélio glandular responsável pela produção e dispersão dos componentes atrativos. No horário de comportamento sexual do inseto a membrana intersegmental fica em evidência proporcionando a atração do macho com dispersão de odores (MA et al., 2017a)

A mariposa *Bombyx mori* Linnaeu (Lepidoptera: Bombycidae) popularmente conhecida como bicho da seda, foi o primeiro lepidóptero a ter o feromônio sexual isolado em 1950 a partir do extrato de fêmeas virgens (YEW e CHUNG, 2015). O extrato da glândula atraiu os machos dessa espécie para a localização das fêmeas com a finalidade de cópula, cuja molécula ativa identificada foi denominada de Bombicol (*E*, *Z*) 10,12-hexadecadien-1-ol (Figura 10A) (MATSUMOTO, 2010; SAKURAI et al., 2014).

A descoberta do bombicol norteou muitas pesquisas em busca de compostos de atração intraespecífica como feromônio sexual em diversas famílias da ordem

Lepidoptera (ANDO e YAMAKAWA, 2011). Inúmeras espécies de fêmeas da ordem produzem e dispersam no ambiente pluma de odores atrativos ao sexo oposto podendo destacar, por exemplo, a *Actias luna* cujo extrato da glândula sexual atrai macho coespecífico com os compostos (*E*, *Z*) -6,11-octadecadienal e (*E*) -6-octadecenal (Figura 10 B-C) (MILLAR et al., 2016). Em extrato da glândula de fêmeas de *Holocacista capensis* foram identificados os componentes (*Z*) -5-tetradecenal e (*Z*) -7-tetradecenal atraentes para sexo oposto (Figura 10 D-E) (WANG et al., 2015).

Figura 10 - Estrutura molecular dos componentes (*E*, *Z*) -10,12-hexadecadien-1-ol (A); (*E*, *Z*) - 6,11-octadecadienal (B); (*E*) - 6-octadecenal (C); (*Z*) -5-tetradecenal (D) e (*Z*) -7-tetradecenal (E).



2.7 Produção de feromônio em lepidóptero macho

A ordem Lepidoptera possui mariposas e borboletas, desta forma, a comunicação sexual pode ser mediada por fêmeas ou machos (ANDERSSON et al., 2007). A comunicação sexual intermediada pelo macho auxilia na compreensão do comportamento reprodutivo de alguns lepidópteros, principalmente os que

compreendem as espécies das borboletas, nos quais muitos machos são responsáveis pela produção de compostos.

Os machos também são capazes de dispersar voláteis que atraem fêmeas coespecíficas. Essas substâncias são produzidas por células glandulares que podem estar localizadas em distintas partes do corpo do inseto e geralmente estão associadas à androcônia para dispersão desses voláteis (DION et al., 2016). A androcônia pode estar localizada em asa, perna e/ou abdômen do inseto, sua função principal consiste na dispersão de voláteis (odores) para atração de fêmeas coespecíficas para o acasalamento (BACQUET et al., 2014).

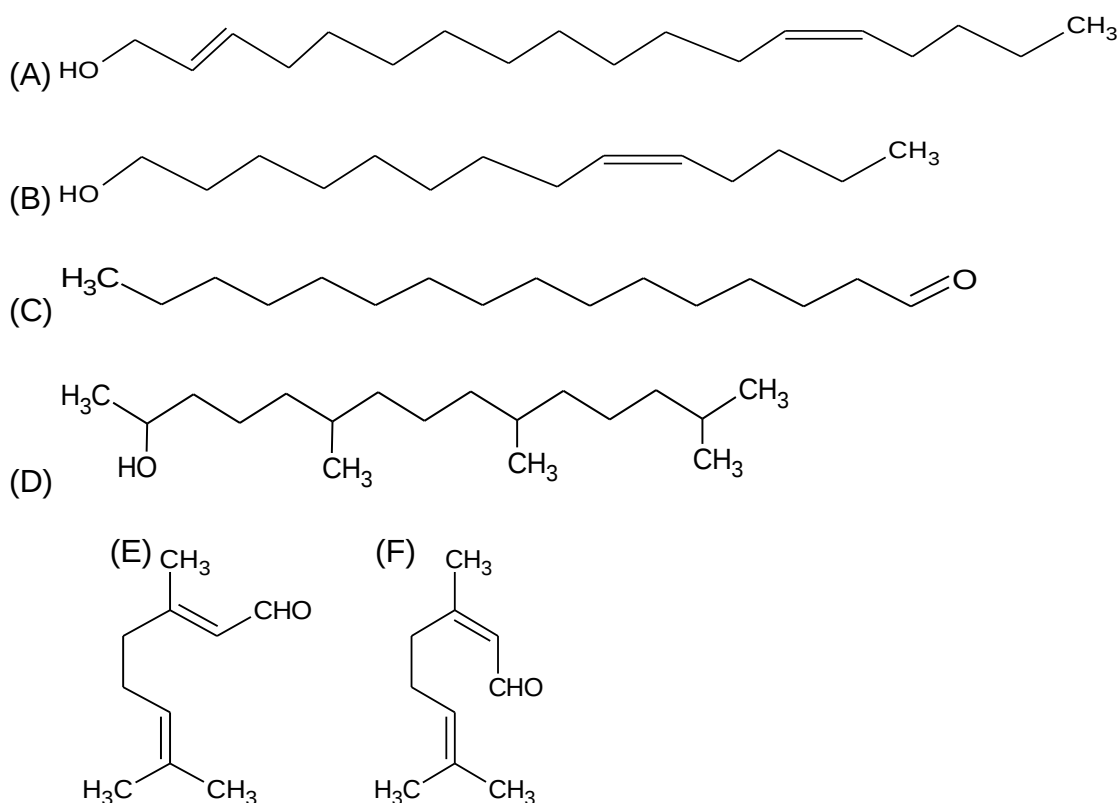
A presença da androcônia em determinada região do corpo do inseto, pode ser indicada pelas suas diversas formas como, escamas similares a uma mancha que podem ter cores diversas, conforme a espécie do inseto ou outras formas variadas como, tufo de pelos e franjas ou dobras (HONDA et al., 2016; SCHULZ et al., 1993). Essas estruturas são indicadas em mariposa e/ou borboleta. Geralmente em mariposas são observadas como tufo de pelos presentes na ponta do abdômen ou órgão reprodutor do macho (HERNÁNDEZ-ROLDÁN et al., 2014). Nas borboletas podem estar dispersas em qualquer parte do corpo do inseto (DION et al., 2016; ÔMURA e YOTSUZUKA, 2015; MONTEYS et al., 2016).

Em alguns machos a região produtora do feromônio fica abaixo das androcônias. Nesta região há presença de células secretoras. Estudos sugerem que a produção do feromônio em macho pode ocorrer em distintas partes do corpo do inseto onde possa haver a presença dessas células como identificado, por exemplo, na asa do inseto *Bicyclus anynana* onde por microscopia eletrônica de transmissão foi possível sugerir a presença dessas células envolvidas na produção de compostos em machos (DION et al., 2016).

A identificação de composto macho específico tem ganhado destaque para muitos lepidópteros. Diversas espécies de borboletas já tiveram suas moléculas caracterizadas dentre as quais é possível destacar algumas espécies como, por exemplo, a *Paysandisia archon* (Castniidae) com tufo de pelo no segundo par de pernas e a produção do (E,Z)-2,13-octadecadienol (Figura 11) (FREROT et al., 2013), *Bicyclus anynana* (Nymphalidae) escamas e tufo de pelo nas asas anteriores e posteriores e a emissão do (Z)-9-tetradecenol, hexadecanal e 6,10,14-trimethylpentadecan-2-ol (Figura 11) (NIEBERGING et al., 2008), *Pieris napi*

(Lepidoptera: Pieridae) neral (2Z)-3,7-dimethylocta-2,6-dienal e geranial (2E)-3,7-dimethylocta-2,6-dienal (Figura 11) (ANDERSSON et al., 2007).

Figura 11 - Estruturas moleculares dos componenetes (E, Z)-2,13-octadecadienol (A), (Z)-9-tetradecenol (B), hexadecanal(C), 6,10,14-trimetilpentadecan-2-ol(D), (2E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (E), (2Z)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (F).



Os voláteis produzidos pelos machos atuam a curta distância e podem ser indispensáveis para atração de parceiros através de feromônios que atuam na atração e/ou para aceitação das fêmeas (DION et al., 2016; DARRAGH et al., 2017). Além disso, há compostos que podem exercer o papel de antiafrodisíaco atuando na repulsão do sexo oposto (HILLIER e VICKERS, 2004; MANN et al., 2017).

Insetos machos possuem alguns compostos similares aos produzidos por fêmeas. Logo, a produção de alguns compostos pode ocorrer através de rota biossintética similar a da fêmea. Além disso, em algumas espécies sugere-se que alguns dos compostos produzidos podem estar relacionados à fonte alimentar

destes insetos como, por exemplo, compostos da classe de terpenos (WANG et al., 2014; BOPPRE´ 1984; SCHULZ, 2005; BORGES et al., 2018).

Em borboletas a atração mediada por machos pode necessitar de algo mais do que a pluma aromática de odores, havendo também a influência de fatores visuais (ROBERTSON e MONTEIRO, 2005). Para esses lepidópteros as cores são atribuídas de funções como, por exemplo, a termorregulação, defesa e sinalização sexual (SCOBLE, 1992). A presença de fatores visuais em conjunto com sinais químicos foi verificada em *Bicyclus anynana* e sugerida como importante para comunicação entre os sexos (CONSTANZO E MONTEIRO, 2007). A reflexão de iridescência de cores UV geralmente ocorre em muitas borboletas que são sensíveis a iridescência, podendo ter influência no comportamento do inseto (SILBERGLIED, 1984; ZHANG et al., 2014). Há borboletas que fazem uso da luz polarizada para sua orientação como, por exemplo, borboletas monarca *Danaus plexippus* (REPPERT et al., 2004; BUTT et al., 2016).

2.8 Estruturas químicas de feromônios para lepidópteros

Muitas classes de moléculas químicas de feromônio já foram identificadas para lepidópteros e suas estruturas variam desde hidrocarbonetos lineares ou ramificados esteres, álcoois, ácidos, epóxidos, cetonas dentre outros (YEW e CHUNG, 2015).

Os insetos também usam como feromônios, moléculas da classe dos terpenos que podem atuar no comportamento do inseto como, por exemplo, (*E*) beta-ocimeno (BORGES et al., 2018) e o hidroxidanaidal (VERÇOSA, 2016).

De acordo com a estrutura os feromônios sexuais de lepidópteros podem ser classificados como feromônio tipo I que corresponde a 75% de moléculas identificadas, que podem ter a presença de álcool primário, acetato e/ou aldeído (ANDO e YAMAKAWA, 2011; MATSUMOTO, 2010).

A biossíntese destes componentes do tipo I pode ocorrer por meio dos ésteres de ácidos graxos saturados como ácido palmítico (C16: ácido) e ácido esteárico (C18: ácido) (MATSUMOTO, 2010; HE et al., 2017; ANTONY et al., 2015). As estruturas da moléculares destes componentes possuem uma cadeia longa e linear com 10 a 18 átomos de carbono, podendo apresentar de 0 a 3 ligações duplas (HE et al., 2017).

Esse grupo representa grande parte das moléculas já identificadas para lepidópteros. Muitos insetos possuem sua estrutura química correspondente a esse grupo tipo I como, por exemplo, a espécie *Diaphania angustalis* que produz uma mistura binária que corresponde ao feromônio sexual com as moléculas (*E,E*)-10,12-hexadecadienal e (*E,E*)-10,12-hexadecadien-1-ol (MA et al., 2017b). Em *Graellsia isabellae* (Lepidoptera: Saturniidae) (*E,E,Z*)-4,6,11-hexadecatrienal (Figura 12) é o composto do feromônio sexual (MILLAR et al., 2010).

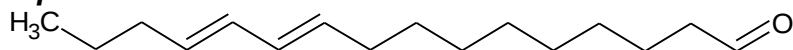
O segundo grupo é classificado como tipo II tem 15% das moléculas identificadas e seus componentes são caracterizados pela presença de 17 a 25 átomos de carbono e tem sua estrutura constituída por esqueletos de cadeia longa insaturada com grupo funcional de polieno e / ou epóxido (MATSUMOTO, 2010; ANDO E YAMAKAWA, 2011).

O componente tipo II é formado por meio de uma rota biossintética que parte do ácido linolênico e linoleico. Esses compostos possuem de 1 a 4 ligações duplas e 0 a 2 epóxidos. Suas estruturas químicas são hidrocarbonetos poli-insaturados, dienos e trienos (Z6: Z9) e (Z3: Z6: Z9) ou seus derivados epoxy (Figura 12) (KIYOTA et al., 2011).

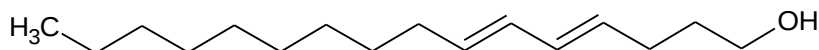
Para ordem Lepidoptera componentes classificados como tipo II foram identificados para alguns insetos como, por exemplo, os compostos (Z, Z, Z) - 3, 6, 9-octadecatrieno e 6,7-epoxi- (Z, Z) -3,9-octadecadieno produzidos por ambas os insetos *Ectropis grisescens* (MA et al., 2016) e *Ectropis obliqua* Prout (Figura 12) (YANG et al., 2016).

Figura 12. Estruturas químicas de compostos identificados e classificados como feromônio tipo I, II e outros.

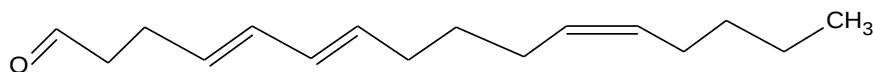
Tipo I



(*E,E*)-10,12-hexadecadienal

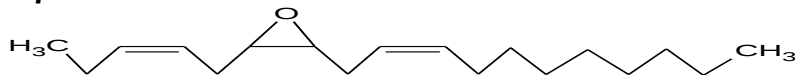


(*E,E*)-10,12-hexadecadien-1-ol

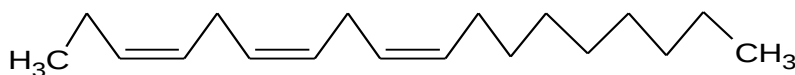


(E,E,Z)-4,6,11-hexadecatrienal

Tipo II



(Z,Z)-3,9-6,7- epoxyoctadecadiene (Z3Z9-6,7-epo-18:Hy)



(Z,Z,Z)-3,6,9-octadecatriene (Z3Z6Z9-18:Hy)

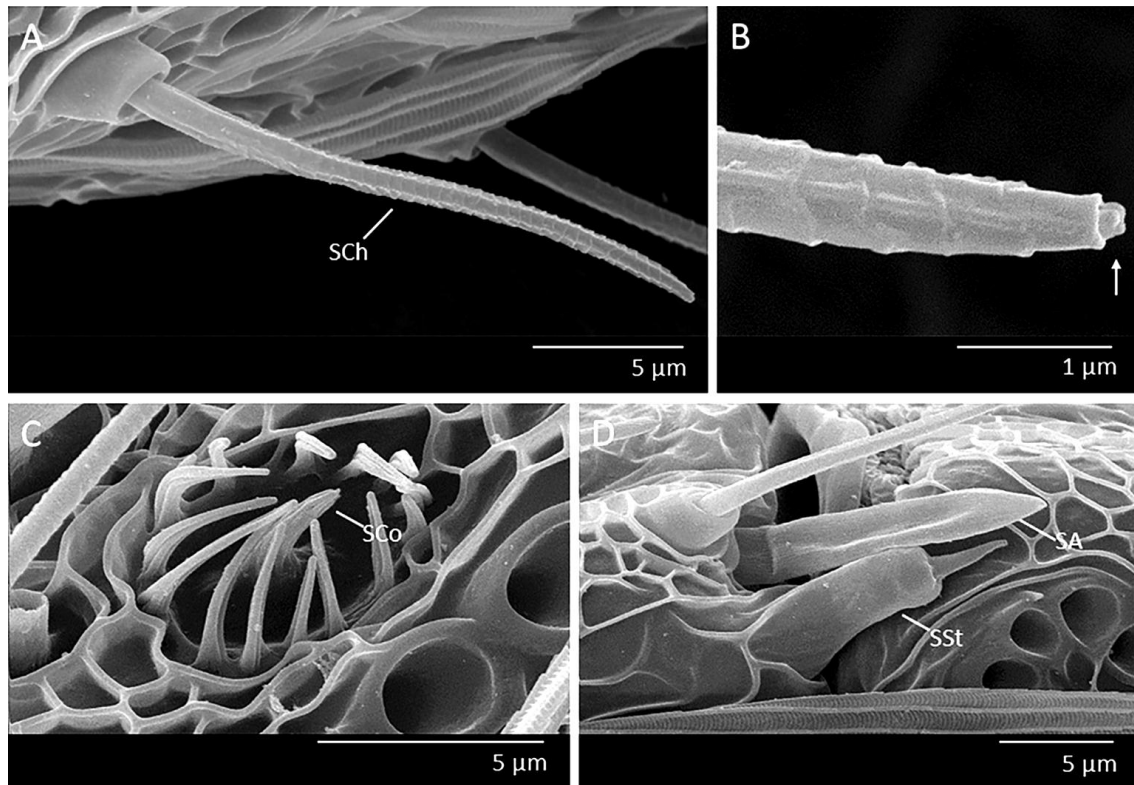
Quando os compostos liberados por lepidópteros não se encaixam nos grupos tipo I ou tipo II, integram um grupo pequeno de moléculas identificadas como diversos ou outros (ANDO e YAMAKAWA, 2011).

2.9 Antena: sistema olfativo e sensorial do inseto

A antena tem um papel importante para o sistema olfativo e sensorial do inseto, sua superfície é constituída por diversas sensilas que possuem distintas funções. Uma das principais funções das sensilas é a percepção das moléculas químicas dispersas no ambiente que proporcionam a comunicação química entre os insetos, essenciais para a sobrevivência no ambiente (SUH et al., 2014; LI et al., 2017).

O órgão olfativo compreende diversos tipos de sensilas como trocóides, caéticas, estilocônica, esquamiforme, coelocônica, basicônica e auricíllica dentre outras (figura 13). Alguns tipos de sensilas são atribuídos de parede cuticular porosa que tem relação com a função olfativa atuando no reconhecimento de moléculas de odores, outras são aporosas podendo atuar na percepção de fatores como temperatura e umidade (ZHENG et al., 2014; SCHNEIDER E RÖMER, 2016).

Figura 13. Tipologia das sensilas da *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae): sensila caética (SCH) (A-B), sensila coelocônica (SCo) (C), sensila auriclica (SA) (D), sensila estilocônica (SSt) (D).



BAWIN et al., 2017.

Essas sensilas diferem entre si de acordo com sua estrutura morfológica que corresponde a funções biológicas específicas que atuam no sistema olfativo e/ou sensorial do inseto (Tabela 1) (ZHENG et al., 2014; BAWIN et al., 2017). As sensilas podem ser classificadas como quimiorreceptora, mecanorreceptora, termo e higrorreceptoras (GUIDOBALDI et al. 2011). Essas estruturas podem variar entre as espécies. Para a *Tuta absoluta* uma importante praga da cultura do tomate que teve suas antenas analisadas por microscopia eletrônica de varredura, várias sensilas foram caracterizadas com distintas funções conforme exposto na tabela 1.

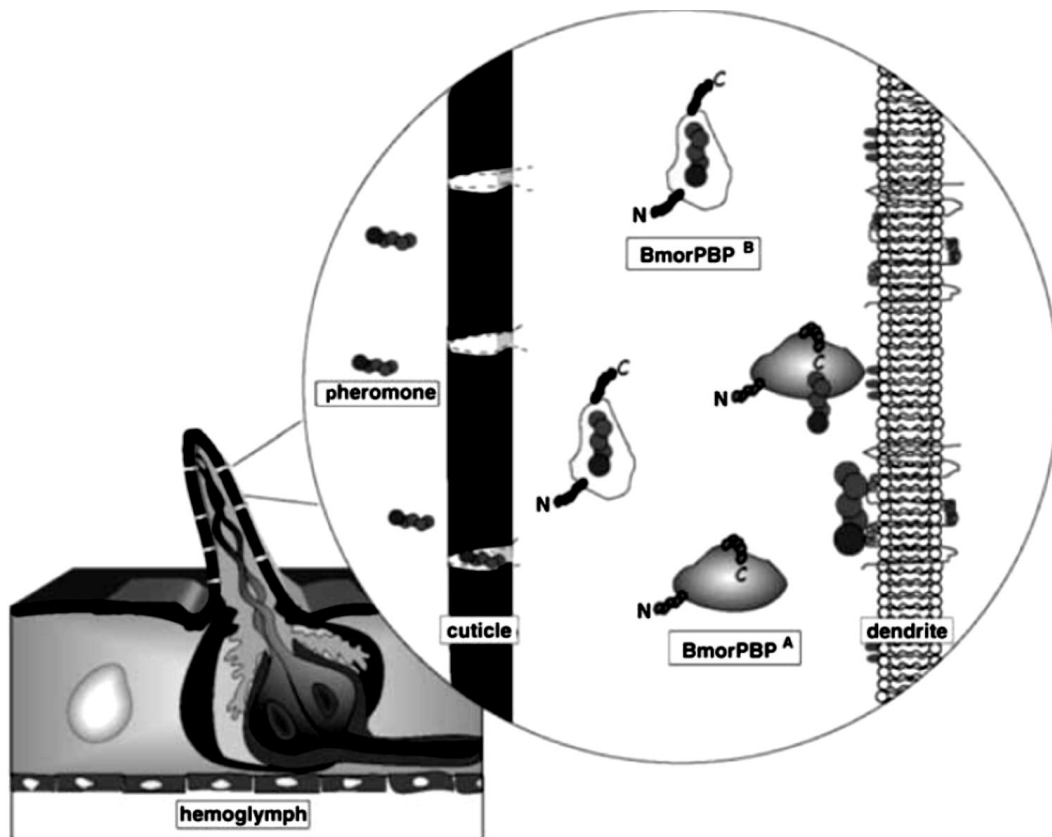
Tabela 1. Tipos e funções das sensilas em *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae).

Tipo de sensila	Função
Cerdas de Böhm (Böhm, 1911)	Mecanorreceptores
Squamiformia	Mecanorreceptores
Caéticas	Mecanorreceptora e/ou quimiorreceptoras
Tricodea	Percepção das feromônios sexuais, receptores olfatórios que são sensíveis aos voláteis da planta
Basicônica	Odores de plantas
Coelocônica	Função olfativa: volátil da folha verde, monoterpene, álcool e compostos aromáticos, exceto feromônios. Função quimio, hidro e termorreceptoras.
Auricíllica	Deteção volátil da planta e de feromônio
Estiloconica	Termo e higo receptores

Fonte: Adaptado BAWIN et al., 2017.

A função quimiorreceptora é essencial para o reconhecimento da molécula de odor (feromônio), na proporção adequada capaz de desencadear atividade comportamental no sexo oposto. Para que ocorra o reconhecimento do sinal de odor, as moléculas odoríferas penetram os poros presentes nas sensilas (Figura 14). Como os componentes de odores (feromônios) possuem caráter hidrófobico seu transporte pela linfa sensilar é mediado por proteínas ligante de odores OBPs caracterizadas por serem proteínas globulares solúveis (HANSSON e STENSMYR, 2011). As moléculas são transportadas até os receptores de odores (ORs) presentes nos dendritos, havendo assim sua ativação. Essa passagem desencadeia uma série de eventos que geram impulsos nervosos promovendo atividade comportamental (BRITO et al., 2016).

Figura 14. Transporte de moléculas de odores em sensilas quimiorreceptoras.



Fonte: Leal, 2005.

A linfa sensilar é um meio aquoso onde se encontram diversas proteínas solúveis, neste meio há enzimas degradantes de odores, proteínas de ligação dos odorantes e receptores de odor dentre outros, que compreendem o sistema periférico olfativo dos insetos, que atua na percepção de odores envolvidos na comunicação química (LEAL, 2013; BRITO et al., 2016).

O sistema olfativo tem um papel importante para identificação de semioquímicos principalmente em testes eletrofisiológicos e comportamentais corroborando com a seleção de moléculas eletrofisiologicamente ativas e permitindo compreender sua função para o comportamento e sobrevivência do inseto (MA et al., 2017a; BAWIN et al., 2017).

2.10 Referências

- AGELE, S. O., AIYELARI, P., & FRIDAY, C. Effects of shading, irrigation and mycorrhizal inoculation on growth and development of oil palm *Elaeis guineensis* Jacq.(Magnoliophyta: Arecaceae) seedlings in the nursery. *Brazilian Journal of Biological Sciences*, 4(7), 113-126.2017.
- ALDANA, R.C.; CALVACHE, H.; HIGUERA O. Manejo integrado de *Cyparissius daedalus* (Cramer) en los Llanos Orientales. *Palmas* 25(2) (Especial) (2004).
- ALVARADO-MORENO, H. L.; ALDANA, R. C.; BARRERA, E. I.; MARTÍNEZ, L. C. Y.; BUSTILLO, A. E. Ciclo de vida y tasa de consumo de *Euprosterna elaeasa* Dyar (Lepidoptera: Limacodidae) defoliador de la palma de aceite. *Palmas*, 35(1), 41-51. 2014.
- ANDERSSON, J., BORG-KARLSON, A. K., VONGVANICH, N., & WIKLUND, C. Male sex pheromone release and female mate choice in a butterfly. *Journal of Experimental Biology*, 2007. 210(6), 964-970. doi:10.1242/jeb.02726
- ANDO, T., & YAMAKAWA, R. Analyses of lepidopteran sex pheromones by mass spectrometry. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 30(7), 990-1002. 2011.
- ANDO, T., INOMATA, S. I., & YAMAMOTO, M. Lepidopteran sex pheromones. In *The Chemistry of Pheromones and Other Semiochemicals I* , (pp. 51-96). 2004.
- ANTONY, B.; SOFFAN, A.; JAKŠE, J.; ALFAIFI, S.; SUTANTO, K. D.. ALDOSARI, S. A.; ALDAWOOD, A. S.; PAIN, A. Genes involved in sex pheromone biosynthesis of *Ephestia cautella*, an important food storage pest, are determined by transcriptome sequencing. *BMC Genomics*, . 16(1), 532. <http://doi.org/10.1186/s12864-015-1710-2>. 2015.
- ARRUDA, J. C.; SILVA, C. J.; SANDER, N. L. Conhecimento e uso do babaçu (*Attalea speciosa* mart.) por quilombolas em Mato Grosso. *Fragmentos de cultura*, Goiânia, v. 24, n. 2, p. 239-252, abr./jun. 2014.
- BACQUET, P. M. B., BRATTSTRÖM, O., WANG, H. L., ALLEN, C. E., LÖFSTEDT, C., BRAKEFIELD, P. M., & NIEBERDING, C. M. Selection on male sex pheromone composition contributes to butterfly reproductive isolation. In *Proc. R. Soc. B*, (Vol. 282, No. 1804, p. 20142734). The Royal Society. 2014.
- BARBOSA, M. L. L.; FERREIRA, I. A.; FONSECA, C. R. V.; GOUVEIA, F. B. P.. Cholini (Coleoptera: Curculionidae: Molytinae) housed in the Invertebrate Collection

- of the Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Brazil. *Acta Amaz.* [online]. vol.41, n.3, pp. 401-408. ISSN 0044-5967. 2011
- BARZMAN, M.; BÀRBERI, P.; BIRCH, A. N. E.; BOONEKAMP, P.; DACHBRODT-SAAAYDEH, S.; GRAF, B.; HOMMEL, B.; JENSEN, J. E.; KISS, J.; KUDSK, P.; LAMICHHANE, J. R.; MESSÉAN, A.; MOONEN, A.; RATNADASS, A.; RICCI, P.; SARAH, J.; SATTIN, M. Eight principles of integrated pest management. *Agronomy for sustainable development*, 35(4), 1199-1215. DOI 10.1007/s13593-015-0327-9. 2015
- BAWIN, T., COLLARD, F., DE BACKER, L., YAROU, B. B., COMPÈRE, P., FRANCIS, F., & VERHEGGEN, F. J. Structure and distribution of the sensilla on the antennae of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Micron*, 96, 16-28. 2017.
- BEAUDOIN-OLLIVIER, L. et al. Some Representative Palm Pests: Ecological and Practical Data. Handbook of Major Palm Pests: Biology and Management, p. 1-38, <https://doi.org/10.1002/9781119057468.ch1>. 2017.
- BECK, J. J.; TORTO, B.; VANNETTE, R. L. Eavesdropping on plant–insect–microbe chemical communications in agricultural ecology: a virtual issue on semiochemicals. 2017.
- BENAMI, E. et al. Oil palm land conversion in Pará, Brazil, from 2006–2014: evaluating the 2010 Brazilian Sustainable Palm Oil Production Program. *Environmental Research Letters*, v. 13, n. 3, p. 034037, 2018.
- BERNARDINO, A. S. Flutuação populacional da broca-da-coroa-foliar *Eupalamides cyparissias* (Lepidoptera: Castniidae) em plantios de dendê (*Elaeis guineenses*) no estado Pará. 2007. 37f. Dissertação (Pós-graduação em Entomologia). Universidade Federal de Viçosa-MG. 2007.
- BOPPRÉ, M. Chemical communication, plant relationships, and mimicry in the evolution of danaid butterflies. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, v. 24, n. 3, p. 264-277, 1978.
- BORGES, A.; COLLICCHIO, E.; CAMPOS, G. A cultura da palma de óleo (*Elaeis guineenses* Jacq.) no Brasil e no mundo: aspectos agronômicos e tecnológicos - Uma revisão. *Revista Liberato*. Novo Hamburgo, v. 17, n. 27, p. 01-118, jan./jun. 2016.
- BORGES, E. D. O., MARTINS, C. B., DA SILVA, R. R., & ZARBIN, P. H. Terpenoids dominate the bouquet of volatile organic compounds produced by *Passiflora edulis* in

response to herbivory by *Heliconius erato phyllis* (Lepidoptera: Nymphalidae). *Arthropod-Plant Interactions*, 12(1), 123-131. 2018.

BRITO, N. F., MOREIRA, M. F., & MELO, A. C. A look inside odorant-binding proteins in insect chemoreception. *Journal of insect physiology*, 2016. 95, 51-65. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinsphys.2016.09.008> . 0022-1910

BROKAMP, G., VALDERRAMA, N., MITTELBACH, M. et al. Trade in Palm Products in North-Western South America. *Bot. Rev.* 77: 571. <https://doi.org/10.1007/s12229-011-9087-7>. 2011.

BUTT, H. et al. Morpho Butterfly-Inspired Nanostructures. *Advanced Optical Materials*, v. 4, n. 4, p. 497-504, 2016.

BUTT, H. et al. Morpho Butterfly-Inspired Nanostructures. *Advanced Optical Materials*, v. 4, n. 4, p. 497-504, 2016.

CAMPOS, R. J. C. et al. Caracterização de quintais agroflorestais e perfil do mantedor nas zonas urbanas de três municípios do oeste do Pará. *Cadernos de Agroecologia*, v. 13, n. 1, 2018.

CLAUSEN, A. S., JØRS, E., ATUHAIRE, A., & THOMSEN, J. F. Effect of Integrated Pest Management Training on Ugandan Small-Scale Farmers. *Environmental health insights*, 11, 1178630217703391. <https://doi.org/10.1177/1178630217703391>. 2017.

COCK, M. J. W. *Automeris liberia* (Cramer)(Lepidoptera: Saturniidae) in Trinidad. *Living World, Journal of the Trinidad and Tobago Field Naturalists' Club*, 2005.

COMOGLIO, L.; RACHELI, L. Biology of *Automeris jucunda* (Lepidoptera: Saturniidae, Hemileucinae) with taxonomic notes on *A. hamata* subgroup. *Journal of Insect Biodiversity* 4(22): 1-7, 2016.

CORRÊA, D.C.V. “Biodiversidade de Sphingidae (Lepidoptera) nos biomas brasileiros, padrões de atividade temporal diária e áreas prioritárias para conservação de Sphingidae e Saturniidae no Cerrado”. 2017. 179f. Dissertação (Pós-Graduação em Ecologia). Universidade de Brasília-DF. 2017.

COSTA, D. L. Estudo Químico e Morfológico da broca-da-coroa-foliar *Eupalamides cyparissias* (Fabricius, 1776) (Lepidoptera: Castniidae). 2015. 145f. Tese (Pós-Graduação em Química e Biotecnologia). Universidade Federal de Alagoas-AL. 2015.

COSTA, K. R. et al. Caracterização e Importância das Espécies Vegetais Produzidas na Comunidade Santa Rosa, Capanema/PA, com Ênfase na Agroecologia. *Cadernos de Agroecologia*, v. 13, n. 2, p. 1-10, 2018.

COSTANZO, K.; MONTEIRO, A.. The use of chemical and visual cues in female choice in the butterfly *Bicyclus anynana*. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, v. 274, n. 1611, p. 845-851, 2007.

CREMONEZ, P. A., FEROLDI, M., NADALETI, W. C., DE ROSSI, E., FEIDEN, A., DE CAMARGO, M. P., ... & KLAJN, F. F. (2015). Biodiesel production in Brazil: current scenario and perspectives. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 42, 415-428. (2015).

CYSNE, A. Q.; CRUZ, B. A.; CUNHA, R. N. V.; ROCHA, R. N. C. Flutuação populacional de *Rhynchophorus palmarum* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) em palmeiras oleíferas no Amazonas. *Acta Amaz.* [online]. vol.43, n.2, pp. 197-202. ISSN 0044-5967.2013

DAL MOLIN, I. L.; BARRETO, M. R. Occurrence and control of weevils in *Cocos nucifera* L. in Sinop, Mato Grosso. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*, Londrina, v. 33, n. 1, p. 53-64, jan./jun. 2012.

DAMOS, P.; ESCUDERO COLOMAR, L.-A.; & IORIATTI, C. Integrated Fruit Production and Pest Management in Europe: The Apple Case Study and How Far We Are From the Original Concept? *Insects*. (2015). 6(3), 626–657. <http://doi.org/10.3390/insects6030626> . ISSN 2075-4450.

DARRAGH, K., VANJARI, S., MANN, F., GONZALEZ-ROJAS, M. F., MORRISON, C. R., SALAZAR, C., PARDO-DIAZ, C., MERRILL, R. M., MCMILLAN, W. O., SCHULZ, S., & JIGGINS, C. D. Male sex pheromone components in *Heliconius* butterflies released by the androconia affect female choice. *PeerJ*, 2017. 5, e3953.

DE LA TORRE, L. et al. Contrasting palm species and use diversity in the Yucatan Peninsula and the Ecuadorian Amazon. *Biodiversity and Conservation*, v. 18, n. 11, p. 2837-2853, 2009.

DELGADO, C., & COUTURIER, G. *Eupalamides cyparissias* in the Peruvian Amazon. *Palms*, 47(2). (2003).104-106. ISSN 1523-4495.

DION, E., MONTEIRO, A., & YEW, J. Y. Phenotypic plasticity in sex pheromone production in *Bicyclus anynana* butterflies. *Scientific reports*, 2016. 6, 39002.

- DOMAGAŁA, P. J.; GONZÁLEZ, J. M.; ZIAJA, D. J.; DOBOSZ, R. Castniidae (Lepidoptera) in the collection of the Museum and Institute of Zoology Polish Academy of Sciences in Warsaw. *Annals of the upper silesian museum in bytom entomology*. Vol. 26 (online 004): 1–11. 2017. ISSN 0867-1966, eISSN 2544-039X (online).
- FARIAS, M. P. de. Caracterização do desenvolvimento floral de *Elaeis oleífera* (H.B.K) Cortés. 2013. 73 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.
- FERREIRA, J. M. S. Manejo integrado de pragas do coqueiro. *Ciência Agrícola*, v8, n1, p.21-29. 2008.
- FOSTER, S. P., & ANDERSON, K. G. Sex pheromones in mate assessment: analysis of nutrient cost of sex pheromone production by females of the moth *Heliothis virescens*. *Journal of Experimental Biology*, 2015. 218(8), 1252-1258.
- FOSTER, S. P., ANDERSON, K. G., & CASAS, J. Sex pheromone in the moth *Heliothis virescens* is produced as a mixture of two pools: de novo and via precursor storage in glycerolipids. *Insect biochemistry and molecular biology*, 87, 26-34. 2017.
- FOSTER, S. P., ANDERSON, K. G., & HARMON, J. P. Increased allocation of adult-acquired carbohydrate to egg production results in its decreased allocation to sex pheromone production in mated females of the moth *Heliothis virescens*. *Journal of Experimental Biology*, . 217(4), 499-506. 2014
- FRAGOSO, M.; LAMEIRA, V.; GUEDES, A. C. Avaliação da disponibilidade da força de trabalho nos estabelecimentos agrícolas familiares para a cultura da palma, no Nordeste Paraense. *Cadernos de Agroecologia* – ISSN 2236-7934 – Vol 8, No. 2, Nov 2013.
- FRÉROT, B.; DELLE-VEDOVE, R.; BEAUDOIN-OLLIVIER, L.; ZAGATTI, P.; DUCROT, PH.; GRISON, C.; HOSSAERT, M.; PETIT, E. Fragrant legs in *Paysandisia archon* males (Lepidoptera, Castniidae). *Chemoecology*. 2013. 23:137–142
- FURUMO, P. R., & AIDE, T. M. Characterizing commercial oil palm expansion in Latin America: land use change and trade. *Environmental Research Letters*, 12(2), 024008. (2017).
- GAZEL FILHO, A. B. Ocorrência da broca-do-bulbo (*Strategus aloeus*, Coleóptera: Scarabeidae) em pupunheira (*Bactris gasipaes* H.B.K.) no Amapá. Embrapa Amapá. Comunicado Técnico N° 50, p.1-3, ISSN 1517-4077, nov/2000.

- GÓMEZ, J. P. Lepidopterismo y erucismo en Colombia. *Revista Biosalud*. 2014; 13(2): 59-83.
- GONZÁLEZ, J. M.; FERNÁNDEZ-YÉPEZ, F. Lista preliminar de las especies de Castniinae (Lepidoptera: Castniidae) del Parque nacional “Henri Pittier”, Venezuela. Diagnósis y comentarios. Memorias de la Sociedad de Ciencias Naturales La Salle, v. 53, n. 139, p. 47-53, 1993.
- GONZÁLEZ, J. M. et al. O gigante borboleta-traça do campo Museu de História Natural, Chicago, com notas sobre a coleção de strecker herman (Lepidoptera: Castniidae). SHILAP Revista de lepidopterología , v. 38, n. 152, 2010.
- GONZÁLEZ, J. M.; COCK, M. J. W. A synopsis of the Castniidae (Lepidoptera) of Trinidad and Tobago. *Zootaxa*, v. 762, p. 1-19, 2004.
- GOULART, H. F., LIMA, M. R. F., DE MORAIS, R. K., & BERNARDO, V. B. Feromônios: uma alternativa verde para o manejo integrado de pragas. *Revista Virtual de Química*, 2015. 7(4), 1205-1224.
- GROOT, A. T., DEKKER, T., & HECKEL, D. G. The genetic basis of pheromone evolution in moths. *Annual review of entomology*, 2016. 61, 99-117.
- GUIDOBALDI, F., MAY-CONCHA, I. J., & GUERENSTEIN, P. G. Morphology and physiology of the olfactory system of blood-feeding insects. *Journal of Physiology-Paris*, 2014. 108(2-3), 96-111.
- GUNN, B.F., BAUDOUIN L, O.L.,SEN, K.M. Independent Origins of Cultivated Coconut (*Cocos nucifera* L.) in the Old World Tropics. *PLoS ONE* 6(6): e21143. (2011) doi:10.1371/journal.pone.0021143
- HANSSON, B. S., & STENSMYR, M. C. Evolution of insect olfaction. *Neuron*, 2011. 72(5), 698-711.
- HE, P., ZHANG, Y. F., HONG, D. Y., WANG, J., WANG, X. L., ZUO, L. H., TANG, X., XU, W., & HE, M. A reference gene set for sex pheromone biosynthesis and degradation genes from the diamondback moth, *Plutella xylostella*, based on genome and transcriptome digital gene expression analyses. *BMC genomics*, 2017. 18(1), 219. DOI 10.1186/s12864-017-3592-y
- HERNÁNDEZ-ROLDÁN, J. L., BOFILL, R., DAPPORTO, L., MUNGUIRA, M. L., & VILA, R. Morphological and chemical analysis of male scent organs in the butterfly genus *Pyrgus* (Lepidoptera: HesperIIDae). *Organisms Diversity & Evolution*, 2014. 14(3), 269-278.

- HEYDUK, K.; TRAPNELL, D. W.; BARRETT, C.F.; LEEBENS-MACK, J. Phylogenomic analyses of species relationships in the genus *Sabal* (Arecaceae) using targeted sequence capture. *Biological Journal of the Linnean Society*, 2016, 117, 106–120.
- HILLIER, N. K., & VICKERS, N. J. The role of heliothine hairpencil compounds in female *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) behavior and mate acceptance. *Chemical Senses*, 2004. 29(6), 499-511.
- HONDA, K., HONDA, Y., MATSUMOTO, J., TSURUTA, Y., YAGI, W., ÔMURA, H., & HONDA, H. Production and sex-pheromonal activity of alkaloid-derived androconial compounds in the danaine butterfly, *Parantica sita* (Lepidoptera: Nymphalidae: Danainae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 119(4), 1036-1059. 2016.
- KIYOTA, R., ARAKAWA, M., YAMAKAWA, R., YASMIN, A., & ANDO, T. Biosynthetic pathways of the sex pheromone components and substrate selectivity of the oxidation enzymes working in pheromone glands of the fall webworm, *Hyphantria cunea*. *Insect biochemistry and molecular biology*, 2011. 41(6), 362-369. doi:10.1016/j.ibmb.2011.02.004. 0965-1748.
- KORYTKOWSKI GUILLÉN, C. A.; RUÍZ, E. R. El barreno de los racimos de la palma aceitera, *Castnia daedalus* (Cramer), Lepidopt.: Castniidae, en la plantación de Tocache-Perú. (Dic 1979) v. 22 (1) p. 49-62.
- KRUG, C.; BITTENCOUT, D.M.C.; BARCELOS, E.; RODRIGUES, M.R.L. ; ANGELO, P.C.S. ; ROCHA, R.N.C.; CUNHA, R.N.V. ; QUISEN, R.C. ; LOPES, R. ; RIOS, S. A.; LIMA, W.A.A. Plano estratégico da Embrapa Amazônia Ocidental para a cultura do dendezeiro. Manaus: EMBRAPA (Documentos, 102), 73 p. 2013.
- KUSS, V.V.; KUSS, A. V.; ROSA, R.G.; ARANDA, D. A. G.; CRUZ, Y. R. Potential of biodiesel production from palm oil at Brazilian Amazon. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 50. (2015).1013–1020.
- LARA-PÉREZ, L. A.; CAMPOS-DOMÍNGUEZ, J.; DÍAZ-FLEISCHER, F.; ADAME-GARCÍA, J.; ANDRADE-TORRES, A. Species richness and abundance of Saturniidae (Lepidoptera) in a tropical semi-deciduous forest of Veracruz, Mexico and the influence of climatic variables. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 88 (2017) 173–182.
- LARSSON, M. C. Pheromones and other semiochemicals for monitoring rare and endangered species. *Journal of chemical ecology*, v. 42, n. 9, p. 853-868, 2016. <https://doi.org/10.1007/s10886-016-0753-4>

- LEAL, W. S. Odorant reception in insects: roles of receptors, binding proteins, and degrading enzymes. *Annual review of entomology*, 58, 373-391. 2013
- LEAL, W. S. Pheromone Reception. *Topics in Current Chemistry* 240: 1–36. 2005. DOI 10.1007/b98314
- LEMOS, W. P. L.; TINÔCO, R. S.; RIBEIRO, R. C.; VILELA, E. F.; ZANUNCIO, J. C. Ocorrência de *Cotesia* sp. (Hymenoptera: Braconidae) parasitando imaturos de *Acharya nesea* (STOL) (Lepidoptera: Limacodidae) em plantios de dendezeiro no Pará. In.: Anais... XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA. Uberlândia, MG. 24 a 29 de agosto 2008.
- LEMOS, W.P.; BOARI, A. J. Manejo de pragas e doenças para a cultura de palma de óleo na Amazônia. In. Zoneamento agroecológico, produção e manejo para a cultura da palma de óleo na Amazônia. 1ª edição. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2010.222 p.
- LI, Z. Q., LUO, Z. X., CAI, X. M., BIAN, L., XIN, Z. J., LIU, Y., ... & CHEN, Z. M. Chemosensory gene families in *Ectropis grisescens* and candidates for detection of type-II sex pheromones. *Frontiers in physiology*, 8, 953. 2017.
- LI, Z. Q., Zhang, S., Luo, J. Y., Wang, C. Y., Lv, L. M., Dong, S. L., & Cui, J. J. Transcriptome comparison of the sex pheromone glands from two sibling *Helicoverpa* species with opposite sex pheromone components. *Scientific reports*, 5, 9324. 2015.
- LIMA, E. B. C. et al. *Cocos nucifera* (L.)(Arecaceae): A phytochemical and pharmacological review. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 48, n. 11, p. 953-964, 2015.
- LIMA-MENDONÇA, A., MENDONÇA, A. DE L., SANTANA, A. E. G., Do Nascimento, R. R. Semioquímicos de moscas das frutas do genero *Anastrepha*. *Química Nova*, 37(2), (2014). 293-301. <http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20140050>
- LO, P. L.; WALKER, J. TS; SUCKLING, D. M.. Prospects for the control of apple leaf midge *Dasineura mali* (Diptera: Cecidomyiidae) by mass trapping with pheromone lures. *Pest management science*, v. 71, n. 7, p. 907-913, 2015.
- LU, Q., HUANG, L. Y., LIU, F. T., WANG, X. F., CHEN, P., XU, J., D E N G, J. & YE, H. Sex pheromone titre in the glands of *Spodoptera litura* females: circadian rhythm and the effects of age and mating. *Physiological Entomology*, 2017. 42(2), 156-162. DOI: 10.1111/phen.12185

- MA, M., CHANG, M. M., LU, Y., LEI, C. L., & YANG, F. L. Ultrastructure of sensilla of antennae and ovipositor of *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae), and location of female sex pheromone gland. *Scientific reports*, 7, 40637. 2017a.
- MA, T., LIU, Z., WANG, C., ZHANG, S., SHI, X., SUN, Z., CHEN, X., JIA, C., WANG, C., HE, Y., & WEN, X. Production, identification, and field evaluation of sex pheromone from calling females in *Diaphania angustalis* (Lepidoptera: Crambidae). *Environmental Science and Pollution Research*, . 24(31), 24485-24493. DOI 10.1007/s11356-017-0119-7. 2017b.
- MA, T., XIAO, Q., YU, Y. G., WANG, C., ZHU, C. Q., SUN, Z. H., CHEN, X., & WEN, X. J. Analysis of tea geometrid (*Ectropis grisescens*) pheromone gland extracts using GC-EAD and GC× GC/TOFMS. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64(16), 3161-3166. DOI: 10.1021/acs.jafc.6b00339.2016.
- MANN, F., VANJARI, S., ROSSER, N., MANN, S., DASMAHAPATRA, K. K., CORBIN, C., LINARES, M., PARDO-DIAZ, C., SALAZAR, C., JIGGINS, C., & SCHULZ, S. The scent chemistry of Heliconius wing androconia. *Journal of chemical ecology*, 43(9), 843-857. 2017.
- MARTÍNEZ, L. C. ; PLATA-RUEDA, A.; SERRAO, J. E. ; ZANUNCIO, J. C. Life History Traits and Damage Potential of an Invasive Pest *Acharia fusca* (Lepidoptera: Limacodidae) on Oil Palm. *Annals of the Entomological Society of America* 107(6):1086-1093. <https://doi.org/10.1603/AN13102>. 2014.
- MATSUMOTO, S. Molecular mechanisms underlying sex pheromone production in moths. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 74(2), 223-231. 2010.
- MCGHEE, P.S.; GUT, L.J.; MILLER, J.R. Aerosol emitters disrupt codling moth, *Cydia pomonella*, competitively. *Pest Manag Sci*. 2014, 70, 1859–1862.
- MEDEIROS, R. D. ; MESQUITA, J. B. Criação de indicadores para a avaliação da ação da resinose do estipe (*Ceratocystis paradoxa* (De Seynes) Moreau) em coqueiro (*Cocos nucifera* L.). *Scientia Plena* 10, 029902. 2014.
- MEIRA, M., QUINTELLA, C. M., RIBEIRO, E. M. O., SILVA, H. R. G., & GUIMARÃES, A. K. Overview of the challenges in the production of biodiesel. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 5(3), 321-329. DOI 10.1007/s13399-014-0146-2. 2015.
- MILLAR, J. G.; MCELFRISH, J. S.; ROMERO, C.; VILA, M.; MARÍ-MENA, N.; LOPEZ-VAAMONDE, C. Identification of the Sex Pheromone of a Protected Species,

- the Spanish Moon Moth *Graellsia isabellae*. *Journal of Chemical Ecology*, 36(9), 923–932. <http://doi.org/10.1007/s10886-010-9831-1>. 2010.
- Millar, J. G., Haynes, K. F., Dossey, A. T., McElfresh, J. S., & Allison, J. D. Sex attractant pheromone of the luna moth, *Actias luna* (Linnaeus). *Journal of chemical ecology*, 42(9), 869-876. (2016).
- MONTEYS, V. S. I.; QUERO, C.; SANTA-CRUZ, MC.; ROSELL, G.; GUERRERO, A. Sexual communication in day-flying Lepidoptera with special reference to castniids or 'butterfly-moths'. *Bull Entomol Res.*106:421–431. 2016.
- MÜLLER, A. A.; SILVA, A. B.; DE SOUZA, L.A.; BUECKE, J.; GUIMARÃES, L. G.; SILVA, J. S.O.; VALE, M. P.; UNS, P. M. P.; OHASHI, O. S. Controle químico de lagartas de *Eupalamides dedalus* em dendezeiros. *Comun. téc.* N° 38, , p.1-4. Dezembro/2000
- MURPHY, D. J. The future of oil palm as a major global crop: opportunities and Challenges. *Journal of Oil Palm Research*. Vol. 26 (1). p. 1- 24. 2014.
- NIEBERDING, C. M., DE VOS, H., SCHNEIDER, M. V., LASSANCE, J. M., ESTRAMIL, N., ANDERSSON, J., BANG, J., HEDENSTROM, E., LOFSTEDT, C., & BRAKEFIELD, P. M. The male sex pheromone of the butterfly *Bicyclus anynana*: towards an evolutionary analysis. *PLoS One*, 3(7), e2751. doi:10.1371/journal.pone.000275. 2008.
- OKINO-DELGADO, Clarissa H.; PRADO, Debora Z.; FLEURI, Luciana F. Brazilian fruit processing, wastes as a source of lipase and other biotechnological products: a review. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 90, n. 3, p. 2927-2943, 2018.
- OLIVEIRA, T. A. de; LEMOS, W. de P.; TINOCO, R. S.; MARTINS, I. C. F. Lepidópteros desfolhadores de palma-de-óleo no Estado do Pará. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 434). Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2018a.
- OLIVEIRA, T. A. de et al. Validation of the sampling methodology for *Opsiphanes invirae* caterpillars on oil palm plantations in the Brazilian Amazon. *Ciência Rural*, v. 48, n. 7, 2018b.
- Ômura, H., & Yotsuzuka, S. Male-specific epicuticular compounds of the sulfur butterfly *Colias erate poliographus* (Lepidoptera: Pieridae). *Applied Entomology and Zoology*, 50(2), 191-199. 2015.
- PARRALES, Dumar Ariel; VARGAS-FONSECA, Sergio Andrés. Mariposas-polilla gigantes (Lepidoptera: Castniidae: Castniinae) en la Colección Entomológica del

Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Biota Colombiana, v. 18, n. 2, p. 180-189, 2018.

PATIL, Umesh; BENJAKUL, Soottawat. Leite de coco e óleo de coco: sua fabricação associada à funcionalidade de proteínas. Journal of food science , v. 83, n. 8, p. 2019-2027, 2018.

PÉREZ, D. D.; IANNACONE, J. Mortalidad y repelencia en *Eupalamides cyparissias* (Lepidoptera: Castniidae), plaga de la palma aceitera *Elaeis guineensis*, por efecto de diez extractos botánicos. Revista de la Sociedad Entomológica Argentina, v. 67, n. 1-2, p. 41-48, 2008.

PÉREZ, D., & IANNACONE, J. Comportamiento e infestación de *Eupalamides cyparissias* (Fabricius)(Lepidóptera: Castniidae) en palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacquin, Areacaceae) en la Amazonía peruana. Revista Peruana de Entomología, 45, 135-137. 2006.

PINTO-ZEVALLOS, D. M., & ZARBIN, P. H. A química na agricultura: perspectivas para o desenvolvimento de tecnoloagias sustentáveis. Química Nova, 36(10), 1509-1513. 2013.

PIRKER, J.; MOSNIER, A.; KRAXNER, F.; HAVLÍK, P.; OBERSTEINER, M. What are the limits to oil palm expansion? Global Environmental Change, 40, 73–81. 2016.

PRETTY, J., & BHARUCHA, Z. P. Integrated pest management for sustainable intensification of agriculture in Asia and Africa. Insects, 6(1), 152-182. 2015.

PUKER, A.; Rodrigues, S. R.; Tiago, E. F.; Santos, W. T. Espécies de Scarabaeidae fitófagos (Insecta: Coleoptera) associadas ao sistema radicular de *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart. (Arecaceae). Biota Neotropica, vol. 9, no. 3. 2009.

QUERO, C.; SARTO I MONTEYS, V.; ROSELL, G.; PUIGMARTÍ, M.; & GUERRERO, A. Sexual communication in castniid moths: Males mark their territories and appear to bear all chemical burden. PLoS ONE, 12(2), e0171166. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0171166>. 2017.

RAMALHO FILHO, A.; MOTTA, P. E. F. Contexto e objetivos do Zoneamento Agroecológico para a Cultura da Palma de Óleo nas Áreas Desmatadas da Amazônia Legal. In. Zoneamento Agroecológico, Produção e Manejo para a Cultura da Palma de Óleo na Amazônia. Embrapa Solos, 222 p.1ª edição. 2010.

REBOUÇAS, LÚCIA M. C.; CARACIOLO, M. DO S. B.; SANT'ANA, A. E. G.; PICKETT, J. A.; WADHAMS, L. J.; POW, E. M. Composição química da glândula abdominal da fêmea da mariposa *Castnia licus* (Drury) (Lepidoptera:Castniidae):

possíveis feromônios e precursores. *Química Nova*, 22(5), 645-648. <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-40421999000500003>. 1999.

REPPERT, S. M.; ZHU, H.; WHITE, R. H. Polarized light helps monarch butterflies navigate. *Current Biology*, v. 14, n. 2, p. 155-158, 2004.

RIBEIRO, R. C.; LEMOS, W. P. ; CASTRO, A. A. ; PODEROSO, J.C.M. ; SERRÃO, J. E. ; ZANUNCIO, J. C. *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae): a potential biological control agent of lepidopteran pests of oil palm in the Brazilian Amazon. *Fla. Entomol.* 2013. 96: 675–677.

RIBEIRO, R. C.; LEMOS, W. P.; BERNARDINO, A. S.; BUECKE, J. MÜLLER, A. A. Primeira Ocorrência de *Alcaeorrhynchus grandis* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae) Predando Lagartas Desfolhadoras do Dendzeiro no Estado do Pará. *Neotropical Entomology*. 39(1): 131-132. 2010. ISSN 1519-566X.

ROBERTSON, K. A.; MONTEIRO, A. Female *Bicyclus anynana* butterflies choose males on the basis of their dorsal UV-reflective eyespot pupils. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, v. 272, n. 1572, p. 1541-1546, 2005.

RULL, V., & MONTOYA, E. *Mauritia flexuosa* palm swamp communities: natural or human-made? A palynological study of the Gran Sabana region (northern South America) within a neotropical context. *Quaternary Science Reviews*, 99, 17-33. (2014).

SAHA, T., & CHANDRAN, N. Chemical ecology and pest management: A review. *IJCS*, (2017). 5(6), 618-621. INSS 2349–8528

SAKURAI, T., NAMIKI, S., & KANZAKI, R. Molecular and neural mechanisms of sex pheromone reception and processing in the silkworm *Bombyx mori*. *Frontiers in physiology*, 2014. 5, 125.

SANTANA, C.C.; NASCIMENTO, J.S.; COSTA, M. M.; DA SILVA, A. T.; DORNELAS, C. B.; GRILLO, L.A.M. Avaliação do desenvolvimento e reservas energéticas de larvas de *Rhynchophorus palmarum* (Coleoptera: Curculionidae) em diferentes dietas. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 1981-1160 ISSN eletrônico: 1981-0997 Vol. 9, n. 2, p. 205-209, 2014.

SARLES, L., VERHAEGHE, A., FRANCIS, F., & VERHEGGEN, F. J. Semiochemicals of *Rhagoletis* fruit flies: potential for integrated pest management. *Crop Protection*, (2015). 78, 114-118.

SCHNEIDER, E. S., & RÖMER, H. Sensory structures on the antennal flagella of two katydid species of the genus *Mecopoda* (Orthoptera, Tettigonidae). *Micron*, 2016. 90, 43-58.

SCHULTZ, J. Compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante de açaís de *Euterpe edulis* Martius e *Euterpe oleracea* Martius submetidos a tratamentos para sua conservação. Trabalho de conclusão de curso. Agronomia, Centro de ciências agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina. p.52. Florianópolis, junho de 2008.

SCHULZ, S. (Ed.). The chemistry of pheromones and other semiochemicals II. Springer Science & Business Media, 2005.

SCHULZ, S., BOPPRÉ, M., & VANE-WRIGHT, R. Specific mixtures of secretions from male scent organs of African milkweed butterflies (Danainae). *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, 342(1300), 161-181. 1993.

Scoble, M. J. The Lepidoptera. Form, function and diversity. Oxford University Press. 1992.

SILBERGLIED, R. t E. Visual communication and sexual selection among butterflies. The biology of butterflies, 1984.

SILVA, A. de B. et al. Injeção de inseticidas no estipe de dendezeiros para controle de lagartas de *Eupalamides dedalus* (Cramer)(Lepidoptera: Castniidae). Embrapa Amazônia Oriental-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E), 2003.

SILVA, P. H. S.; CARNEIRO, J. S. Ocorrência da broca-do-dendezeiro nas microrregiões de Picos, Parnaíba e Teresina – Piauí. *Comunicado 127*. Embrapa. Setembro, 2001, Teresina, PI, ISSN 0104-7647.

SOSNOWSKA, J.; BALSLEV, H.. American palm ethnomedicine: A meta-analysis. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, v. 5, n. 1, p. 43, 2009.

SOUZA, F. F. L.; GUAREZ, A. P.; CAIRES, S.M. Catalogação da Família Arecaceae (Palmáceas) do município de Juína/MT. Jornada científica IFAL-CAMPUS JUÍNA. Nov. 2013.

SOUZA, R. M. Sinais envolvidos na comunicação de *Amerrhinus ynca* Sahlberg, 1823 (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE). 2006. Dissertação de Mestrado. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. p.131. 2006.

- SPECHT, A.; FORMENTINI, A. C.; CORSEUIL E. Biologia de *Automeris illustris* (Walker) (Lepidoptera, Saturniidae, Hemileucinae). *Rev. Bras. Zool.* 2006 ; 23(2): 537-546. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-81752006000200029>
- SPECHT, A.; FORMENTINI, A. C.; CORSEUIL, E. Biologia e aspectos morfológicos dos estágios imaturos de *Automeris naranja* Schaus (Lepidoptera, Saturniidae, Hemileucinae). *Rev. Bras. Zool.* 2007 ; 24(3): 523-534. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-81752007000300001>
- SUH, E., BOHBOT, J. D., & ZWIEBEL, L. J. Peripheral olfactory signaling in insects. *Current opinion in insect science*, 2014. 6, 86-92. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cois.2014.10.006> 2214-5745
- TEWARI, S. et al. Use of pheromones in insect pest management, with special attention to weevil pheromones. In: Integrated Pest Management. p. 141-168. 2014.
- TINÔCO, R. S. Determinação do nível de dano econômico para *Opsiphanes invirae* Hübner, 1808 (Lepidoptera: Nymphalidae) em palma de óleo. 2016. 66f. Tese (Doutorado em Agronomia) Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, 2016.
- TINÔCO, R. S. Inimigos naturais e lepidópteros desfolhadores associados à *Elaeis guineensis* Jacq., na agropalma, Amazônia brasileira. 2008.58 f. Dissertação (Pós-Graduação em Entomologia). Universidade Federal de Viçosa. MG. 2008.
- VASQUEZ, J.; DELGADO, C.; COUTURIER, G.; MEJIA, K.; FREITAS, L.; CASTILLO, D. Pest insects of the palm tree *Mauritia flexuosa* L.f., dwarf form, in Peruvian Amazonia. *Fruits* , 2008.63: 227–238.
- VERÇOSA, D. Variação geográfica e temporal de defesas em *Crotalaria pallida* (Fabaceae: Papilionoideae: Crotalarieae).2016. 93f. Tese (doutorado em Biologia Vegetal) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia. 2016.
- VILLELA, A. A., D'ALEMBERT, B. J., ROSA, L. P., & FREITAS, M. V. Status and prospects of oil palm in the Brazilian Amazon. *Biomass and bioenergy*, 67, 270-278. (2014).
- WANG, H. L., GEERTSEMA, H., VAN NIEUKERKEN, E. J., & LÖFSTEDT, C. Identification of the female-produced sex pheromone of the leafminer *Holocacista capensis* infesting grapevine in South Africa. *Journal of chemical ecology*, 41(8), 724-731. 2015.
- WANG, X. Y., ZHOU, L. H., ZHONG, T. AND XU, G. Q. Genetic variation, phylogeographic structure of *Spodoptera exigua* in the welsh onion-producing areas of North China. *J. Appl. Entomol.*, 2014. 138: 612–622. doi:10.1111/jen.12102

- WITZGALL, P.; KIRSCH, P.; CORK, A. Sex Pheromones and Their Impact on Pest Management. *J Chem Ecol.* 2010, 36, 80–100.
- YAHYA, M., LEE, H. V., ZAIN, S. K., & HAMID, S. A. Chemical conversion of palm-based lignocellulosic biomass to nano-cellulose. *Polymers Research Journal*, 9(4), 385. (2015).
- YANG, Y., ZHANG, L., GUO, F., LONG, Y., WANG, Y., & WAN, X. Reidentification of sex pheromones of tea geometrid *Ectropis obliqua* Prout (Lepidoptera: Geometridae). *Journal of economic entomology*, 2016. 109(1), 167-175. doi: 10.1093/jee/tov282
- YEW, J. Y., & CHUNG, H. Insect pheromones: An overview of function, form, and discovery. *Progress in lipid research*, 2015. 59, 88-105.
- ZARBIN, P. H., RODRIGUES, M. A., & LIMA, E. R. Feromônios de insetos; tecnologia e desafios para uma agricultura competitiva no Brasil Insect pheromones; technology and challenges for a competitive agriculture in Brazil. *Química Nova*, (2009). 32(3), 722-731.
- ZHANG, K. et al. Polarization-sensitive color in butterfly scales: polarization conversion from ridges with reflecting elements. *Optics Express*, v. 22, n. 22, p. 27437-27450, 2014.
- ZHENG, H., LIU, H., GUO, S., YAN, Y., ZONG, S., & ZHANG, J. Scanning electron microscopy study of the antennal sensilla of *Catocala remissa*. *Bulletin of Insectology*, 2014. 67(1), 63-71.

CAPITULO I

07/02/2019

ScholarOne Manuscripts



Annals of the Entomological Society of America

[Home](#)[Author](#)[Review](#)

Submission Confirmation

[Print](#)

Thank you for your submission

Submitted to

Annals of the Entomological Society of America

Manuscript ID

AESA-2019-0018

Title

Eupalamides cyparissias (Fabricius, 1776) (Lepidoptera: Castniidae) is problematic for Arecaceae culture: Perspectives on control

Authors

Silva, Kelly
 Costa, Danielle
 Silva, Chrysiene
 Goulart, Henrique
 Santana, Antônio Euzébio

Date Submitted

07-Feb-2019

[Author Dashboard](#)

Annals of the Entomological
Society of America

Miss Kelly B. da Silva
LPqRN- UFAL. Av Lourival
Melo Mota, S/N - Tabuleiro dos
Martins, 57072-900
Maceió, Alagoas, Brasil.
Telephone: +55 82 3214 1388
E-mail:
kelly.barbosa.silva@gmail.com

Eupalamides cyparissias (Fabricius, 1776) (Lepidoptera: Castniidae) is problematic
for Arecaceae culture: Perspectives on control

Kelly Barbosa da Silva^{1*}, Danielle de Lima Costa¹, Chryslane Barbosa da Silva¹,
Henrique Fonseca Goulart^{1,2}, Antônio Euzébio Goulart Santana^{1,2}

¹ Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais - LPqRN, Universidade Federal de Alagoas – UFAL, 57072-970, Maceió, Alagoas, Brazil.

² Centro de Ciências Agrárias – CECA, Universidade Federal de Alagoas – UFAL, BR 104, s/n, 57100-000, Maceió, Alagoas, Brazil.

^{1*} Corresponding author, e-mail: kelly.barbosa.silva@gmail.com

Abstract: *Eupalamides cyparissias* (Fabricius, 1776) (Lepidoptera: Castniidae) is considered a pest that attacks plants of the family Arecaceae. The boring caterpillar affects the production, for example, of the coconut palm, oil palm and buriti, and because the insect bores inside the plant, traditional control methods are inefficient because insecticides cannot reach the larvae. Market and industrial concerns about environmental issues, raw material quality and production have sought to create sustainable technologies for monitoring and pest control via chemical ecology. Although studies have developed methods of containing the damage caused by this lepidopteran, the efficiency of such methods remains low and the pest is still a problem. Thus, the adoption of innovative technologies associated with behavioural control linked to integrated pest management has considerable prospects in the very near future.

Keywords: caterpillar; biology; chemical ecology; control and pest monitoring.

The Arecaceae family includes palm trees and represents the third-most important botanical family to man (Johnson 1988; Soares et al., 2014). These plants are among the oldest in the world and have a more concentrated distribution in the tropical and subtropical regions, and they are among the main monocotyledons and have approximately 200 genera and more 2,000 species (Soares, et al., 2014). With a diversity of species of economic interest such as the oil palm, coconut and buriti, the culture of Arecaceae continues to expand. These plants generate employment and income in various industries, such as fuel, cosmetics, pharmaceuticals and food (Aldana et al. 2004; Delgado and Couturier, 2003; Barcelos et al., 2015, Pham and Smith 2014).

The value of the products and by-products of plants from the Arecaceae family has contributed to the continued expansion of these crops in several countries; however, this growth is in a state of vulnerability due to phytosanitary problems. The presence of insect pests that negatively affect agriculture has led to a reduction in yield production (Kuss et al., 2015; Silva-Brandão et al., 2013; Vasquez et al., 2008).

From a commercial perspective, production has been affected by several pests, such as Coleoptera, including *Rhynchophorus palmarum*, *Rhynchophorus ferrugineus* and *Rhinostomus barbirostris* (Curculionidae), and Lepidoptera, including *Opsiphanes*

invirae (Nymphalidae) and *Eupalamides cyparissias* (Castniidae) (Al-Dosary et al., 2016; Faleiro et al., 2016; Reis et al., 2018; Silva et al., 2015; Vasquez et al., 2008; Wakil et al., 2015). The negative impacts of these pests increasingly affect monocultures because they decrease the value of raw material, thereby affecting small and large producers (Paini et al., 2016).

The Lepidoptera order comprises many species that are economically important pests. The damage caused by insects of this order can interrupt important plant development processes; for example, leaf stripper caterpillars reduce the leaf area, thereby affecting the photosynthesis process, and boring caterpillars cause the formation of cavities that prevent the transport of nutrients important for the plant and increase the vulnerability of the plant to secondary pests and microorganisms (Tinôco, 2016; Perez and Iannaccone, 2006; Korytkowski & Ruiz, 1979). The greatest challenge is to contain the growth of the pests because insecticide use has a high cost and introduces negative factors, such as the creation of dependence, development of resistant insects and eradication on the natural enemy populations in the field (Barzman et al., 2015, Damos 2015).

Among the insect pests within the Lepidoptera order that cause problems for the agricultural sector, particularly the production of Arecaceae, a particularly important pest is *E. cyparissias* Fabricius, which is part of the Castniidae family. This family has a small number of species distributed in the neotropical region, Australia and Southeast Asia (Quero et al., 2017).

E. cyparissias (Fabricius, 1776) (Lepidoptera: Castniidae) is a borer insect in the caterpillar phase that has a preference for certain plants of the Arecaceae family (Palm oil, Coqueiro and Buriti) (Delgado and Couturier, 2003; González and Stüning, 2007). The main damage occurs in the stipe, and it leads to the abortion of bunches on the plant and can ultimately cause the death of the plant. This insect has the potential to cause disasters because of the associated economic losses to crop production (Korytkowski & Ruiz, 1979).

Considering the damages caused by the pest and the economic importance of the Arecaceas crop, integrated management strategies must be developed for this pest based on behavioural studies and new control methods to minimize the negative impacts of the insect in agricultural environments.

Castniidae family

The Castniidae is a small family of the Lepidoptera order that includes approximately 113 species. Some of these species are characterized by their similar coloration, behaviour and habits as the butterflies that live in the same locality, and in some cases, they are called "butterflies" (Gonzalez and Worthy, 2017, Quero et al., 2017). Castniids have day or twilight habits (Moraes et al., 2009; Monteys and Aguilar 2005; Monteys et al., 2016; Vinciguerra 2011; Vinciguerra 2008). The caterpillars mostly feed on the sprouts, bunches and roots of plants of several families, especially Arecaceae, followed by Bromeliaceae, Musaceae, Heliconiaceae, Orchidaceae and Poaceae (González and Fernández-Yépez

1993; González and Cock 2004; Douglas 2004; González et al., 2017).

Many Castniids are distributed in countries such as Peru, Colombia, Ecuador, Venezuela, Bolivia, French Guiana, Mexico and Brazil; thus, they are mostly dispersed in the Neotropics, Asia and Australia (Gonzalez and Stüning 2007, Gonzalez and Worthy 2017, Hernández- Baz et al., 2012, Williams et al., 2016). In Australia, the tribe Synemoniini consists of approximately 24 species of Castniids. In the Neotropics, approximately 31 genera and 88 species constitute the two Gazerini and Castniini tribes of the Castniids, which are mostly known for their variety of colours (Moraes and Duarte 2014).

Among the species of this family classified as pests is *E. cyparissias*, which shows rapid dispersion and adaptation and is important as an insect with pest potential for plants of the Arecaceae family (Pérez and Iannacone 2008; Vasquez et al., 2008).

***Eupalamides cyparissias* (Fabricius, 1776): Biology**

E. cyparissias is also known as *Eupalamides daedalus* and by common denominations such as borers of palm stems and crown-leaf borer (González and Stüning 2007; Liégeois et al., 2016; La Torre et al., 2004; Vinciguerra, 2011). This insect presents development with the following phases: egg, caterpillar, pre-pupa, pupa and adult (Figure 1). Its longest phase is the caterpillar phase, which occurs in the interior of the host plant stem, where it causes the most damage (Costa 2015; Korytkowski and Ruiz, 1979).

Life cycle

Females of *E. cyparissias* have eggs that are 5-6 mm long and 2 mm wide and appear similar to a rice grain. The egg phase until hatching lasts from 14 to 22 days and averages approximately 17 days (Monteys et al., 2005; Korytkowski and Ruiz 1979). The caterpillar phase includes 14 instars, and the average duration of this phase is 233 days, although variations may occur due to the breeding environment and climatic conditions (Monteys and Aguilar 2005; Korytkowski and Ruiz 1979).

When they are close to the last instar, the caterpillars are directed from the inside of the plant to the outside, thus initiating the pre-pupae stage; the fibres and organic matter of the plant are used to generate cocoons, in which the pre-pupal formation stage is completed over an average of 19 days (Korytkowski and Ruiz 1979). After formation, the pupal phase lasts for approximately 30 days. The pupae are initially light brown, although this tonality changes as the adult phase approaches, and at this stage, the sexual ratio can be distinguished. Sexual dimorphism is visible in the pupal phase with the presence of two evident protuberances in the last segments of the male's abdomen; these are absent in the female (Korytkowski and Ruiz 1979). Before emergence, the pupae are located horizontally in the oil palm rachis in an inclined position at the base of the petiole of the host plant (Bernadino 2007; Costa 2015; Korytkowski and Ruiz 1979).

Korytkowski and Ruiz (1979) describe a twilight habit among the adult insects, including flights in the early morning and late afternoon. Adults have a life span of 12-18 days (average 15 days), and the wingspans of these large lepidopterans vary from 17-20 cm in females and 17-18 cm in males. Dimorphism in the adult phase can be seen in the posterior wing near the thorax, which presents a frenulum consisting of a single row in the male and an elongated bristle tuft in the female (Figure 2). The development of this insect can vary under different climatic conditions, such as temperature and humidity, as well as under different breeding and dietary environments (Costa 2015; Korytkowski & Ruiz 1979).

Injury in Arecaceae from *Eupalamides cyparissias*

The level of economic damage generated by high populations of pests in the field

leads to the loss of raw material quality and the reduction of production, which causes financial losses to the agricultural producer (Frérot et al., 2013, Goulart et al., 2015, Silva-Brandão et al., 2013).

Agribusiness involving certain species of plants in the Arecaceae family, such as oil palm, buriti and coconut cultivation, which serves the food, biofuel and beauty industries, generates income and work in many countries (Delgado and Couturier 2003; Muller et al., 2000). The production of these crops is threatened by the presence of *E. cyparissias*. This lepidopteran is a pest that causes economic losses to the commercial production of raw oil palm, buriti and coconut palm material in countries such as Brazil, Peru and Colombia (Aldana et al., 2004; Pérez and Iannacone 2006; Pérez and Iannacone 2008; Kuss et al., 2015).

This lepidopteran threatens the production of these plants and causes a loss of quality of the fruits and mortality of the plant (Santos 2010). The impact caused by the caterpillar of *E. cyparissias* reduces the quality of the product by contaminating the raw material, thereby decreasing the production. The population expansion and behaviour of this insect makes it an important pest because of the reduced viability of crops (Perez and Iannacone 2006; Korytkowski and Ruiz 1979).

Feeding caterpillars perforate the plant and produce large cavities that weaken the plant and interrupt the transportation of essential nutrients required for plant development and survival (Hamidi and Frérot 2016; Monteys and Aguilar 2005). The main parts of the plant affected are the stipe and/or bunches, and meristematic internal vessels that allow for the transportation of nutrients are also severely damaged. In the more advanced stages in which the plant presents a large infestation of the caterpillar, rotting and even total loss of the plant can occur (Figure 3) (Monteys and Aguilar 2005; Perez and Iannacone 2006).

The damage caused by this Castniid affects crops directly and indirectly. Direct damage is caused by the cavities and large internal perforations generated by the feeding habit of the pests, and indirect damage is associated with the increased susceptibility of the plant to attack by other pests because the high putrefaction state generated by the direct attack causes host plants to disperse attractive odours to other pests, such as the *Rhynchophorus palmarum* coleopteran, and may lead to secondary infections caused by fungi and other microorganisms (Bernadino 2007; Costa 2015; Korytkowski and Ruiz 1979). The insect's feeding habit in the caterpillar

stage protects it from exposure to external agents because the insect remains within the cavity formed inside the plant (Korytkowski and Ruiz 1979; Perez and Iannaccone 2006).

Control

Due to concerns about the expansion of *E. cyparissias* and damage to crops, large and small producers have sought alternative control strategies to minimize losses through integrated pest management methods. Methods that do not affect the natural enemies of the species in the field and do not leave residues in the raw material and the environment can contribute to sustainable agriculture (Ruschioni et al., 2015; Goulart et al., 2015). Voracious infestation by *E. cyparissias* necessitates research into the efficient control and monitoring of this pest via behavioural techniques.

Chemical control

According to Muller et al. (2000), a variety of insecticides that use water as a solvent have been tested for the control of *E. cyparissias*. These insecticides were applied to the plant in the leaf crown. The highest experimental efficiency against *E. cyparissias* infestation 10 days after spraying the product was observed with 0.1% acephate and carbaryl insecticides. Silva et al. (2003) performed tests with insecticides and perforation-based application techniques in the host plant (oil palm) and showed that these methods were not efficient for the control of *E. cyparissias* caterpillars and that drilling into the plant to apply the insecticide weakened the plant for production.

Biological control

Previous reports have described parasitoid tests for the control of *E. cyparissias*. La Torre et al. (2004) described parasitoid tests that used the genus *Ooencyrtus* sp. (Hymenoptera: Encyrtidae) to contain the pest expansion, and Korytkowski and Ruiz (1979) described the parasitisation of eggs by *Ooencyrtus* sp. under field conditions, although the level of infestation was low. Insects such as ants and spiders are adult predators in the field (Costa 2015).

Mechanical control

Mechanical control has been used to minimize pest infestation in the field by agricultural producers and industry; however, this control strategy requires a considerable amount of manpower. Mechanical control has been used to reduce the level of pest infestation on the plant by removing pupae located on the stipe of the plant with hooks (Aldana et al., 2004). Adults are also collected, which prevents damage to the host plant by preventing the start of a new pest cycle in the field. The collection of adults within an entomological network also helps to control infestation because it prevents mating and reproduction (Costa 2015; Korytkowski and Ruiz 1979).

Biopesticide

Extracts from plants with the potential for biopesticide have been used to kill and repel *E. cyparissias* caterpillars within 24 hours of exposure. Work was carried out in Peru, and aqueous extracts obtained from the species *Sacha yoco* (*Paullinia clavigera*), *Achiote* (*Bixa orellana*) and *Yuquilla* (*Euphorbia cotinifolia*) caused mortality to caterpillars in the initial instar stage at rates of 63.3%, 63.3% and 48.3%, respectively, and the repellence rate observed in treatments with *Achiote*, *Sacha yoco* and *Floripondio* (*Brugmansia x candida*) was 83.3%, 75% and 66.7%, respectively (Pérez and Iannacone 2008).

Perez et al. (2010) generated four extracts from the bark of the plant *Paullinia clavigera* D. R. Simpson, and their toxicological potential against the caterpillars of *E. cyparissias* was considered satisfactory. An extract obtained by decoction and hydroalcoholic extraction showed mortality rates of 70.71% and 66.21%, respectively, which presented an LC_{50} at 72 hours.

Relevance of semiochemicals in pest management

The expansion, development and modernization of agriculture are limited by insect pests in several countries, and new control strategies using semiochemicals represent sustainable technology for agriculture (Bayram and Tonğa 2018; Peshin

2013; Wezel et al., 2014). In recent years, environmental and economic issues have shifted the focus to technologies that control pests in the field (Thiéry et al., 2018). To develop pest monitoring and control methodologies, an action strategy that avoids economic losses must be identified. The development of traps with semiochemicals (pheromones) represents an important aspect of behavioural control (Brunetti et al., 2017, Clausen et al., 2017 and Pickett et al., 2014). For plants in the family Arecaceae, semiochemicals have been identified for behavioural control, and they have been applied for coleopteran pests, such as *R. palmarum* (Curculionidae) (Goulart et al., 2015), *R. barbirostris* (Curculionidae) (Reis et al. 2018), and Lepidoptera, such as *Oiketicus kirbyi* (Psychidae) (Rhainds et al., 1994). However, a pheromone has not been identified for the behavioural control of *E. cyparissias* (Castniidae) (Costa 2015).

Integrated pest and disease management consists of multiple control strategies implemented by a producer for the control of pest infestation in the field, and they present minimal interference with the ecological balance. The objective is to keep the pest insect population below the economic damage level and to balance the economic, social and ecological parameters (Young 2017). In this context, viable tactics are sought to reduce the expansion of *E. cyparissias* and reduce injury to the host plant (Costa 2015).

Integrated management methods for controlling and/or monitoring insects in the field include behavioural control via semiochemicals (pheromones), or chemical substances produced by an individual that trigger a response in members of the same species and behaviour in the receiver, such as reproduction, feeding, aggregation, and alarm. These compounds are recognized by the olfactory system of insects (antennas) and trigger behavioural reactions associated with attractiveness and/or repellence (Mansour et al., 2018; Polajnar et al., 2014).

Pheromones are important tools for integrated pest management, such as in traps that include a mixture of species-specific chemicals that are recognized by insects and used for monitoring and control (Bento et al., 2016, Sarles et al., 2015). Behavioural control through semiochemicals (pheromone) presents important advantages for agricultural environments because they are specific to a target pest as well as non-toxic and environmentally aggressive, and they help maintain the

ecological balance (Saha and Chandran 2017; Witzgall et al. 2010; Zarbin et al., 2009).

These substances are used for the monitoring and control of infestations and sexual disruption, and they are used to attract and kill pests of different crops (Terzidis et al., 2014). These components have high specificity and are considered promising molecules for behavioural control within agricultural pest management (Guerrero et al., 2014; Seybold et al., 2017). The strategy of containing pests in the field is a decisive factor for investing in monitoring and/or control methods that do not affect the environment, thereby benefiting producers and consumers (Patil et al., 2017).

Study of semiochemicals in Castniidae

Studies of the ecological relationships of insects mediated by semiochemicals enable the development of integrated pest management methods for agricultural environments and the adequate control of insect pests. The feeding habit of a boring caterpillar leaves it less exposed to the action of natural enemies, insecticides and other forms of external control, thereby increasing the success of its plant infestation. Thus, control tactics that include the monitoring and control of adult insects in the field have been investigated. Within the small family of the Castniidae, chemical ecology studies have reported the chemical composition of a few Castniids, such as *E. cyparissias* Fabricius, 1776 (Costa 2015), *Paysandisia archon* Burmeister, 1880 (Quero et al. 2017) and *Telchin licus* Drury, 1773 (Rebouças et al., 1999).

Chemical components that induce responses in the opposite sex have been identified in Castniids. Among the classes of identified compounds are long-chain hydrocarbons, aldehydes, alcohols, ketones, and esters (Table 1). Few studies have reported on compounds released by females that induce attraction in males of this family, although male-attractant compounds produced by female *T. licus* have been reported (Rebouças et al., 1999).

Rebouças et al. (1999) obtained two types of extracts, hexanic and methanolic, from the abdominal gland of *T. licus* females and reported two different chemical component profiles, and the olfactometer activity test against adult male insects was verified only for the hexane extract.

Component analyses have identified the presence of active compounds that induce attraction over short distances in insects of the family Castniidae, and compounds dispersed by males were primarily identified in studies focused on *P. archon*. Thus, specific male compounds have been identified (Monteys et al., 2012; Costa 2015; Monteys et al., 2016).

A histological analysis of the ovipositor of *P. archon* suggested that the pheromone gland was absent in the female. The male of this insect disperse active compounds over short distance; this was confirmed with the identification of specific male components that are received by female antenna (Frérot et al., 2013; Riolo et al., 2014).

Electrophysiological activities observed in *P. archon* indicated that compounds may be involved in chemical communication of this insect. Frérot et al. (2013) showed that the presence of androconias in the legs of male *P. archon* may be related to the presence of the component (E2, Z13)-octadecadienol. Quero et al. (2017) identified *n*-octadecyl acetate, (Z9)-octadecenyl acetate and (E2, Z13)-octadecadienyl acetate in extracts from males.

In extracts from different body parts (e.g., the wing, thorax and abdomen of the male) of *P. archon*, the chemical profile included aldehydes, linear alkanes, esters and polyunsaturated alcohols (Monteys et al. 2012). Riolo et al. (2014) studied an ovipositor extract from 24-hour-old *P. archon* females and identified *n*-alkanes, acids, alcohols, aldehydes, etc.

In a study by Costa (2015), the compounds present in different parts of the male and female bodies of *E. cyparissias* that consisted of long-chain unsaturated hydrocarbons, aldehydes, alcohols, esters and terpenes were identified by a chromatographic analysis.

Ruschioni et al. (2015) described the electrophysiological characteristics of the antenna of *P. archon* against host plant volatiles, such as linalool (terpene), and esters, such as ethyl acetate, ethyl propionate, ethyl butyrate, ethyl isobutyrate and ethyl lactate. The responses were positive for all synthetic patterns of host plant volatiles.

Although investigations of the chemical ecology of Castniids (Lepidoptera) have revealed the active components in these insects, the functionality of these active components are poorly understood and the intraspecific interactions must be studied

due to the complexity of the behaviour of the insects of this family as a function of the evolutionary process (Delle-Vedove et al., 2012; Delle-Vedove et al., 2014).

Although studies on the pheromone molecules of members of the Castniidae family are still scarce, important information has been obtained on the chemical composition of some of these insects (Ruschioni et al., 2015; Costa 2015; Rebouças et al., 1999). However, the behaviour of insects and the function of the compounds pertaining to intraspecific interactions must be better understood.

Studies on semiochemicals within the Castniidae family represent an important step for identifying the chemical communication among the insects of this family and can provide clues for future control alternatives. *E. cyparissias* is a considerable problem for many producers, and control strategies are still required; thus, the presence of semiochemicals and methods of communication within this insect must be further studied. Producers and companies are engaged in finding alternative strategies and ecologically viable methods. Studies on the intraspecific communication of this Castniidae species can provide answers and alternatives for the control of this pest.

The small Castniidae family has been gaining prominence because several of these insects have the potential to cause disasters. The lepidopteran *E. cyparissias* represents a bottleneck for the cultivation of Arecaceae due to the form of damage caused by the development of the pest in the plant and the absence of control methods. The commitment of producers and companies to reducing the impact of this pest drives the search for efficient and environmentally friendly strategies. Therefore, studies and research on lepidopteran species must be expanded to reach the degree of knowledge necessary to make technological advancements and develop control strategies. Future research should focus on behavioural control as an integrated pest management strategy to provide insights into the chemical ecology of this species and promote field monitoring and control.

Acknowledgement

This study was funded by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia (INCT) Semioquímicos na Agricultura (CNPq Proc. 465511/2014-7 and Fapesp Proc. 2014/50871-0),

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético – CGEN Acesso ao Patrimônio Genético nº 010428/2012-7 and Grupo Agropalma S/A.

References

- Aldana R. C, Calvache G. H, Higuera O. (2004) Integrated Management of *Cyparissius daedalus* in the Llanos Orientales. PALMAS - Vol. 25.
- Al-Dosary N. M., Al-Dobai S., & Faleiro J. R. (2016). Review on the management of red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* Olivier in date palm *Phoenix dactylifera* L. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 34-44.
- Barcelos E., Rios S. A., Cunha R.N.V., et al. (2015) Oil palm natural diversity and the potential for yield improvement. *Frontiers in Plant Science*. 6:190. <http://doi:10.3389/fpls.2015.00190>
- Barzman M., Bàrberi P., Birch A.N.E et al. (2015) Eight principles of integrated pest management .*Agron. Sustain. Dev.* 35: 1199. <https://doi.org/10.1007/s13593-015-0327-9>
- Bayram A, Tonğa A (2018) cis-Jasmone treatments affect pests and beneficial insects of wheat (*Triticum aestivum* L.): the influence of doses and plant growth stages. *Crop Protection* 105 70–79. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.11.011>
- Bento J.M.S., Parra J.R., de Miranda S.H.G., Adami A.C.O., Vilela E.F, Leal W.S. (2016) How much is a pheromone worth? *F1000 Research*, 5, 1763. <http://doi.org/10.12688/f1000research.9195.1>
- Bernardino A. L (2007) Flutuação populacional da broca-da-coroa-foliar *Eupalamides cyparissias* (Lepidoptera: Castiniidae) em plantios de dendê (*Elaeis guineensis*) no estado do Pará. Dissertação. Universidade Federal de Viçosa.
- Brunetti A. E., Neto F .C., Vera M. C., Taboada C., Pavarini D.P., Bauermeister A., Lopes NP (2017) An integrative omics perspective for the analysis of chemical signals in ecological interactions. *Chem. Soc. Ver.* <https://10.1039/c7cs00368d>
- Clausen A.S., Jørs E., Atuhair A., Thomsen J.F. (2017) Effect of Integrated Pest Management Training on Ugandan Small-Scale Farmers. *Environmental Health Insights*, 11, 1178630217703391. [doi10.1177/1178630217703391](https://doi.org/10.1177/1178630217703391)
- Costa D. L. (2015) Estudo Químico e Morfológico da broca-da-coroa-foliar *Eupalamides cyparissias* (Fabricius, 1776) (Lepidoptera: Castniidae). Tese. Universidade Federal de Alagoas.

- Damos P. (2015) Modular structure of web-based decision support systems for integrated pest management. A review Agron. Sustain. Dev. (2015) 35:1347–1372. <http://doi.10.1007/s13593-015-0319-9>
- Delgado C., Couturier G. (2003) Relationship Between *Mauritia flexuosa* and *Eupalamides cyparissias* in the Peruvian Amazon. Palms 47(2): 104–106
- Delle-Vedove R., Beaudoin-Ollivier L., Hossaert-Mckey M., Frerot B. (2012) Reproductive biology of the palm borer, *Paysandisia archon* (Lepidoptera: Castniidae). Eur. J. Entomol. 109: 289–292.
- Delle-Vedove, R., Frérot, B., Hossaert-McKey, M., & Beaudoin-Ollivier, L. (2014). Courtship Behavior of the Castniid Palm Borer, *Paysandisia archon*: Potential Roles of Male Scents and Visual Cues in a Day-Flying Moth. Journal of Insect Science, 14, 52. <http://doi.org/10.1673/031.014.52>
- Douglas F. (2004) A dedicated reserve for conservation of two species of Synemon (Lepidoptera: Castniidae) in Australia. Journal of Insect Conservation 8: 221–228.
- Faleiro, J. R., Jaques, J. A., Carrillo, D., Giblin-Davis, R., Mannion, C. M., Peña-Rojas, E., & Peña J. E. (2016). Integrated pest management (IPM) of palm pests. Integrated Pest Management in the Tropics. New India Publishing Agency, New Delhi (India), 439-497.
- Frérot B., Delle-Vedove R., Beaudoin-Ollivier L., Zagatti P., Ducrot P.H., Grison C., Hossaert McKey M., Petit E. (2013) Fragrant legs in *Paysandisia archon* males (Lepidoptera, Castniidae). Chemoecology, 23 (3): p. 137-142. <https://doi10.1007/s00049-013-0128-z>
- González J. M., Stünning, D. (2007). The Castniinae at the Zoologisches Forschungs museum Alexander Koenig, Bonn (Lepidoptera: Castniidae). Entomologische zeitschrift, 117(2), 89-93.
- González J. M., Worthy B. (2017) First records of *Synpalamides phalaris* (Fabricius, 1793) (Lepidoptera: Castniidae) in Venezuela, with comments on its natural history. Check List 13 (4): 177–183 <https://doi.org/10.15560/13.4.177>
- González, J. M., & Cock, M. J. (2004). A synopsis of the Castniidae (Lepidoptera) of Trinidad and Tobago. Zootaxa, 762, 1-19.
- González, J. M., & Fernández-Yépez, F. (1993). Lista preliminar de las especies de Castniinae (Lepidoptera: Castniidae) del Parque nacional “Henri Pittier”, Venezuela.

Diagnosis y comentarios. *Memorias de la Sociedad de Ciencias Naturales La Salle*, 53(139), 47-53.

González, J., Worthy, B., & Hernández-Baz, F. (2017). Giant butterfly moths of the Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia (Lepidoptera: Castniidae).

Goulart H. F., Lima M. R. F., de Morais R. K. S., Bernardo V. B. (2015) Feromônios: Uma Alternativa Verde para o Manejo Integrado de Pragas. *Rev. Virtual Quim.* 7(4), 1205-1224. DOI: 10.5935/1984-6835.20150068

Guerrero A., Malo E. A., Coll J., et al. (2014) Semiochemical and natural product-based approaches to control *Spodoptera* spp. (Lepidoptera: Noctuidae). *J Pest Sci* 87: 231. <https://doi.org/10.1007/s10340-013-0533-7>

Hamidi R., Frérot B. (2016) Oviposition behaviour in *Paysandisia archon* (Lepidoptera: Castniidae). *Annales de la Société entomologique de France (N.S.)*, Vol. 52, No. 3, 167–170, <http://dx.doi.org/10.1080/00379271.2016.1226148>

Hernández-Baz F., Serna F., Navarro E.V.V., Lamas G., González J.M. (2012). New records of giant butterfly-moths (Lepidoptera: Castniidae) from Colombia with general notes on natural history. *Revista Colombiana de Entomología*, 38(1), 162-163.

Johnson D. V., Non-wood Forest products 10: Tropical palms [S.I.]. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 1998. Disponível em <http://www.fao.org/docrep/x0451e/x0451e00>

Korkytowski G. C. A., Ruiz A. E. R. (1979) El barreno de los ráculos de la palma aceitera, *Castnia daedalus* (Cramer) Lepidopt.: Castniidae, en la plantacion de Tocache-Peru. *Revista Peruana de Entomologia*, v. 22, n. 1, p. 49-62.

Kuss V. V., Kuss A. V., Rosa R. G. da, Aranda D. A. G., Cruz Y. R. (2015) Potential of biodiesel production from palm oil at Brazilian Amazon. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 50 (2015)1013–1020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2015.05.055>

La Torre R. C. A., Calvache H. H., & Higuera, O. (2004). Manejo integrado de *Cyparissius daedalus* Cramer en los Llanos Orientales. *Revista Palmas*, 25(especial,), 249-258.

Liégeois M., Tixier P., Beaudoin-Ollivier L. (2016) Use of Radio Telemetry for Studying Flight Movements of *Paysandisia archon* (Lepidoptera: Castniidae). *J Insect Behav.* 29: 199. <https://doi.org/10.1007/s10905-016-9554-4>

- Mansour R., Belzunces L. P., Suma P., Zappalà L., Mazzeo G., Grissa-Lebdi K., ... & Biondi, A. (2018). Vine and citrus mealybug pest control based on synthetic chemicals. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 38(4), 37.
- Monteys V. S., Acín P., Rosell G., Quero C., Jiménez M. A., Guerrero A. (2012) Moths Behaving like Butterflies. Evolutionary Loss of Long Range Attractant Pheromones in Castniid Moths: A *Paysandisia archon* Model. PLoS ONE 7(1): <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029282>
- Monteys V. S., Aguilar L. (2005) The Castniid Palm Borer, *Paysandisia archon* (Burmeister, 1880), in Europe: Comparative biology, pest status and possible control methods (Lepidoptera: Castniidae). *Nachr.entomol. Ver. Apollo*, N. F. 26 (1/2): 61–94.
- Monteys V. S., Aguilar L., Saiz-Ardanaz M., Ventura D., Martí M. (2005) Comparative morphology of the egg of the castniid palm borer, *Paysandisia archon* (Burmeister, 1880) (Lepidoptera: Castniidae). *Systematics and Biodiversity*. 3(2): 1–23 <https://doi.org/10.1017/S1477200005001635>
- Monteys V. S., Quero C., Santa-Cruz., Rosell G., Guerrero A. (2016) Sexual communication in day-flying Lepidoptera with special reference to castniids or ‘butterfly-moths’. *Bulletin of Entomological Research*, 106(4), 421-431. doi:10.1017/S0007485316000158
- Moraes S. S., Duarte M. (2009) Morfologia externa comparada das três espécies do complexo *Telchin licus* (Drury) (Lepidoptera, Castniidae) com uma sinonímia. *Revista Brasileira de Entomologia* 53(2): 245–265.
- Moraes S. S., Duarte M. (2014). Phylogeny of Neotropical Castniinae (Lepidoptera: Cossoidea: Castniidae): testing the hypothesis of the mimics as a monophyletic group and implications for the arrangement of the genera. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 170(2), 362-399.
- Müller A. A., Silva A. B., Souza L.A., Buecke J., Guimarães L.G., Silva J.S.O., Vale M.P, Uns P.M.P., Ohashi O.S. (2000) Controle químico de lagartas de *Eupalamides dedalus* em dendezeiros. *Comun. téc. embrapa*. 38, Dezembro/2000, p.1-4
- Paini D. R., Sheppard A. W., Cook D. C., De Barro P. J., Worner S. P., & Thomas M. B. (2016). Global threat to agriculture from invasive species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(27), 7575-7579.

- Patil S. B., Goyal A., Chitgupekar S. S., Kumar S., & El-Bouhssini M. (2017). Sustainable management of chickpea pod borer. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 37(3), 20.
- Pérez D., Iannacone J. (2006) Comportamiento e infestación de *Eupalamides cyparissias* (Fabricius) (Lepidoptera: Castniidae) en palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacquin, Arecaceae), en la Amazonia peruana. *Rev. peru. Entomol.* 45:135 - 137.
- Pérez D., Iannacone J. (2008) Mortalidad y repelencia en *Eupalamides cyparissias* (Lepidoptera: Castniidae), plaga de la palma aceitera *Elaeis guineensis*, por efecto de diez extractos botánicos. *Rev. Soc. Entomol. Argent.* 67 (1-2): 41-48
- Pérez D., Iannacone J., Pinedo H. (2010) Toxicological effect from the stem cortex of the amazonic plant soapberry *Paullinia clavigera* (Sapindaceae) upon three arthropods. *Cien. Inv. Agr.* 37 (3):133-143
- Peshin R. (2013) Farmers' adoptability of integrated pest management of cotton revealed by a new methodology *Agron. Sustain. Dev.* 33: 563. <https://doi.org/10.1007/s13593-012-0127-4>
- Pham L.V., Smith C. (2014) Drivers of agricultural sustainability in developing countries: a review. *Environ Syst Decis.* 34: 326. <https://doi.org/10.1007/s10669-014-9494-5>
- Pickett J. A. (2014). Chemical ecology in the post genomics era. *Journal of chemical ecology*, 40(4), 319-319. DOI 10.1007/s10886-014-0418-0
- Polajnar J., Eriksson, A., Lucchi, A., Anfora, G., Virant-Doberlet, M., & Mazzoni, V. (2015). Manipulating behaviour with substrate-borne vibrations—potential for insect pest control. *Pest management science*, 71(1), 15-23.
- Quero C., Monteys V. S., Rosell G., Puigmartí M., Guerrero A. (2017) Sexual communication in castniid moths: Males mark their territories and appear to bear all chemical burden. *PLoS ONE* 12(2): e0171166. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171166>
- Rebouças L.M.C., Caraciolo M. do S.B., Sant'Ana A.E.G., Pickett J.A., Wadhams L.J., Pow E.M. (1999) Composição química da glândula abdominal da fêmea da mariposa *Castnia licus* (Drury) (Lepidoptera: Castniidae): possíveis feromônios e precursores. *Química Nova*, 22(5), 645-648. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40421999000500003>

- Reis A. C., Neta, P. L., Jordão, J. P., Moura, J. I. L., Vidal, D. M., Zarbin, P. H., & Fávaro, C. F. (2018). Aggregation Pheromone of the Bearded Weevil, *Rhinostomus barbirostris* (Coleoptera: Curculionidae): Identification, Synthesis, Absolute Configuration and Bioactivity. *Journal of chemical ecology*, 44(5), 463-470.
- Rhainds, M., Gries, G., Li, J., Gries, R., Slessor, K. N., Chinchilla, C. M., & Oehlschlager, A. C. (1994). Chiral esters: sex pheromone of the bagworm, *Oiketicus kirbyi* (Lepidoptera: Psychidae). *Journal of chemical ecology*, 20(12), 3083.
- Riolo P., Verdolini E., Anfora G., Minuz R.L., Ruschioni S., Carlinv S., Isidoro .N (2014) Perching Mate-Locating Strategy in *Paysandisia archon* (Lepidoptera:Castniidae): Behavioral and Morpho-Physiological Investigations. *J. Econ. Entomol.* 107(3): 1009Ð1021; <http://dx.doi.org/10.1603/EC13298>
- Ruschioni S., Riolo P., Verdolini E., Peri E., Guarino S., Colazza S., et al. (2015) Fine Structure of Antennal Sensilla of *Paysandisia archon* and Electrophysiological Responses to Volatile Compounds Associated with Host Palms. *PLoS ONE* 10(4): e0124607. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124607>
- Saha T., Chandran N. (2017) Chemical ecology and pest management: A review. *International Journal of Chemical Studies*, 5(6): 618-621
- Santos L.N.E. (2010) Diversidade de inimigos naturais em cultivos de palma de óleo *Elaeis guineensis* implantados em sistemas agroflorestais para agricultura familiar. Dissertação. Universidade Federal do Pará.
- Sarles L., Verhaeghe A., Francis F., Verheggen F.J. (2015) Semiochemicals of Rhagoletis fruit flies: Potential for integrated pest Management. *Crop Protection* 78 114e118, <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2015.09.001>
- Seybold S. J., Bentz, B. J., Fettig, C. J., Lundquist, J. E., Progar, R. A., & Gillette, N. E. (2018). Management of Western North American Bark Beetles with Semiochemicals. *Annual review of entomology*, 63, 407-432.
- Silva A.B., Müller A.A., Souza L.V. (2003). Injeção de inseticidas no estipe de dendezeiros para controle de lagartas de *Eupalamides dedalus* (Cramer) (Lepidoptera: Castniidae). 16p– (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 23). ISSN 1676 –5265
- Silva L. A., Ardisson-Araujo, D. M., Tinoco, R. S., Fernandes, O. A., Melo, F. L., & Ribeiro, B. M. (2015). Complete genome sequence and structural characterization of

a novel iflavirus isolated from *Opsiphanes invirae* (Lepidoptera: Nymphalidae). *Journal of invertebrate pathology*, 130, 136-140.

Silva-Brandão K., Almeida L., Moraes S., Cônsoli F. (2013) Using population genetic methods to identify the origin of an invasive population and to diagnose cryptic subspecies of *Telchin licus* (Lepidoptera: Castniidae). *Bulletin of Entomological Research*, 103(1), 89-97. <https://doi:10.1017/S0007485312000430>

Soares K. P., Longhi S.J., Witeck Neto., L., Assis L.C. (2014). Palmeiras (Arecaceae) no Rio Grande do Sul, Brasil. *Rodriguesia*, 65(1), 113-139

Terzidis N.A., Wilcockson S., Leifert C. (2014) The tomato leaf miner (*Tuta absoluta*): Conventional pest problem, organic management solutions?. *Org. Agr.* 4:43–61 <https://doi10.1007/s13165-014-0064-4>

Thiéry D., Louâpre P., Muneret L., Rusch A., Sentenac, G., Vogelweith, F., ... & Moreau, J. (2018). Biological protection against grape berry moths. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 38(2), 15.

Tinôco R. S. (2016). Determinação do nível de dano econômico para *Opsiphanes invirae* Hübner, 1808 (Lepidoptera: Nymphalidae) em palma de óleo. Tese de Doutorado em Agronomia (Entomologia Agrícola). Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

Vasquez J., Delgado C., Couturier G., Mejia K., Freitas L., & del Castillo D. (2008). Pest insects of the palm tree *Mauritia flexuosa* Lf, dwarf form, in Peruvian Amazonia. *Fruits*, 63(4), 227-238.

Vinciguerra R. (2011) Notes on the distribution of *Castnia invaria penelope* Schaufuss, 1870 (Lepidoptera, Castniidae). *Biodiversity Journal*, 2011, 2 (3): 149-150

Vinciguerra R., 2008. Osservazioni su *Ircila hecate* (Herrich-Schaffer, [1854]) (Lepidoptera: Castniidae). *SHILAP Revista de lepidopterologia*, 36: 205-208.

Wakil W., Faleiro J. R., Miller T. A., Bedford, G. O. & Krueger R. R. (2015). Date palm production and pest management challenges. In *Sustainable Pest Management in Date Palm: Current Status and Emerging Challenges* (pp. 1-11). Springer, Cham.

Wezel A. et al. (2014) Agroecological practices for sustainable agriculture. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 34:1–20. <https://doi10.1007/s13593-013-0180-7>

Williams A.A.E., Williams M.R., Edwards E.D., Coppen R.A.M. (2016) The sun-moths (Lepidoptera: Castniidae) of Western Australia: an inventory of distribution, larval food plants, habitat, behaviour, seasonality and conservation status. *Records*

of the western Australian museum. 090–162 (2016) [https://10.18195/issn.0312-3162.31\(2\).2016.090-162](https://10.18195/issn.0312-3162.31(2).2016.090-162)

Witzgal P., Kirsch P., Cork A. (2010). Sex Pheromones and Their Impact on Pest Management. *J Chem Ecol* (2010) 36:80–100. <https://10.1007/s10886-009-9737-y>

Young S.L. (2017) A systematic review of the literature reveals trends and gaps in integrated pest management studies conducted in the United States. *Pest Manag Sci* 2017; 73: 1553–1558. <https://10.1002/ps.4574>

Zarbin P.H.G, Rodrigues M.A.C.M., Lima, E. R. (2009) Feromônios de insetos: tecnologia e desafios para uma agricultura competitiva no Brasil. *Química Nova*, 32(3), 722-731. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422009000300016>

Table 1. Relationship of semiochemicals in Castniid agricultural pests, identified compound (ind) and not identified (n.d).

Compounds	<i>Telchin licus</i>	<i>Paysandisia archon</i>				<i>Eupalamide S cyparissias</i>
	Rebouças et al., 1999	Monteys et al., 2012	Riolo et al., 2014	Frérot et al., 2013	Quero et al., 2017	Costa, 2015
Tridecane	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	ind
Tetradecane	n.d	n.d	ind	n.d	n.d	n.d
Pentadecane	n.d	n.d	ind	n.d	n.d	n.d
Hexadecane	n.d	n.d	ind	n.d	n.d	n.d
Heptadecane	n.d	n.d	ind	n.d	n.d	n.d
Heneicosane	ind	ind	n.d	n.d	n.d	n.d
Docosane	ind	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Tricosane	ind	n.d	n.d	n.d	n.d	ind
Tetracosane	ind	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Pentacosane	ind	n.d	n.d	n.d	n.d	ind
Hexacosane	ind	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Heptacosane	ind	n.d	n.d	n.d	n.d	ind
Octacosane	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	ind
Nonacosane	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	ind
Hentriacontane	ind	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Palmitoleic acid	ind	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Palmitic acid	ind	ind	ind	n.d	n.d	ind
Linoleic acid	ind	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Oleic acid	ind	ind	ind	n.d	n.d	n.d
(Z)-11-Hexadecenoic acid	n.d	ind	n.d	n.d	n.d	n.d
1-Dodecene	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	ind
1-Tetradecene	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	ind
1-Hexadecene	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	ind
1-Octadecene	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	ind
2-Ethylhexanol	n.d	n.d	ind	n.d	n.d	n.d
Nonanol	n.d	n.d	ind	n.d	n.d	n.d
2-Butoxyethanol	n.d	n.d	ind	n.d	n.d	n.d
Geraniol	n.d	n.d	ind	n.d	n.d	n.d
Heptanal	n.d	n.d	ind	n.d	n.d	n.d
2-Octenal	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	ind
2-Dodecenal	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	ind
Octanal	n.d	n.d	ind	n.d	n.d	n.d
3,8-Dimethyl-undecane	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	ind
4,6-Dimethyl-dodecane	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	ind
6-Methyl-hepten-2-one	n.d	n.d	ind	n.d	n.d	n.d
2-(2-butoxyethoxy)ethanol	n.d	n.d	ind	n.d	n.d	n.d
(Z,E)-Farnesal	n.d	ind	n.d	n.d	ind	n.d
(E,E)-Farnesal	n.d	ind	n.d	n.d	ind	n.d
Nonanal	n.d	ind	ind	n.d	n.d	n.d
Decanal	n.d	ind	ind	n.d	n.d	n.d

Continuation of table 1. Relationship of semiochemicals in Castniid agricultural pests identified compound (ind) and not identified (n.d).

Compounds	<i>Telchin n licus</i>	<i>Paysandisia archon</i>				<i>Eupalamide s cyparissias</i>
	Rebou ças et al., 1999	Monteys et al., 2012	Riolo et al., 2014	Frérot et al., 2013	Quero et al., 2017	Costa, 2015
7,11 Hexadecadienal	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	ind
7,11 Hexadecadienol	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	ind
Hexadecanol	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	ind
Octadecanol	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	ind
(E, Z)-2,13- Octadecadienol	n.d	ind	n.d	ind	n.d	n.d
Methyl dodecanoate	ind	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Methyl tridecanoate	ind	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Methyl tetradecanoate	ind	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Methyl docosanoate	ind	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Methyl tetracosanoate	ind	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Methyl pentadecanoate	ind	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Methyl hexadecanoate	ind	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
(Z) -9-Methyl hexadecenoate	ind	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Octadecyl hexadecanoate	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	ind
9-Octadecyl hexadecenoate	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	ind
Methyl octadecanoate	ind	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Methyl Eicosanoate	ind	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
(Z) 9-Methyl eicosenoate	ind	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
(Z) 9-Octadecenoate methyl	ind	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
(Z, Z) 9,12 Methyl hexadecadienoate	ind	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
(Z, Z) 9,12 Methyl octadecadienoate (methyl linoleate)	ind	n.d	n.d	n.d	n.d	ind
(Z, Z, Z) 9, 12, 15 Octadecatrienoate methyl	ind	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
n-octadecyl acetate	n.d	n.d	n.d	n.d	ind	n.d
(Z)-9-Octadecenyl acetate	n.d	n.d	n.d	n.d	ind	n.d
(E,Z)-2,13- Octadecadienyl acetate	n.d	n.d	n.d	n.d	ind	n.d
Ethyl palmitate	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	ind
Methyl oleate	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	ind
Oleate Ethyl	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	ind
Geranyl linalool	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	ind
Geranyl geraniol	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	ind
Cholesterol	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	ind
Campesterol	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	ind
β-Sitosterol	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	ind

Continuation of table 1. Relationship of semiochemicals in Castniid agricultural pests identified compound (ind) and not identified (n.d).

Compounds	<i>Telchin n.licus</i>	<i>Paysandisia archon</i>				<i>Eupalamide s cyparissias</i>
	Rebou ças et al., 1999	Monteys et al., 2012	Riolo et al., 2014	Frérot et al., 2013	Quero et al., 2017	Costa, 2015
Limonene	n.d	n.d	ind	n.d	n.d	ind
Espringene	ind	n.d	n.d	n.d	n.d	ind
β- Caryophyllene	n.d	n.d	ind	n.d	n.d	ind
alpha copaene	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	ind
p-cymene	n.d	n.d	ind	n.d	n.d	n.d
Diclorobenzene	n.d	n.d	ind	n.d	n.d	n.d
Benzylic alcohol	n.d	n.d	ind	n.d	n.d	n.d
Benzaldehyde	n.d	n.d	ind	n.d	n.d	n.d
Acetophenone	n.d	n.d	ind	n.d	n.d	n.d
Geranyl acetone	n.d	n.d	ind	n.d	n.d	n.d

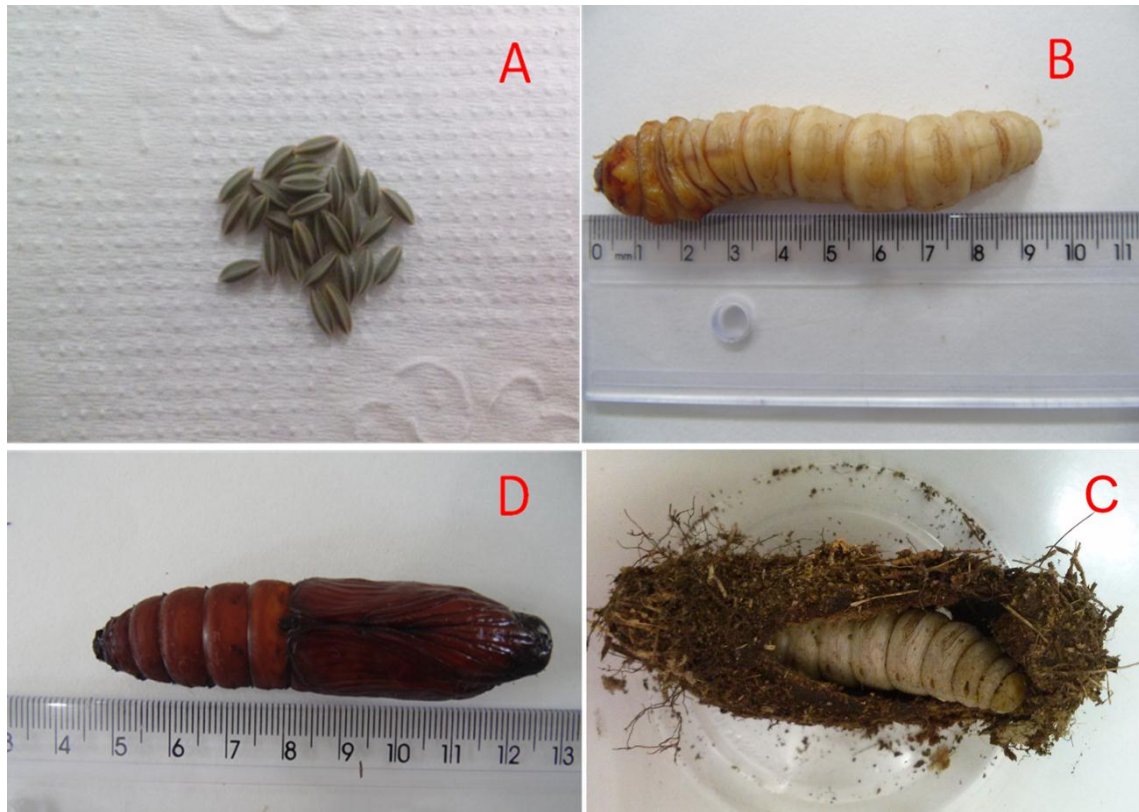


Fig 1. Phases development of *E. cyparissias* egg (A), caterpillar (B), pre-pupa (C) and pupa (D).

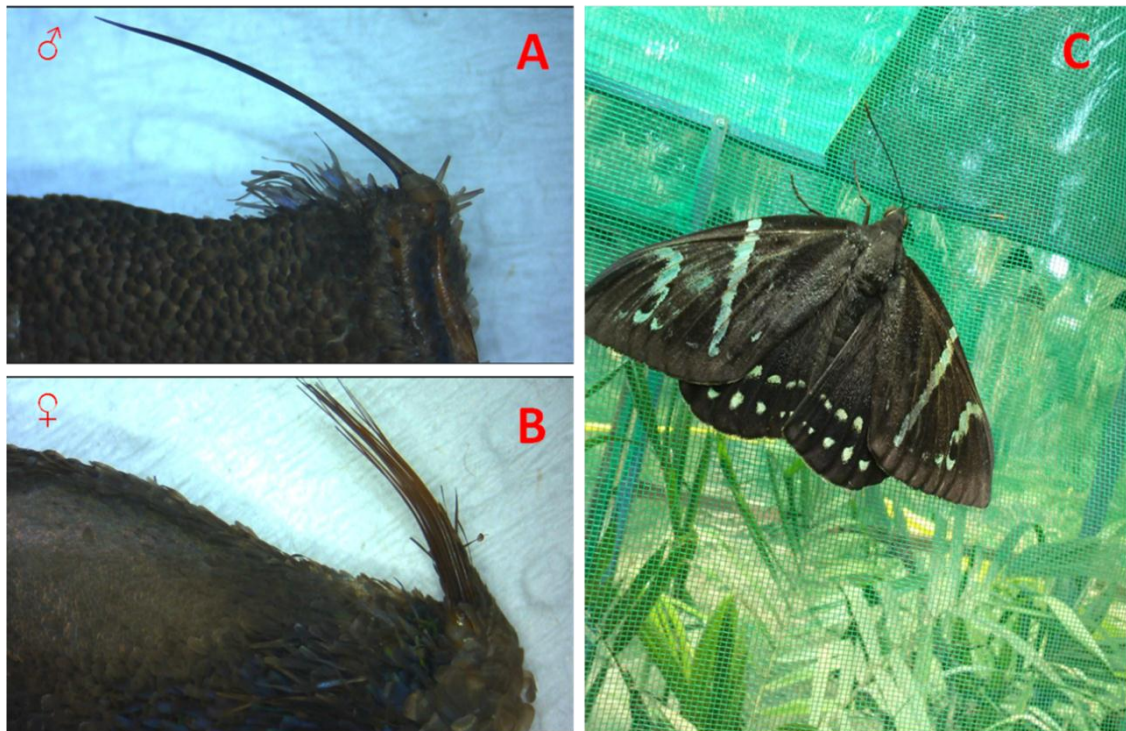


Fig 2. Sexual dimorphism in the adult insect. Rear wing of male with single bristle (A), Rear wing of female bristle (B). Adult of *E. cyparissias* (C).

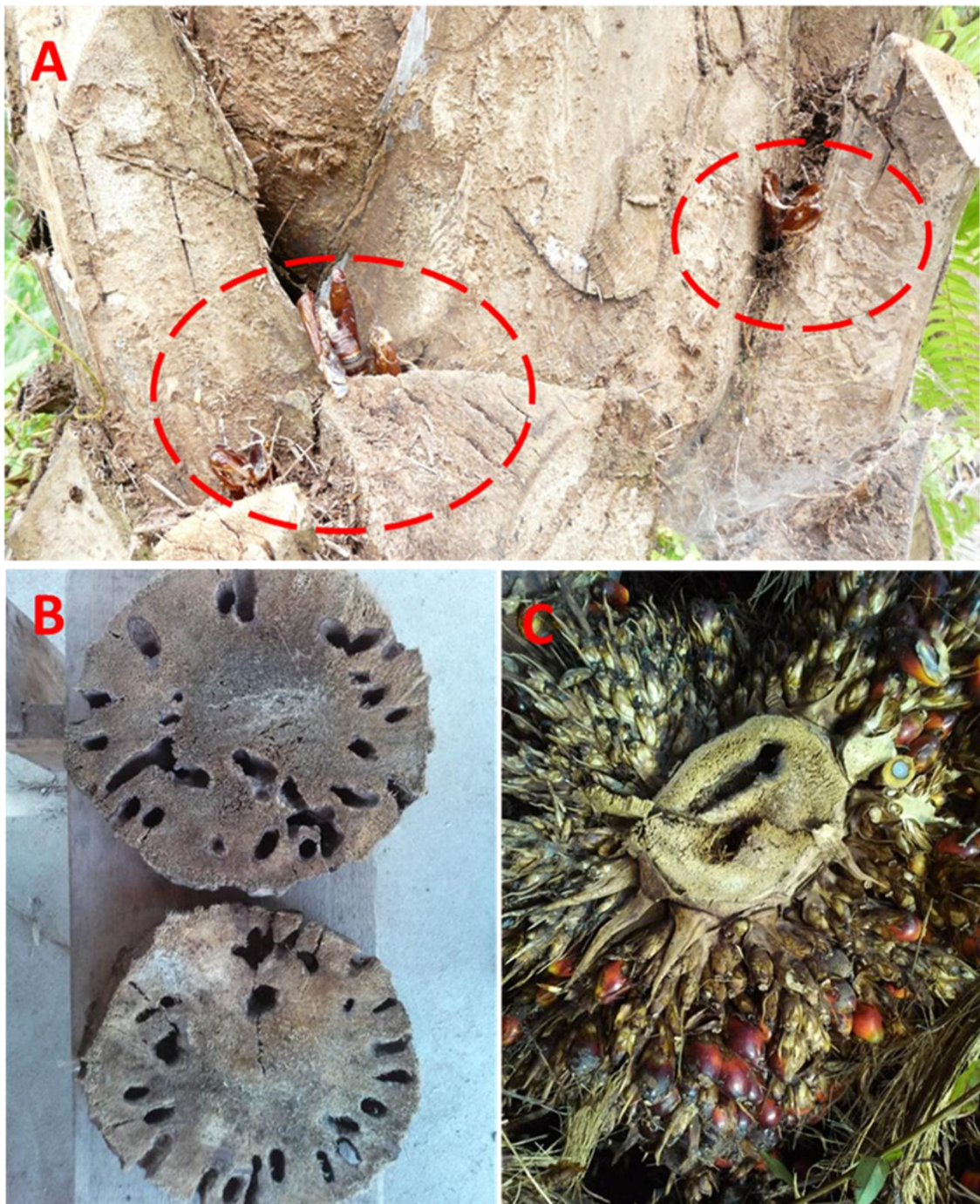


Fig 3. Damage to host palm oil plant. Pupa bark in the (red circle) strain of the plant indicating newly emerged adult (A), plant strain with galleries caused by caterpillar (B) and bunch of oil palm with caterpillar galleries (C).

CAPITULO II

Versão em inglês submetida ao Journal of Chemical Ecology

Journal of Chemical Ecology

Structure of the sensilla in the antennae of *Eupalamides cyparissias* (Fabricius, 1776) (Lepidoptera: Castniidae) and the electrophysiological response to a male-specific compound

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Full Title:	Structure of the sensilla in the antennae of <i>Eupalamides cyparissias</i> (Fabricius, 1776) (Lepidoptera: Castniidae) and the electrophysiological response to a male-specific compound
Article Type:	Original Research
Keywords:	Pest; Castniidae; Arecaceae; Sensilla; Semiochemicals
Corresponding Author:	Antonio Euzebio Goulart Santana, PhD Universidade Federal de Alagoas Maceio, Alagoas BRAZIL
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	Universidade Federal de Alagoas
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Kelly Barbosa da Silva

Estrutura da sensila na antena de *Eupalamides cyparissias* Fabricius, 1776 (Lepidoptera: Castniidae) e resposta eletrofisiológica a um componente macho-específico

A *Eupalamides cyparissias* (Lepidoptera: Castniidae) é uma praga de diversas plantas da família Arecaceae como, por exemplo, o coqueiro e a palma de óleo. Esta lepidobroca causa dano direto e indireto a cultura provocando grandes perdas. É uma praga de difícil controle, fica no interior da planta menos exposta a inimigos naturais e ação de inseticidas. Há produtores que usam o controle mecânico para reduzir a incidência de adultos no campo e uma nova geração. Os semioquímicos são uma forma de controle de praga e não causa danos ecológicos, pois faz uso dos sinais químicos usados pelos próprios insetos, é uma opção viável de controle. Neste trabalho, foi identificado um composto eletrofisiologicamente ativo para fêmea e caracterizada a tipologia das sensilas nas antenas de *E. cyparissias*. Os extratos da asa de macho e fêmea foram obtidos por extração com solvente hexano HPLC. A identificação da composição química dos extratos e os compostos ativos foram analisados por cromatografia gasosa CG-FID, CG-MS e CG-EAG. A morfologia da antena e as sensilas foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura. Identificamos um composto no extrato do macho que elicitou resposta em antena de fêmea. O composto ativo considerado macho específico foi identificado como (2*E*,6*E*,10*E*)-3,7,11,15-tetramethylhexadeca-2,6,10,14-tetraen-1-ol (E,E,E) (geranylgeraniol). Foi observado em ambos os sexos sensilas tricoides, caéticas, aurilica, coeloconica, esquamiforme, Bohm's bristles e ampullacea. A sensila tricoide subtipo II e Bohm's bristles I e II apresentaram distinção em ambos os sexos sendo maiores nos machos. Os resultados aprontam para a identificação do geranylgeranyl como composto eletrofisiologicamente ativo para fêmeas sendo produzido por machos e presença de sensilas olfativas na qual sugere que há relação para detecção desta molécula em *E. cyparissias*.

Palavras-chave: broca; praga; sensila; semioquímicos; controle.

INTRODUÇÃO

A *Eupalamides cyparissias* (Lepidoptera: Castniidae) é conhecida por nomes comuns como broca-da-coroa-foliar ou broca do dendezeiro e pelas seguintes sinonímias *Eupalamides daedalus*, *Castnia daedalus*, *Cyparissias daedalus* (Aldana et al. 2004). Este lepidóptero vem destacando-se como uma praga relevante para plantas da família Arecaceae como o açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.), coqueiro (*Cocos nucifera* L.), palma de óleo (*Elaeis guineenses* Jacq.), Buriti (*Mauritia flexuosa*), murumuru *Astrocaryum murumuru* Mart., , *Mauritia carana* Wallace, *Mauritiella peruviana* (Becc.) Burret,. Essa praga possui ocorrência na bacia amazônica e países como Colômbia, Equador, Brasil, Perú e Venezuela (Delgado e Couturier 2003; Pérez e Iannacone 2008; Rull e Montoya 2014; Tinôco 2016; Virapongse et al. 2017).

Este inseto na fase da larva é classificado como lepidobroca (lagarta broqueadora) e prejudica severamente a planta por meio do dano direto, através do hábito alimentar das larvas que fazem galerias no interior do estipe da planta, afetando seu desenvolvimento e em estágios mais avançados de infestação causa a morte da planta, além disso, pode provocar o dano indireto proveniente das galerias que deixam a planta vulnerável ao ataque de outras pragas e microorganismos (Korkytowski e Ruiz 1979; Bernardino 2007).

Os adultos de *E. cyparissias* possui dimorfismo sexual evidente, com os machos apresentando uma cerda única similar a um esporão na asa posterior próxima ao tórax, enquanto a fêmea possui várias cerdas aglomeradas similares a um pincel de pêlos. A coloração predominante é marrom escura, com uma faixa amarela clara transversal na asa anterior e a presença de escamas que emitem um reflexo em tons de verde e violeta. O comportamento deste Lepidóptero é matutino e vespertino. Na fase adulta as fêmeas depositam seus ovos na planta hospedeira entre os ráquis no estipe e/ou próximo à coroa foliar. Ao eclodir a larva penetra o interior da planta provocando galerias. A larva possui 14 instares e as fases de pré-pupa e pupa ocorrem na região externa do estipe entre os ráquis para posteriormente emergir os adultos reiniciando um novo ciclo (Korkytowski e Ruiz 1979; Monteys et al. 2005; Vasquez et al. 2008)

Para conter esta praga e minimizar os danos, alternativas de controle foram alvos de teste com inseticidas, extratos de plantas e inimigos naturais com a finalidade de conseguir alguma forma de controle (Schuiling e Dinther 1980; Bernardino 2007; Pérez e Iannaccone 2008; Pérez et al. 2010). Mas como as lagartas são endófagas alguns métodos de controle não são eficientes devido o inseto ficar no interior da planta, permanecendo menos exposto consequentemente fica protegido da ação de inimigos naturais e inseticidas (Korkytowski e Ruiz 1979; Bernardino 2007). Assim, a prática de controle mecânico é usada por muitos produtores para reduzir a população de adultos no campo (Korkytowski e Ruiz 1979; Bernardino 2007).

Dentro do manejo integrado de praga o uso de semioquímicos (feromônio) no controle comportamental tem alcançado êxito para monitoramento e controle de insetos praga de distintas ordens como a coleóptera com insetos como broca-do-olho-do-coqueiro (*Rhynchophorus palmarum*), bicudo-do-algodoeiro (*Anthonomus grandis*), moleque da bananeira (*Cosmopolites sordidus*) e as lepidópteras traça-do-tomateiro *Tuta absoluta*, lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*), traça das crucíferas (*Plutella xylostella*) dentre outros (Witzgall et al. 2010; Goulart et al. 2015; Baker et al. 2016; Saha e Chandran 2017)

Insetos liberam substâncias (semioquímicos) que são essenciais à sua sobrevivência, essas substâncias de interação intraespecífica, o feromônio, fornecem pistas para localização de fonte alimentar, local para ovoposição e/ou indicar a localização do parceiro para cópula (Zarbin et al. 2009; Yew e Chung 2015; Baker et al. 2016). Nas mariposas a localização do parceiro é realizada por meio do feromônio de atração sexual geralmente produzido por fêmeas enquanto nas borboletas a produção do feromônio em muitos casos é mediada por machos (Monteys et al. 2017). As borboletas também usam pistas olfativas de atratividade para parceiros coespecíficos. Há estudos que indicam a produção de composto macho específico como essenciais para proporcionar atração ao sexo oposto, estes seriam produzidos por glândulas localizadas em distintas partes do corpo do inseto e dispersos no ambiente através das escamas especializadas denominadas de androcônia (Costanzo 2007; Monteys et al. 2012; Frérot et al. 2013; Quero et al. 2017).

Há poucas informações abordando a presença de semioquímicos na interação intraespecífica como feromônio de atração sexual para insetos da família Castniidae e seu envolvimento no comportamento dos insetos (Rebouças et al. 1999; Frérot et al. 2013; Costa 2015; Quero et al. 2017). Em alguns insetos de maior porte como a *E. cyparissias* há dificuldade na observação do envolvimento de feromônio para a comunicação intraespecífica. Apesar da *E. cyparissias* estar ganhando destaque como uma praga importante para palmeiras são escassos os estudos a cerca de sua ecologia química. Mesmo havendo informações sobre sua composição química não há descrição de método de controle comportamental (feromônio) para esse Castniideo (Costa 2015). Neste trabalho, relatamos a identificação de uma molécula macho-específico que estimulou resposta eletrofisiológica em fêmea e a descrição das estruturas das sensilas e morfologia da antena do inseto.

MATERIAIS E MÉTODOS

Material de estudo

A coleta do inseto foi realizada no município de Tailândia Estado do Pará, na região Norte do Brasil. Foram coletadas pupas de *E. cyparissias* a partir do mês de setembro até Dezembro em palma de óleo no Grupo Agropalma S/A (02° 31' 31" S e 48° 45' 7") e o material coletado foi direcionado ao Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais da Universidade Federal de Alagoas, Maceió-AL, Brasil. As pupas foram retiradas dos casulos de fibras, limpas, sexadas e colocadas sobre papel filtro em gaiolas escuras e umedecidas com água destilada a cada 24 horas, mantidas em sala de criação a temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ com fotoperíodo 12L: 12D. Ao emergir os adultos, machos e fêmeas foram mantidos em gaiolas separadas para análises com insetos virgens de 24-48 horas de idade.

Morfologia das antenas por microscopia eletrônica de varredura

Os insetos adultos machos e fêmeas (5 insetos de cada sexo) recém-emergidos com 24-48 horas de idade foram anestesiados em baixa temperatura por 1 minuto e tiveram as antenas excisadas (10 antenas) e colocadas em solução de glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato de sódio a 0,1 M por 10 minutos após esse tempo foram desidratadas em soluções de etanol com gradiente de concentrações de 70, 80 e

100% por 5 minutos cada, depois foram dispostas em papel filtro, em seguida as antenas foram colocadas na posição ventral (n=5) e dorsal (n=5) sobre uma fita de carbono dupla-face fixada em suporte Stub (porta amostra de metal) para metalização por revestimento com ouro (Q150R ES, Quorum) por 200 segundos a 45mV. A morfologia das antenas e tipologia das sensilas foram analisadas utilizando microscópio de varredura eletrônica (Marca Tescan, modelo VEGA3 LMU) para obtenção das imagens operando com feixe de eletrons em tornno de 20 kV, as análises foram realizadas no Laboratório de Análise Instrumental do Instituto Federal de Alagoas – IFAL, Maceió-AL, Brasil.

Extração por solvente

O extrato foi obtido a partir de insetos adultos machos e fêmeas virgens de 48 horas de idade (n=08) que foram anestesiados a baixa temperatura -18°C para realização da extração em horário crepuscular. As asas posteriores foram excisadas e rapidamente imersas em solvente hexano grau HPLC (Vetec) durante 20 minutos. Este extrato foi filtrado e armazenado a baixa temperatura (-20°C), foi obtida três repetições para análises por cromatografia gasosa, espectrometria de massas e eletroantenografia. Foram obtidos imagens de exemplares da asa posterior por microscópio (LUXEO 4D DIGITAL: LM-4145000)

Identificação da composição química

As amostras obtidas foram analisadas utilizando-se um cromatógrafo a gás (Shimadzu, GC-2010) com detector de ionização de chama (CG-DIC), equipado com coluna RTX-5 (30 m comprimento, 0,25 mm i.d., 0,25 mm de espessura) e como fase móvel o gás hidrogênio. Para programação (1) a temperatura inicial do forno foi de 140°C por 1 minuto programado para aumentar a 300°C com uma rampa de 10°C /min e mantida por 12 minutos, com um total de 29.00 minutos. Na programação (2) a temperatura inicial do forno foi de 110°C por 1 minuto com programação para aumentar a temperatura para 300°C com gradiente de aumento linear de 5°C /min e mantida por 7 minutos, com total de 46.00 minutos.

Foi analisado 1µL das amostras em ambas as programações 1 e 2 do CC-DIC em modo Splitless. A identificação dos compostos voláteis isolados foi realizada pelos

seus índices de retenção Kovats (KI). Os KIs foram determinados utilizando séries homólogas de *n*-alcanos, C7-C40 (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) num ensaio de GC programado, como descrito acima e com consulta subsequente nas bases de dados nos sites do Pherobase, ChemSpider e NIST.

O extrato selecionado foi analisado por GC-MS, cromatógrafo gasoso acoplado ao espectro de massas equipado com uma coluna DB-5 (Crossbond® 95% dimethylpolysiloxane e 5% diphenyl) (30 m x 0.25 mm i.d. x 0.25 µm, RESTEK) e um injetor sem divisão, tendo hélio como gás de arraste, usando a mesma programação (1) descrita para a análise GC-FID. A ionização foi realizada por impacto de elétrons (70 eV). Os dados foram coletados usando o GC-MS Analysis Editor. A identificação dos compostos voláteis isolados foi realizada por análise do espectro e comparação visual por meio de espectro de massa com espectro literário, observando-se principalmente as características de íon molecular e pico de base, relacionando-se com outros espectros da base computacional do CG-MS como Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST08 e NIST08s), Wiley MS (Wiley). Os KIs foram determinados utilizando séries homólogas de *n*-alcanos C7-C40 (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) num ciclo de GC programado como descrito acima. A identificação positiva foi assumida quando bons resultados de espectros de massa e KI foram alcançados. Os dados obtidos também foram comparados com várias fontes da literatura como os sites do Pherobase, NIST Chemistry Web Book e ChemSpider.

A identificação também ocorreu usando padrão autêntico analisado nas mesmas condições da amostra em CG-DIC programação (1). A quantificação foi realizada através do GC – DIC para obtenção da concentração do composto determinada com o uso do padrão interno eicosano (C20) utilizando a programação 1 no CG-DIC.

Análise eletrofisiológica CG-EAG

A amostra da asa posterior do macho com 48 horas de idade foi analisada frente às antenas de fêmeas com 24-48 horas de idade (5 antenas). O bioensaio usando a antena como detector biológico foi realizado usando um eletroantenografo (EAG) acoplado ao cromatógrafo gasoso com detector de ionização em chama CG-DIC

(Shimadzu GC-2010) equipado com coluna capilar RTX[®]-5 (30m X 0,25mm X 0,25µm de espessura de filme; Restek) e como gás de araste o hidrogênio. A programação utilizada teve temperatura inicial de 140°C durante 1 min e uma rampa de aquecimento de 10 ° C.min⁻¹ até alcançar 300 °C que foi mantida por 12 minutos. As antenas foram excisadas de insetos anestesiados em baixa temperatura (-18° C) por um minuto e fixadas pelo escapo e região distal nas bases do eletrodo e que foi coberto com gel condutor. A amostra selecionada foi injetada no CG em modo Splitless e dividida na proporção de 1: 1 e distribuída simultaneamente para detector (DIC) e antena (EAD). Os resultados foram simultaneamente gravadas utilizando o programa AutoSpike (Syntech, Holanda) com o Syntech GC-EAD32 (versão 4.6, 2008).

Produtos químicos

Padrão sintético: Alcanos C7-C40, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO; Geranilgeraniol ≥85%, CAS: 24034-73-9, Sigma Adrich; Eicosano 99%, CAS: 112-95-8, Sigma Adrich.

Análise estatística

Os parâmetros de comprimento da antena (n=10) e comprimento e largura da base das sensilas (n=25) de cada tipo foram avaliados através do teste t de Student que foi aplicado usando o software Genes(Cruz 2013).

RESULTADOS

Ultraestrutura das antenas

As antenas de ambos os sexos do inseto *E. cyparissias* não apresentaram dimorfismo sexual aparente. Não foi observada diferença estatística quanto ao comprimento das antenas ($t=1,11$; $d.f=14$; $p= 0,2835$) (Tabela 1) entre os sexos, o mesmo ocorreu em relação ao número das unidades de antenômeros ($t=1,23$; $d.f=18$; $p=0,2334$) (Tabela 1) nas antenas de macho e fêmea não apresentaram diferença estatística.

A estrutura morfológica da antena de *E. cyparissias* é composta pelo escapo que interliga a antena com a cabeça do inseto, pedicelo faz a conexão do escapo com o

flagelo segmento final da antena. O flagelo é segmento mais longo da antena composto por várias unidades de antenômeros (Figura 1).

A superfície da antena na região dorsal é repleta de escama enquanto na região ventral foi possível observar a presença de uma determinada área da antena de ambos os sexos que possui uma variedade de sensilas (Figura 1c-e). Esta região é uma área na parte ventral da antena que se inicia a partir de uma faixa estreita e fina repleta de sensilas algumas intercaladas entre as escamas, esta área se expande conforme se aproxima do clube antenal, base final achatada da antena, que possui os diferentes tipos de sensilas e com ausência de escamas para encobrir essas estruturas (Figura 1c-e). A região dorsal da antena por sua vez possui sensila de forma escassa e aleatória, dispersas e em pontos distintas cobertas e/ou intercaladas com as escamas.

Tipologia das sensilas

Foram identificados nas antenas seis tipos de sensilas tanto nos indivíduos machos e fêmeas sendo estas sensilas tricóide (ST), caética (SCa), basicônica (SBa), squamiforme (SSq), auriculica (SAu), coelocônica (SCo), ampullacea (AMP) e cerdas de Bohm's bristles (BB) (Figura 2). Algumas sensilas foram classificadas em subtipos de acordo com o comprimento: tricóide (STI e STII), caética (SCa I e SCa II), e cerdas de Bohm's bristles (BBI e BBII).

No escapo e pedicelo foi observada a presença de dois tipos de estruturas; as cerdas de Bohm's bristles e sensila esquamiforme. Enquanto que ao longo dos antenômeros, na região dorsal da antena, intercalada às escamas foi observada a presença de dois tipos de sensilas, as caéticas e esquamiforme dispersas aleatoriamente em pequenos pontos da superfície. Na região ventral da antena há uma área específica evidente com ausência de escamas denominada de região sensilar por possui uma grande variedade de tipos e subtipos de sensilas.

Cerdas Bohm's bristles e Sensila esquamiforme

As cerdas de Bohm's bristles (BB) foram observadas nas bases do segmento da antena, escapo e pedicelo. Essas são estruturalmente pontiagudas similares a espinhos com parede cuticular aparentemente lisa (Figura 3 e 2). Nas antenas de

macho e fêmea foram identificados dois subtipos dessas estruturas BBI (longa) e BBII (curta). As cerdas de Bohm's bristles ficam intercaladas com as escamas presentes nos segmentos basais da antena, essas estruturas foram identificadas em grupos. As Bohm's bristles tipo I apresentam diferença significativa em comprimento ($t=5,39$; $d.f=48$; $p= 0,0000$) (Tabela 2) e largura ($t=3,47$; $d.f=48$; $p= 0,0011$) entre os sexos, isso também foi observado com o subtipo II no comprimento ($t=4,75$; $d.f=48$; $p= 0,0000$) e largura ($t=2,35$; $d.f=48$; $p= 0,0227$) (Tabela 2).

As sensilas esquamiformes (SSq) estão inclinadas sobre a superfície antenal em ambos os sexos e são morfologicamente similares às escamas, entretanto possui estrutura alongada e ponta apical fina (Figura 3 e 2). Foram identificadas no escapo, pedicelo e flagelo de forma dispersa e aleatória na área antenal.

Sensila caética

A sensila caética (SCa) apresenta uma leve inclinação para superfície da antena, sua estrutura é longa e possui uma parede cuticular estriada, sua ponta apical possui uma protuberância e foram indicados dois subtipos denominada de sensila caética SCa I longa e fina, sensila caética SCa II média e robusta, ambos possuem parede cuticular estriada e há presença de soquete na base (Figura 4). As caéticas estão distribuídas de forma irregular e aleatória pelos antenômeros nas regiões dorsal e ventral da antena.

Foi observado que a sensila caética subtipo I não apresentou distinção entre os sexos nos parâmetros de comprimento ($t=1,28$; $d.f=48$; $p= 0,2060$) e largura ($t=0,21$; $d.f=48$; $p= 0,8315$) (Tabela 2). Esse subtipo I foi verificado na região dorsal de forma dispersas entre as escamas ao longo do flagelo e na região ventral. Na sensila caética subtipo II também não foi indicado variação estatística nos parâmetros de comprimento e largura (Tabela 2). Essa estrutura de sensila subtipo II foi observada em macho e fêmea na área sensilar localizada na região ventral da antena.

Sensila tricóide

As sensilas tricóides (ST) encontram-se amplamente distribuídas na região ventral da antena dos indivíduos macho e fêmea. Este tipo de sensila apresenta-se inclinado sobre a superfície da antena e possui uma estrutura alongada um eixo

cilíndrico com diâmetro fino na ponta apical, apresentando uma superfície com ranhuras estriada transversalmente com possível presença de poros P (Figura 5). Os subtipos STI e STII foram observados área sensilar localizada na região ventral da antena. Estes subtipos estão dispersos de forma abundante na área sensilar principalmente no clube antenal, ou seja, na ponta apical da antena. A sensila tricóide subtipo I não apresentou diferença significativa entre os sexos em relação ao comprimento e largura (Tabela 2). Enquanto no subtipo II da sensila tricóide foi observado diferença no comprimento ($t=3,44$; $d.f=48$; $p= 0,0012$) (Tabela 2) e não houve diferença na largura entre macho e fêmea (Tabela 2)

Sensila basicônica

Sensilas basicônicas (SBa) foram observadas em ambos os sexos e são sensilas curtas e ficam levemente inclinadas sobre a superfície cuticular da antena. Ao longo da parede cuticular da sensila basicônica foi observada estrias e/ou ranhuras, sua superfície cuticular aparenta apresentar uma possível presença de poros nesta região (Figura 5). Esta sensila foi observada na região ventral na área sensilar da antena que segue até o clube. Essas sensilas foram encontradas nas antenas dos machos e fêmeas na mesma região e foi observado que não houve diferença significativa de comprimento e largura entre os sexos (Tabela 2).

Sensila coelocônica e aurícula

As sensilas coelocônicas (SCo) estão presentes em ambos os sexos são similares a botões de flores, sua estrutura possui uma covinha rodeada por estruturas semelhantes a “espinhos” cuticulares (Figura 6). Estas sensilas foram observadas ao longo da área sensilar na região ventral de ambos os sexos até o clube da antena, sua presença foi observada de forma aleatória intercalada entre as demais sensilas presentes na parede cuticular da antena.

As sensilas aurículas (SAu) possui uma superfície achatada, enrugada e aparenta apresentar poros na parede cuticular (Figura 6). Estão distribuídas aleatoriamente na parte ventral da superfície da antena, a partir do meio da antena numa faixa estreita denominada área sensilar, essas estruturas foram observadas de forma dispersa no clube da antena de indivíduos macho e fêmea. De acordo com a

variável de comprimento e largura a sensila auricílica não apresentou diferença significativa entre os sexos (Tabela 2).

Sensila ampullacea

A sensila ampullacea (AMP) é morfológicamente semelhante a um pino dentro de uma covinha presente na cutícula da antena (Figura 2) e esta localizada na área sensilar na região ventral da antena, foi observada essa estrutura de sensila de forma limitada ao longo da antena.

Componente eletrofisiologicamente ativo

Em bioensaio de eletroantenografia usando a antena de fêmea de 24-48 horas de idade como detector biológico frente o extrato da asa posterior do macho de *E. cyparissias* de 48 horas de idade foi observado que houve estímulo da antena respondendo com um sinal para a um componente na amostra do macho. No extrato o pico ao qual a antena apresentou resposta foi denominado de componente EAD-ativo indicado num tempo de retenção (TR: 738 segundos/ 12.300minutos) (Figura 7).

O espectro de massas deste componente principal EAG-ativo apresentou um padrão de fragmentação que sugere tratar-se de um álcool terpeno exibindo um íon molecular m/z 290 (baixa intensidade) (Figura 8a). A indicação do álcool na molécula foi suportada pela presença do fragmento m/z 272 ($M^+ - 18$) resultando da perda de uma molécula de água. Foi observado o pico do íon base de m/z 69 (100%), referente ao fragmento $C_5H_9^+$. A análise do espectro de massas permitiu indicar a fórmula molecular $C_{20}H_{34}O$, referente a um diterpeno já indicado pela análise do KI e pela biblioteca do CG-MS consultada. O composto foi identificado como o (2*E*,6*E*,10*E*)-3,7,11,15-tetramethylhexadeca-2,6,10,14-tetraen-1-ol (*E,E,E*) (Figura 8b).

Foi observado que o componente EAG-ativo esta presente na amostra do macho e ausente no extrato da fêmea (Figura 9). O índice de Kovats do pico ativo na amostra coincidiu com o padrão comercial quando analisado sobre as mesmas condições num sistema de cromatografia gasosa (Tabela 3).

A partir da comparação dos cromatogramas da amostra com um padrão autêntico (Figura 10a) e a coninjeção reforçou a identificação do componente. A quantificação do composto foi realizada com o uso de padrão interno eicosano (C20) com concentração conhecida (Figura 10b). A concentração do geranylgeraniol no extrato da asa posterior do macho foi estimada em torno de 11,826117µg/mL. Em testes eletrofisiológicos com o padrão autêntico do geranyl geraniol foi observado estímulo de resposta em antenas de fêmeas virgens de *E. cyparissias* concretizando a identificação do componente ativo (Figura 10c).

DISCUSSÃO

As antenas constituem o sistema olfativo dos insetos e as estruturas que as compõem, ou seja, as sensilas possuem uma sensibilidade fundamental para atender as necessidades dos insetos no meio ambiente (Allen et al. 2011; Suh et al. 2014). As sensilas possuem distintas funções como detectores de temperatura, umidade e função olfativa. Esta última tem grande importância para seleção de moléculas voláteis, e a presença de poros em algumas sensilas indica uma função de detector para moléculas de odores (Brito et al. 2016; Bawin et al. 2017). Estudos indicam que as sensilas com características porosas possuem proteínas ligantes de odores (OBPs) que transportam as moléculas pela linfa sensilar até os receptores olfativos para que a informação chegue até o cérebro do inseto desencadeando uma cascata de comportamento (Leal 2013; Reisenman et al. 2016; Pelosi et al. 2018; Yuvaraj et al. 2018)

Em *E. cyparissias* as antenas de indivíduos macho e fêmea foram morfologicamente similares com ausência de dimorfismo nas antenas semelhante ao observado em *Paysandisia archon* (Lepidoptera: Castniidae) (Ruschioni et al. 2015). A estrutura da antena, longa e fina, com a base final achatada (clube) sugere similaridade com um taco, este tipo de antena é comum em outros lepidópteros (Monteys et al. 2012). Em antenas de *E. cyparissias* de ambos os sexos foi observada uma área que comporta diversas sensilas com abundância de tipos de estruturas sensilares, essa área foi localizada na região ventral da antena. Há insetos que possuem área sensilar limitada na qual as sensilas se detêm de forma abundante na parte ventral da

antena, essa característica foi observada em outros lepidópteros como *Paysandisia archon* (Monteys et al. 2012; Ruschioni et al. 2015).

A ordem lepidóptera compreende mariposas e borboletas que fazem uso do sistema olfativo para localizar a fonte alimentar, o parceiro para copula e/ou local para ovoposição, assim o sistema sensorial dos insetos é fundamental para sua sobrevivência e adaptação no meio ambiente (Corcoran et al. 2015; Ando et al. 2018). Em borboleta e mariposa a dispersão de sensilas e a área de concentração dessas estruturas difere bastante. Estudos indicam que as borboletas necessitam mais que órgãos sensoriais para sobreviver em um habitat, uma vez que, esse tipo de lepidóptero possui uma área reduzida para as sensilas e a localização de muitas dessas estruturas com função olfativa encontram-se no clube antenal. Estudos indicam que as borboletas são portadores de estímulos visuais que têm um papel fundamental para este tipo de inseto (Delle-vedove et al. 2014; Monteys et al. 2017). Já as mariposas apresentam sensilas de forma abundante, compreendendo uma diversidade de estruturas nas quais muitas possuem função olfativa, essas são um recurso fundamental para a sobrevivência dos indivíduos no ambiente (Ando et al. 2018).

Os tipos de sensilas foram iguais em ambos os sexos de *E. cyparissias* e foi observada a presença de estruturas características de sensila basicônica, tricóide, auricilica, coelocônica, esquamiforme, caética, ampullacea e Böhm"s bristles e alguns desses tipos de sensilas foram observadas em outros lepidópteros como, por exemplo, em *Cydia pomonella* e *Cydia succedana* (Roh et al. 2016), *Paysandisia archon* (Monteys et al. 2012), *Dendrolimus tabulaeformis* (Zhang et al. 2013), *Phauda flammans* Walker (Liu et al. 2018) e *Coleophora obducta* (Meyrick) (Lepidoptera: Coleophoridae) (Yang et al. 2009).

As sensilas tricoides, caéticas e Böhm"s bristles foram classificadas com os subtipos I e II em ambos os sexos. Foi observado dimorfismo sexual entre os sexos nas sensilas tricoides subtipo II e Böhm"s bristles I e II, onde no macho essas sensilas foram maiores que nas fêmeas. A diferença de comprimento dos subtipos sensilas de entre os sexos já foram relatados em outros insetos (Chang et al. 2015).

Foi sugerida uma possível presença de poros nas sensilas basicônica, tricóide e auricilica observadas em antenas de ambos os sexos de *E. cyparissias*. Esses tipos de sensilas são comuns em muitos Lepidópteros como *Plutella xylostella* L. (Plutellidae) (Wee et al. 2016), *Scoliopteryx libatrix* L. (Lepidoptera: Noctuidae) (Anderson et al. 2000). Essas estruturas são consideradas como olfativas atuando na percepção de moléculas de feromônio e/ou voláteis de plantas, por apresentarem uma parede cuticular multiporosa que permite a passagem de moléculas de odores que são transportadas para ORs. Esses tipos de sensilas já foram observados em mariposa e borboletas e atuam de forma decisiva na detecção de semioquímicos (Anderson et al. 2000; Ruschioni et al. 2015; Brito et al. 2016).

As cerdas de Böhm's bristles localizadas no escapo e pedicelo são similares em estrutura e localização a outros insetos da ordem lepidóptera como em *Eogystia hippophaecolus* (Hu et al. 2018), *Isoceras sibirica* Alpheraky (Liu et al. 2014). Para essas estruturas estudos sugerem uma função mecanorreceptora, sua localização contribui para esta função envolvida no movimento da antena (Bawin et al. 2017).

As sensilas esquamiforme são estruturalmente similares às escamas, essas sensilas são comuns em diversos lepidópteros (Zheng et al. 2014). Em *E. cyparissias* foi observado esse tipo de sensila na região da base da antena e ao longo do flagelo intercalado entre as escamas na região dorsal e na região ventral. Em alguns lepidópteros é atribuída a função mecanorreceptora (Bawin et al. 2017).

As sensilas caéticas foram observadas na parte dorsal e ventral da antena são sensilas comuns em diversos insetos da ordem lepidóptera (Mark et al. 2018; Yang et al. 2017a). Em alguns lepidópteros essas sensilas podem ter função mecanorreceptora e quimiorreceptora, uma vez que, podem apresentar cutícula aporosa ou porosa (Faucheux et al. 2006; Bawin et al. 2017; Yang et al. 2017a).

Sensilas coelocônicas foram observadas no clube antenal (base achatada próxima à ponta apical) em indivíduos macho e fêmea de *E. cyparissias* com a estrutura semelhante às sugeridas em outros lepidópteros como *Mythimna separata* (Chang et al. 2015), *Helicoverpa armigera* (Diongue et al. 2013), *Spodoptera littoralis* (Seada 2015). Estudos sugerem para algumas sensilas coelocônicas a função olfativa e/ou função quimio, hidro e termorreceptora (Bawin et al. 2017). As sensilas ampullacea

presentes em *E. cyparissias* foram indicadas em outros lepidópteros como *Paysandisia archon* (Burmeister 1879) e distintas funções são inferidas a esse tipo como, por exemplo, mecano-gustativa hidro e termorreceptora (Ruschioni et al. 2015).

A *E. cyparissias* é uma praga importante para cultura de plantas da família Arecaceae (Delgado e Couturier 2003; Costa 2015). Sendo necessário buscar alternativas de controle e/ou monitoramento eficaz para este inseto no campo de maneira que seja menos agressiva a planta e ao meio ambiente. A presença de sensilvas olfativas na antena de *E. cyparissias* tem relação com a detecção e seleção de moléculas capazes de causar estímulo a antena do sexo oposto. Há estruturas olfativas que são específicas para feromônio e voláteis de plantas, essa especificidade corrobora com testes eletrofisiológicos e comportamentais (Bawin et al. 2017). No presente estudo, foi observado que um componente masculino da classe dos diterpenos o geranylgeraniol (2*E*, 6*E*, 10*E*)-3, 7, 11,15-tetramethylhexadeca-2, 6, 10,14-tetraen-1-ol (*E*, *E*, *E*) estimulou resposta olfativa em antena de fêmeas virgens com 24-48 horas de idade da *E. cyparissias*.

O geranylgeraniol é um álcool acíclico diterpeno, constituído por quatro unidades isoprênicas. Esse componente tem um papel relevante em processos biológicos, além de ser intermediário para biossíntese de outros componentes da classe dos diterpenos (Luckner 1984).

Esse composto atua como semioquímico com papel de feromônio para abelhas e zangões (Kullenberg et al. 1970; Svensson e Bergstrom 1977; Rasmont et al. 2005; Krieger et al. 2006; Bertsch et al. 2008) e também foi indicado como feromônio no vertebrado *Tayassu tajacu* (Tayassuidae, Mammalia) (Waterhouse et al. 1996), artrópodes *Agriotes medvedevi* (Coleoptera: Elateridae) (Yatsynin et al. 1996), *Xylocopa guaianensi* (Hymenoptera: Anthophoridae) (Williams et al. 1987), *Xylocopa varipuncta* (Hymenoptera: Anthophoridae) (Andersen et al. 1988). Como aleloquímico foi observado em cupins europeus do gênero *Reticulitermes* (Quintana et al. 2003) e abelhas *Euglossini* (Apidae) (Eltz et al. 2006).

O geranylgeraniol foi identificado nas glândulas de Dufour da abelha *Nannotrigona testaceicornis* (Cruz-lopez et al., 2001) e das formigas *Aenictus rotundatus* (Oldham

et al., 1994), *Ectatomma ruidum* (Bestmann et al., 1995), *Formica nigricans*, *Formica rufa* e *Formica polyctena* (Bergstrom e Lijfqvist, 1973) e *Polyergus rufescens* (D'Ettorre et al., 2000).

Na composição química de plantas foi verificada a presença do geranilgeraniol como, por exemplo, no urucum a *Bixa orellana* L. considerada uma rica fonte desse composto principalmente nas sementes (Jondiko e Pattenden 1989; Beretta et al. 2018; Zabot et al. 2019), esse álcool terpeno foi também verificado no óleo do híbrido da palma de óleo *Elaeis oleífera* x *E. guineenses* (Mozzon et al. 2015) e na fração insaponificável do óleo de linhaça (Fedeli et al. 1966).

Os terpenos têm ganhado destaque como feromônio de insetos em ordens como coleóptera, lepidóptera, hymenoptera dentre outras (Reddy e Guerrero 2004; Schulz 2005; Krieger et al. 2006; Andersson et al. 2007; Darragh et al. 2017; Yang et al. 2017b). A presença de terpenos no metabolismo secundário de planta é conhecida enquanto nos insetos vem ganhando cada vez mais interesse, estudos sugerem que terpenos oriundos de plantas também podem agir como percursos para semioquímicos, os insetos podem sequestrar terpenos de fonte alimentar e usa-los na fase adulta na comunicação química (Boppré 1978; Blum 1987; Tillman et al. 1999; Blomquist e Vogt 2003; Breitmaier 2006; Borges et al. 2018).

Além das fêmeas da ordem lepidóptera liberar componentes atraentes à longa distância, os insetos masculinos vêm ganhando espaço com a presença de semioquímico de atração a curta distância que é produzida em partes do seu corpo do inseto como asa, perna e abdômen, e tem relação com a presença de estrutura especializada que auxiliam na dispersão a androcônia que pode ser tufo de pelos e/ou escamas. A presença de componente macho coespecífico foi citado para diversos insetos da ordem lepidóptera como, por exemplo, *Bicyclus anynana* (Nieberding et al. 2008, 2012), *Heliconius melpomene* (Darragh et al., 2017), *Pieris napi* (Andersson et al. 2007).

A presença de composto macho específico foi citada para lepidópteros da família Castniidae, como, por exemplo, *E. cyparissias* (Costa 2015) e *Paysandisia archon* (Quero et al. 2017). O inseto da família Castniidae *Paysandisia archon* (Burmeister 1879) apresentou resposta de antenas de fêmeas ao componente macho específico

identificado no extrato do segundo par de pernas deste inseto onde foi observada a presença de androcônia (Frérot et al. 2013; Quero et al. 2017). Em muitos lepidópteros da família Castniidae a presença de tufo de pêlos especializados, as denominadas androconias foram identificadas em distintas partes do corpo do corpo destes insetos (Le Cerf 1936). O geranilgeraniol proporcionou a despolarização da antena da fêmea de *E. cyparissias* indicando resposta reconhecida pela sensila olfativa presente na antena do inseto. A presença do componente macho específico neste inseto evidencia o possível envolvimento na comunicação química a curta distância comum em insetos masculinos e em alguns Castniideos como, por exemplo, para a *P. archon* (Frérot et al. 2013).

CONCLUSÃO

O presente estudo mostrou que *E. cyparissias* apresenta diversas estruturas sensilares destacando as tricóides, aurilicas e basicônicas presentes em ambos os sexos que são indicadas como quimiorreceptoras podendo detectar moléculas de feromônio e/ou voláteis de plantas. A antena de fêmea foi estimulada pela presença do composto diterpeno geranilgeraniol componente macho específico. Mesmo com a indicação deste composto como responsável por estimular resposta olfativa em antena de fêmea sua função no comportamento do inseto ainda precisa ser mais estudada assim como outros fatores. A molécula indicada norteia um avanço para ecologia química do Castniideo *E. cyparissias* e estudos envolvendo os semioquímicos podem proporcionar uma base de referência para o desenvolvimento de alternativas de monitoramento e/ou controle ambientalmente saudável.

REFERÊNCIAS

- Aldana RC, Calvache H, Higuera Ó (2004) Manejo integrado de *Cyparissius daedalus* Cramer En los Llanos Orientales. PALMAS 25:1–10
- Allen CE, Zwaan BJ, Brakefield PM (2011) Evolution of Sexual Dimorphism in the Lepidoptera. Annu Rev Entomol 56:445–464. doi: 10.1146/annurev-ento-120709-144828
- Andersen, J. F., Buchmann, S. L., Weisleder, D., Plattner, R. D., & Minckley, R. L. (1988). Identification of thoracic gland constituents from male *Xylocopa* spp.

- Latreille (Hymenoptera: Anthophoridae) from Arizona. *Journal of chemical ecology*, 14(4), 1153-1162.
- Anderson P, Hallberg E, Subchev M (2000) Morphology of antennal sensilla auricillica and their detection of plant volatiles in the Herald moth, *Scoliopteryx libatrix* L. (Lepidoptera: Noctuidae). *Arthropod Struct Dev* 29:33–41. doi: 10.1016/S1467-8039(00)00011-6
- Andersson J, Borg-Karlson A-K, Vongvanich N, Wiklund C (2007) Male sex pheromone release and female mate choice in a butterfly. *J Exp Biol* 964–970. doi: 10.1242/jeb.02726
- Ando T, Fujiwara H, Kojima T (2018) The pivotal role of aristaless in development and evolution of diverse antennal morphologies in moths and butterflies. *BMC Evol Biol* 18:1–12. doi: 10.1186/s12862-018-1124-2
- Baker TC, Zhu JJ, Millar JG (2016) Delivering on the Promise of Pheromones. *J Chem Ecol* 553–556. doi: 10.1007/s10886-016-0744-5
- Bawin T, Collard F, Backer L De, et al (2017) Structure and distribution of the sensilla on the antennae of *Tuta absoluta* (Lepidoptera : Gelechiidae). *Micron* 96:16–28. doi: 10.1016/j.micron.2017.01.008
- Beretta G, Gelmini F, Fontana F, et al (2018) Semi-preparative HPLC purification of δ -tocotrienol (δ -T3) from *Elaeis guineensis* Jacq. and *Bixa orellana* L. and evaluation of its in vitro anticancer activity in human A375 melanoma cells. *Nat Prod Res* 32:1130–1135. doi: 10.1080/14786419.2017.1320793
- Bernardino AS (2007) Flutuação populacional da Broca-da-coroa-foliar *Eupalamides cyparissias* (Lepidoptera: castiniidae) em plantios de dendê (*Elaeis guinnensis*) no estado do Pará. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Viçosa-MG.
- Bertsch A, Schweer H, Titze A (2008) Chemistry of the Cephalic Labial Gland Secretions of Male *Bombus morrisoni* and *B. rufocinctus*, Two North American Bumblebee Males with Perching Behavior. *J Chem Ecol* 34:1268–1274. doi: 10.1007/s10886-008-9538-8

- Bergström, G., & Löfqvist, J. (1973). Chemical congruence of the complex odoriferous secretions from Dufour's gland in three species of ants of the genus *Formica*. *Journal of Insect Physiology*, 19(4), 877-907.
- Bestmann, H. J., Janssen, E., Kern, F., Liepold, B., Hölldobler, B., & Boveri, T. (1995). All-trans geranylgeranyl acetate and geranylgeraniol, recruitment pheromone components in the dufour gland of the ponerine ant *Ectatomma ruidum* Pheromones, 100 [1]. *Naturwissenschaften*, 82(7), 334-336.
- Blomquist, G. J., & Vogt, R. G. (Eds.). (2003). *Insect pheromone biochemistry and molecular biology: The biosynthesis and detection of pheromones and plant volatiles*. Elsevier.
- Blum, M. S. (1987). Biosynthesis of arthropod exocrine compounds. *Annual review of entomology*, 32(1), 381-413.
- Boppré, M. (1978). Chemical communication, plant relationships, and mimicry in the evolution of danaid butterflies. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 24(3), 264-277.
- Borges E de O, Martins CBC, Silva RR, Zarbin PHG (2018) Terpenoids dominate the bouquet of volatile organic compounds produced by *Passiflora edulis* in response to herbivory by *Heliconius erato phyllis* (Lepidoptera : Nymphalidae). *Arthropod Plant Interact* 12:123–131. doi: 10.1007/s11829-017-9560-2
- Breitmaier E (2006) Terpenes: flavors, fragrances, pharmaca, pheromones. John Wiley & Sons.
- Brito NF, Moreira MF, Melo ACA (2016) A look inside odorant-binding proteins in insect chemoreception. *J Insect Physiol* 95:51–65. doi: 10.1016/j.jinsphys.2016.09.008
- D'Ettorre, P., Errard, C., Ibarra, F., Francke, W., & Hefetz, A. (2000). Sneak in or repel your enemy: Dufour's gland repellent as a strategy for successful usurpation in the slave-maker *Polyergus rufescens*. *Chemoecology*, 10(3), 135-142.
- Chang X, Zhang S, Lv L, Wang M (2015) Insight Into the Ultrastructure of Antennal

- Sensilla of *Mythimna separata* (Lepidoptera : Noctuidae). *J Insect Sci* 15:1–22
- Corcoran JA, Jordan MD, Thrimawithana AH (2015) The Peripheral Olfactory Repertoire of the Lightbrown Apple Moth , *Epiphyas postvittana*. *PLoS One* 10:1–18. doi: 10.1371/journal.pone.0128596
- Costa, D. D. L. (2015). Estudo químico e morfológico da broca-da-coroa-foliar eupalamides cyparissias (Fabricius, 1776)(Lepidoptera: castniidae) de areáceas.(Tese de Doutorado), Universidade Federal de Alagoas
- Costanzo, K., & Monteiro, A. (2007). The use of chemical and visual cues in female choice in the butterfly *Bicyclus anynana*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274(1611), 845-851.
- Cruz-López, L., Patricio, E. F. L., & Morgan, E. D. (2001). Secretions of stingless bees: the Dufour gland of *Nannotrigona testaceicornis*. *Journal of chemical ecology*, 27(1), 69-80.
- Cruz CD (2013) Acta Scientiarum GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. 271–276. doi: 10.4025/actasciagron.v35i3.21251
- Darragh, K., Vanjari, S., Mann, F., Gonzalez-Rojas, M. F., Morrison, C. R., Salazar, C., ... & Jiggins, C. D. (2017). Male sex pheromone components in *Heliconius* butterflies released by the androconia affect female choice. *PeerJ*, 5, e3953.
- Delgado C, Couturier G (2003) *Mauritia flexuosa* and *Eupalamides cyparissias* in the Peruvian. *PALMS* 47:104–106
- Delle-Vedove, R., Frérot, B., Hossaert-McKey, M., Beaudoin-Ollivier, L., & Shelly, T. (2014). Courtship behavior of the castniid palm borer, *Paysandisia archon*: potential roles of male scents and visual cues in a day-flying moth. *Journal of Insect Science*, 14(1).
- Diongue, A., Yang, J. T., & Lai, P. Y. (2013). Biomorphometric characteristics of different types of sensilla detected on the antenna of *Helicoverpa armigera* by scanning electron microscopy. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 16(1), 23-28.
- Eltz, T., Ayasse, M., & Lunau, K. (2006). Species-specific antennal responses to

- tibial fragrances by male orchid bees. *Journal of chemical ecology*, 32(1), 71-79. doi: 10.1007/s10886-006-9352-0
- Faucheux MJ, Kristensen NP, Yen SH (2006) The antennae of neopseustid moths: Morphology and phylogenetic implications, with special reference to the sensilla (Insecta, Lepidoptera, Neopseustidae). *Zool Anz* 245:131–142. doi: 10.1016/j.jcz.2006.05.004
- Fedeli E, Capella P, Cirimele M, Jacini G (1966) Isolation of geranylgeraniol from the unsaponifiable fraction of linseed oil. *J Lipid Res* 7:437–441
- Frérot B, Delle-Vodeve R, Zagatti LB-O, et al (2013) Fragrant legs in *Paysandisia archon* males (Lepidoptera, Castniidae). *Chemoecology* 137–142. doi: 10.1007/s00049-013-0128-z
- Goulart, H. F., Lima, M. R. F., de Morais, R. K., & Bernardo, V. B. (2015). Feromônios: uma alternativa verde para o manejo integrado de pragas. *Revista Virtual de Química*, 7(4), 1205-1224. doi: 10.5935/1984-6835.20150068
- Hu P, Gao C, Tao J, et al (2018) Sensilla on six olfactory organs of male *Eogystia hippophaecolus* (Lepidoptera: Cossidae). *Microsc Res Tech* 1–12. doi: 10.1002/jemt.23072
- Jondiko IJO, Pattenden G (1989) Terpenoids and an Apocarotenoid. 28:3159–3162
- Korkytowski CA, Ruiz ER (1979) El barreno de los racimos de la palma aceitera, *Castnia daedalus* (Cramer), Lepidopt.: Castniidae, en la plantacion de tocache - Peru. *Rev. Peru. Entomolia* 49–62
- Krieger, G. M., Duchateau, M. J., Van Doorn, A., Ibarra, F., Francke, W., & Ayasse, M. (2006). Identification of queen sex pheromone components of the bumblebee *Bombus terrestris*. *Journal of chemical ecology*, 32(2), 453. doi: 10.1007/s10886-005-9013-8
- Kullenberg B, Bergstrom G, Stallberg-Stenhagen S (1970) Volatile components of the Cephalic Marking secretion of male Bumble Bees.pdf. *Acta Chem. Scand* 4:1481–1483
- Le Cerf F (1936) Un type remarquable d'androconie chez certaines *Gazera*

- Boisduval (Lep. Castniidae). *Bull la Société Entomol Fr* 41:191–195
- Leal, W. S. (2013). Odorant reception in insects: roles of receptors, binding proteins, and degrading enzymes. *Annual review of entomology*, 58, 373-391. doi: 10.1146/annurev-ento-120811-153635
- Liu, J. Y., Zhang, Y. J., Huang, Z. Y., Dong, Z. S., Duan, Y. B., Lu, W., & Zheng, X. L. (2018). Ultrastructural Observations of Antennal Sensilla in *Phauda flammans* Walker (Lepidoptera: Zygaenidae). *Journal of Entomological Science*, 53(3), 281-294.
- Liu, H., Liu, Z., Jing, X., Yang, M., Liu, J., & Zhang, J. (2014). Scanning electron microscopy studies of antennal sensilla of *Isoceras sibirica* Alpheraky (Lepidoptera, Cossidae). In *Annales de la Société entomologique de France (NS)* (Vol. 50, No. 3-4, pp. 350-357). Taylor & Francis. doi: 10.1080/00379271.2014.981405
- Luckner, M. (2013). *Secondary metabolism in microorganisms, plants and animals*. Springer Science & Business Media.
- Mark, C. J., Parsons, S., & Holwell, G. I. (2018). Antennal morphology and micro-sensory architecture of the New Zealand magpie moth, *Nyctemera annulata* (Lepidoptera: Erebidae): diversity, distribution and dimorphism. *Austral Entomology*, 57(3), 303-323.
- Monteys VS, Aguilar L, Saiz-Ardanaz D, et al (2005) Comparative morphology of the egg of the castniid palm borer , *Paysandisia archon* (Burmeister , 1880) (Lepidoptera : Castniidae). *Syst Biodivers* 1–23. doi: 10.1017/S1477200005001635
- Monteys VS i, Acín P, Rosell G, et al (2012) Moths Behaving like Butterflies . Evolutionary Loss of Long Range Attractant Pheromones in Castniid Moths : A *Paysandisia archon* Model. *PLoS One* 7:. doi: 10.1371/journal.pone.0029282
- Monteys VS, Quero C, Rosell G, Guerrero A (2017) Sexual communication in day-flying Lepidoptera with special reference to castniids or “ butterfly-moths ”. *Bull Entomol Res* 421–431. doi: 10.1017/S0007485316000158

- Mozzon, M., Pacetti, D., Frega, N. G., & Lucci, P. (2015). Crude palm oil from interspecific hybrid *Elaeis oleifera* × *E. guineensis*: alcoholic constituents of unsaponifiable matter. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 92(5), 717-724. doi: 10.1007/s11746-015-2628-1
- Nieberding, C. M., De Vos, H., Schneider, M. V., Lassance, J. M., Estramil, N., Andersson, J., ... & Brakefield, P. M. (2008). The male sex pheromone of the butterfly *Bicyclus anynana*: towards an evolutionary analysis. *PLoS One*, 3(7), e2751. doi: 10.1371/journal.pone.0002751
- Nieberding, C. M., Fischer, K., Saastamoinen, M., Allen, C. E., Wallin, E. A., Hedenström, E., & Brakefield, P. M. (2012). Cracking the olfactory code of a butterfly: the scent of ageing. *Ecology letters*, 15(5), 415-424. doi: 10.1111/j.1461-0248.2012.01748.x
- Oldham, N. J., Morgan, E. D., Gobin, B., Schoeters, E., & Billen, J. (1994). Volatile secretions of old world army ant *Aenictus rotundatus* and chemotaxonomic implications of army ant dufour gland chemistry. *Journal of chemical ecology*, 20(12), 3297-3305.
- Pelosi, P., Zhu, J., & Knoll, W. (2018). Odorant-Binding Proteins as Sensing Elements for Odour Monitoring. *Sensors*, 18(10), 3248. doi: 10.3390/s18103248
- Pérez, D., Iannaccone, J., & Pinedo, H. (2010). Toxicological effect from the stem cortex of the amazonic plant soapberry *Paullinia clavifera* (Sapindaceae) upon three arthropods. *Ciencia e Investigación Agraria*, 37(3), 133-143.
- Pérez, D. D., & Iannaccone, J. (2008). Mortalidad y repelencia en *Eupalamides cyparissias* (Lepidoptera: Castniidae), plaga de la palma aceitera *Elaeis guineensis*, por efecto de diez extractos botánicos. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 67.
- Quero C, Sarto V, Rosell G, Puigmartí M (2017) Sexual communication in castniid moths : Males mark their territories and appear to bear all chemical burden. *PLoS One* 12:1–18. doi: 10.1371/journal.pone.0171166
- Quintana, A., Reinhard, J., Faure, R., Uva, P., Bagnères, A. G., Massiot, G., & Clément, J. L. (2003). Interspecific variation in terpenoid composition of

- defensive secretions of European *Reticulitermes* termites. *Journal of chemical ecology*, 29(3), 639-652.
- Rasmont, P., Terzo, M., Aytakin, A. M., Hines, H., Urbanova, K., Cahlikova, L., & Valterova, I. (2005). Cephalic secretions of the bumblebee subgenus *Sibiricobombus* Vogt suggest *Bombus niveatus* Kriechbaumer and *Bombus vorticosus* Gerstaecker are conspecific (Hymenoptera, Apidae, *Bombus*). *Apidologie*, 36(4), 571-584.
- Rebouças, L., Caraciolo, M. D. S., Sant'Ana, A. E., Pickett, J. A., Wadhams, L. J., & Pow, E. M. (1999). Chemical composition from female pheromone gland of *Castnia licus* (Drury)(Lepidoptera: Castniidae). *Química Nova*, 22(5), 645-648.
- Reddy GVP, Guerrero A (2004) Interactions of insect pheromones and plant semiochemicals. *Trends Plant Sci* 9:. doi: 10.1016/j.tplants.2004.03.009
- Reisenman, C. E., Lei, H., & Guerenstein, P. G. (2016). Neuroethology of olfactory-guided behavior and its potential application in the control of harmful insects. *Frontiers in physiology*, 7, 271.
- Roh, H. S., Park, K. C., Oh, H. W., & Park, C. G. (2016). Morphology and distribution of antennal sensilla of two tortricid moths, *Cydia pomonella* and *C. succedana* (Lepidoptera). *Microscopy research and technique*, 79(11), 1069-1081. doi: 10.1002/jemt.22747.
- Rull, V., & Montoya, E. (2014). *Mauritia flexuosa* palm swamp communities: natural or human-made? A palynological study of the Gran Sabana region (northern South America) within a neotropical context. *Quaternary Science Reviews*, 99, 17-33.
- Ruschioni, S., Riolo, P., Verdolini, E., Peri, E., Guarino, S., Colazza, S., ... & Isidoro, N. (2015). Fine structure of antennal sensilla of *Paysandisia archon* and electrophysiological responses to volatile compounds associated with host palms. *PloS one*, 10(4), e0124607.
- Saha T, Chandran N (2017) Chemical ecology and pest management : A review. *International Journal of Chemical Studies* 5(6): 618-621

- Schuiling M, Dinther JBM Van (1980) Ecology and control of *Castnia dedalus*, a major pest of oil palm in Brazil. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie* 90. - ISSN 0044-2240
- Schulz, S. (Ed.). (2005). *The chemistry of pheromones and other semiochemicals* // (Vol. 2). Springer Science & Business Media.
- Seada MA (2015) The Egyptian German Society for Zoology Antennal morphology and sensillum distribution of female cotton leaf worm *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera : Noctuidae). *J Basic Appl Zool* 68:10–18. doi: 10.1016/j.jobaz.2015.01.005
- Suh, E., Bohbot, J. D., & Zwiebel, L. J. (2014). Peripheral olfactory signaling in insects. *Current Opinion in Insect Science*, 6, 86-92. doi: 10.1016/j.cois.2014.10.006
- Svensson, B. G., & Bergström, G. (1977). Volatile marking secretions from the labial gland of North European *Pyrobombus* DT males (Hymenoptera, Apidae). *Insectes sociaux*, 24(2), 213-224.
- Tillman, J. A., Seybold, S. J., Jurenka, R. A., & Blomquist, G. J. (1999). Insect pheromones—an overview of biosynthesis and endocrine regulation. *Insect biochemistry and molecular biology*, 29(6), 481-514.
- Tinôco, R. S. (2016). Determinação do nível de dano econômico para opsíphanes invirae Hübner, 1808 (Lepidoptera: Nymphalidae) em palma de óleo. Tese de doutorado. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) - Jaboticabal.
- Vasquez J, Delgado C, Couturier G, et al (2008) Review article Pest insects of the palm tree *Mauritia flexuosa* L. f., dwarf form, in Peruvian Amazonia. *Fruits* 63:227–238. doi: 10.1051/fruits
- Virapongse, A., Endress, B. A., Gilmore, M. P., Horn, C., & Romulo, C. (2017). Ecology, livelihoods, and management of the *Mauritia flexuosa* palm in South America. *Global Ecology and Conservation*, 10, 70-92.
- Waterhouse, J. S., Ke, J., Pickett, J. A., & Weldon, P. J. (1996). Volatile components in dorsal gland secretions of the collared peccary, *Tayassu tajacu* (Tayassuidae,

- Mammalia). *Journal of chemical ecology*, 22(7), 1307-1314.
- Wee, S. L., Oh, H. W., & Park, K. C. (2016). Antennal sensillum morphology and electrophysiological responses of olfactory receptor neurons in trichoid sensilla of the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *Florida Entomologist*, 99(sp1), 146-159.
- Williams, H. J., Vinson, S. B., & Frankie, G. W. (1987). Chemical content of the dorsal mesosomal gland of two *Xylocopa* species (Hymenoptera: Anthophoridae) from Costa Rica. Contenido químico de las glándulas mesosomales dorsales de dos especies de *Xylocopa* (Hymenoptera: Anthophoridae) de Costa Rica. *Comparative Biochemistry and Physiology. B. Comparative Biochemistry.*, 86(2), 311-312.
- Witzgall, P., Kirsch, P., & Cork, A. (2010). Sex pheromones and their impact on pest management. *Journal of chemical ecology*, 36(1), 80-100. doi: 10.1007/s10886-009-9737-y
- Yang H, Yan SC, Liu D (2009) Ultrastructural observations on antennal sensilla of *Coleophora obducta* (Meyrick) (Lepidoptera: Coleophoridae). *Micron* 40:231–238. doi: 10.1016/j.micron.2008.08.002
- Yang S, Liu H, Zhang JT, et al (2017a) Scanning Electron Microscopy Study of the Antennal Sensilla of *Monema flavescens* Walker (Lepidoptera : Limacodidae). *Neotrop Entomol* 46:175–181. doi: 10.1007/s13744-016-0450-6
- Yang S, Zhang X, Gao Y, et al (2017b) Male-Produced Aggregation Pheromone of Coffee Bean Weevil , *Araecerus fasciculatus*. *J Chem Ecol* 43:978–985
- Yatsynin VG, Rubanova E V, Okhrimenko N V (1996) Identification of female-produced sex pheromones and their geographical differences in pheromone gland extract composition from click beetles (Col., Elateridae). *J Appl Entomol* 120:0–3
- Yew, J. Y., & Chung, H. (2015). Insect pheromones: An overview of function, form, and discovery. *Progress in lipid research*, 59, 88-105. doi: 10.1016/j.plipres.2015.06.001

- Yuvaraj, J. K., Andersson, M. N., Corcoran, J. A., Anderbrant, O., & Löfstedt, C. (2018). Functional characterization of odorant receptors from *Lampronia capitella* suggests a non-ditrysian origin of the lepidopteran pheromone receptor clade. *Insect biochemistry and molecular biology*, 100, 39-47. doi: 10.1016/j.ibmb.2018.06.002.
- Zabot, G. L., Silva, E. K., Emerick, L. B., Felisberto, M. H. F., Clerici, M. T. P. S., & Meireles, M. A. A. (2019). Physicochemical, morphological, thermal and pasting properties of a novel native starch obtained from annatto seeds. *Food hydrocolloids*, 89, 321-329. doi: 10.1016/j.foodhyd.2018.10.041
- zarbin, P. H., Rodrigues, M. A., & Lima, E. R. (2009). Insect pheromones: technology and challenges for a competitive agriculture in Brazil. *Química Nova*, 32(3), 722-731.
- Zhang, S., Zhang, Z., Kong, X., & Wang, H. (2013). Sexual dimorphism in antennal morphology and sensilla ultrastructure of *Dendrolimus tabulaeformis* Tsai et Liu (Lepidoptera: Lasiocampidae). *Microscopy research and technique*, 76(1), 50-57.
- Zheng, H., Liu, H., Guo, S., Yan, Y., Zong, S., & Zhang, J. (2014). Scanning electron microscopy study of the antennal sensilla of *Catocala remissa*. *Bull. Insectol*, 67, 63-71.

Tabela 1. Antena total de comprimento e número de antenomos em machos e fêmeas de *E. cyparissias*.

Localização	Variável	Fêmea	Macho	<i>t</i> ; <i>d.f.</i> ; <i>p</i>
Antenomo	Número	75,20±1,75a	74,20±1,87a	<i>t</i> =1,23; <i>d.f.</i> =18; <i>p</i> =0,2334
Total antena	Comprimento (mm)	31,76±1,83a	32,68±1,46a	<i>t</i> =1,11; <i>d.f.</i> =14; <i>p</i> = 0,2835

Foram usadas dez antenas de cada sexo e os resultados são apresentados como a média ± sem. Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste *t* de Student.

Tabela 2. Comprimento estimado e largura basal de diferentes tipos de sensilas na antena de machos e fêmeas de *E. cyparissias*.

Sensila	Variavel	Fêmea	Macho	<i>t</i> ; <i>d.f.</i> ; <i>p</i>
SCha1	Comprimento (µm)	116,09±26,58a	124,09±16,31a	<i>t</i> =1,28; <i>d.f.</i> =48; <i>p</i> = 0,2060
SCha 1	Largura (µm)	5,12±0,84a	5,18±0,95a	<i>t</i> =0,21; <i>d.f.</i> =48; <i>p</i> = 0,8315
SCha 2	Comprimento (µm)	61,77±10,10a	59,63±15,10a	<i>t</i> =0,59; <i>d.f.</i> =48; <i>p</i> = 0,5600
SCha 2	Largura (µm)	4,45±0,51a	4,56±0,64a	<i>t</i> =0,65; <i>d.f.</i> =48; <i>p</i> = 0,5191
BB1	Comprimento (µm)	54,25±8,47a	66,28±7,27b	<i>t</i> =5,39; <i>d.f.</i> =48; <i>p</i> = 0,0000
BB1	Largura (µm)	3,55±0,73a	4,28±0,77b	<i>t</i> =3,47; <i>d.f.</i> =48; <i>p</i> = 0,0011
BB2	Comprimento (µm)	37,63±7,17a	46,95±6,69b	<i>t</i> =4,75; <i>d.f.</i> =48; <i>p</i> = 0,0000
BB2	Largura (µm)	3,27±0,75a	3,70±0,53b	<i>t</i> =2,35; <i>d.f.</i> =48; <i>p</i> = 0,0227
ST1	Comprimento (µm)	71,85±5,34a	71,87±5,01a	<i>t</i> =0,15; <i>d.f.</i> =48; <i>p</i> = 0,9876
ST1	Largura (µm)	4,15±0,82a	4,06±0,66a	<i>t</i> =0,43; <i>d.f.</i> =48; <i>p</i> = 0,6692
ST2	Comprimento (µm)	54,30±4,25a	57,60±2,21b	<i>t</i> =3,44; <i>d.f.</i> =48; <i>p</i> = 0,0012
ST2	Largura (µm)	3,55±0,63a	3,75±0,64a	<i>t</i> =1,15; <i>d.f.</i> =48; <i>p</i> =0,2552
SAu	Comprimento (µm)	19,15±3,62a	18,64±3,17a	<i>t</i> =0,53; <i>d.f.</i> =48; <i>p</i> =0,5964
SAu	Largura (µm)	2,34±0,53a	2,26±0,58a	<i>t</i> =0,52; <i>d.f.</i> =48; <i>p</i> = 0,6030
SBa	Comprimento (µm)	26,98±8,13a	30,52±4,99a	<i>t</i> =1,85; <i>d.f.</i> =48; <i>p</i> = 0,0703
SBa	Largura (µm)	2,45±0,64a	2,05±0,43a	<i>t</i> =2,60; <i>d.f.</i> =48; <i>p</i> = 0,0122
SCo	Comprimento (µm)	-	-	-
SCo	Largura (µm)	-	-	-
SSqua	Comprimento (µm)	-	-	-
SSqua	Largura (µm)	-	-	-
AMP	Comprimento (µm)	-	-	-
AMP	Largura (µm)	-	-	-

Os valores são apresentados como a média ± sem. Foram utilizadas 25 unidades de sensila por tipo e subtipo em cada sexo. Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste *t* de Student.

A presença do “-” indica que não foi possível realizar a análise da variável de comprimento e largura com essas sensilas.

Tabela 3. Confirmação da identificação do componente EAD-ativo por CGDIC com o padrão autêntico

Amostra	Tempo de retenção (minutos) ^a	Index kovats ^a	MM ^b (g/mol)
Geranilgeraniol (Extrato da asa posterior)	11.369	2191	-
Geranilgeraniol (Padrão)	11.376	2192	290,48

^a Programação 1 CG-DIC em coluna DB5; ^b Massa molecular – MM.

Figura 1. Antena de *E. cyparissias* (A), partes da antena escapo EC, pedicelo PE, flagelo FL, clube CL e apical AP (B), região ventral e área sensilar destaque em amarelo no flagelo e escamas Sc nas áreas laterais(C), flagelo FL e unidades de antenômero AT na região ventral (D); Região ventral do clube com área sensilar e região dorsal coberta por escamas (E).

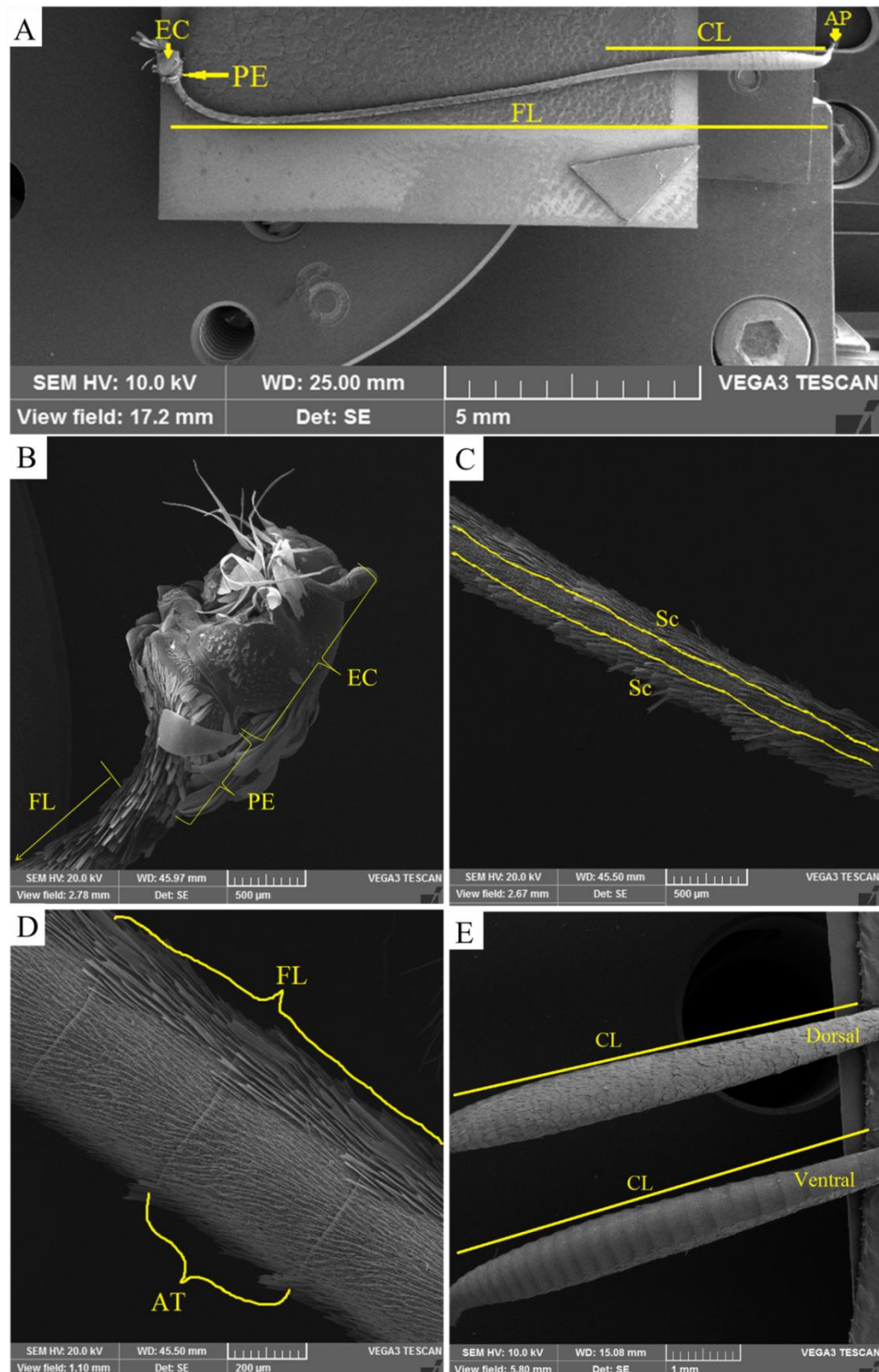


Figura 2. Imagens de microscopia eletrônica de varredura dos tipos de sensilas de macho e fêmea da *E.cyparissias*. Cerdas de Bohm's bristles BB (A); Sensila squamiforme SSq (B); Escamas Sc (B-C); Sensilas caética SCha e aurilica SAu (C); Sensilas tricóide ST e coelocônica SCo (C-E); ampullacea AMP (D) e Sensila basicônia (E).

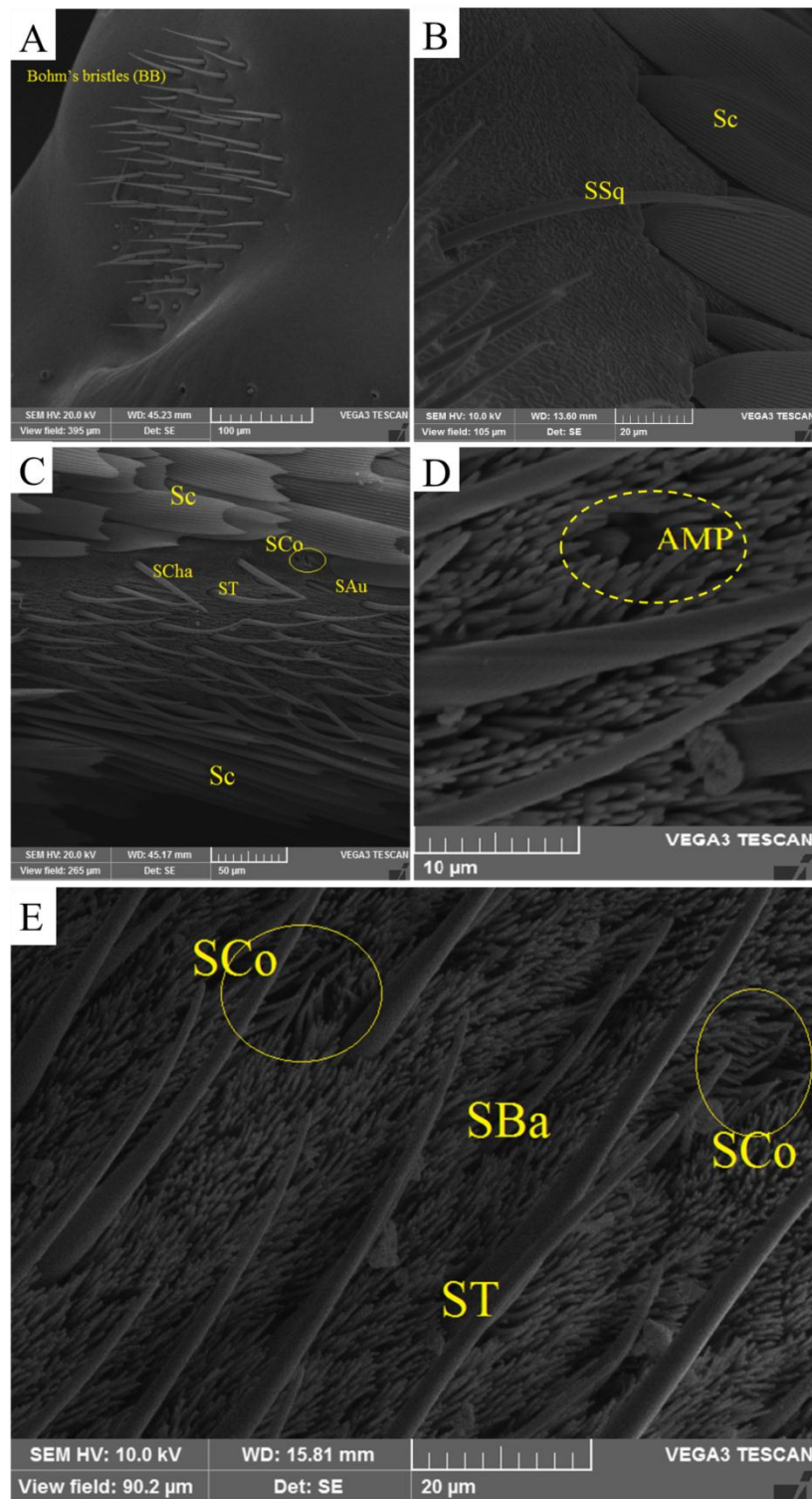


Figura 3. Cerdas Bohm's bristles (A-B) e sensila esquamiforme SSq (A e C) presentes na antena de macho e fêmea.

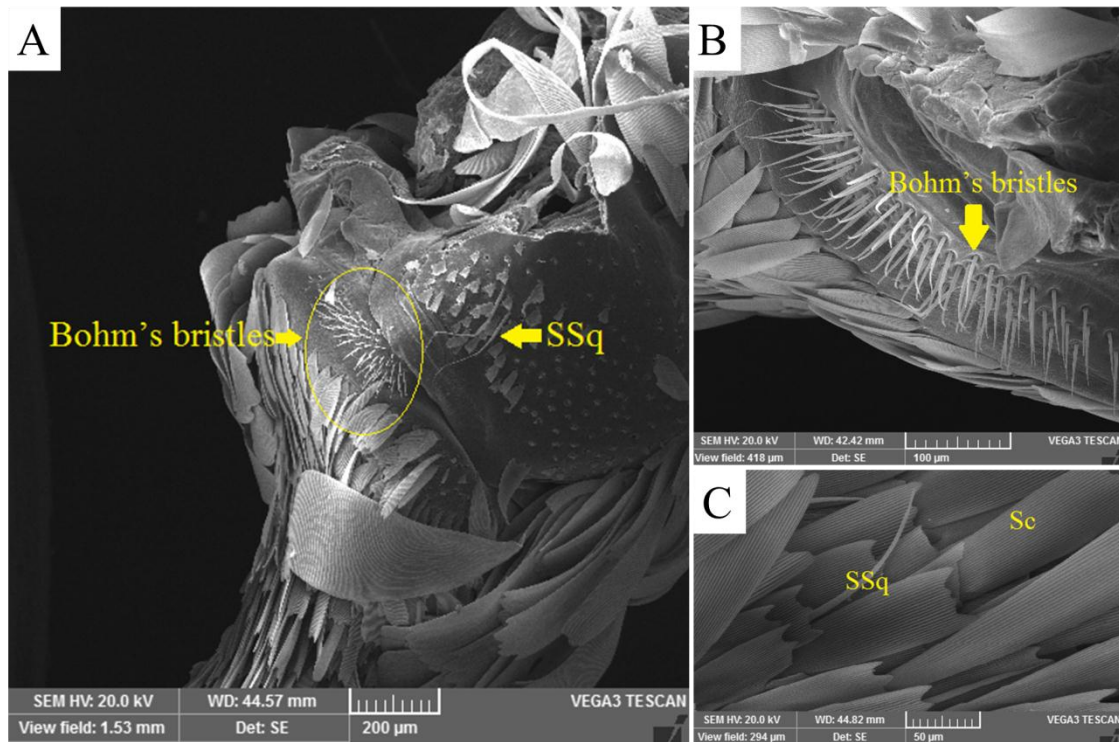


Figura 4. Estrutura da sensila caética presente em ambos os sexos. Sensila caética SCha I (A); Ponta apical da sensila caética I (B); Sensila caética SCha II sua base possui soquete S (C); parede cuticular estriada (D).

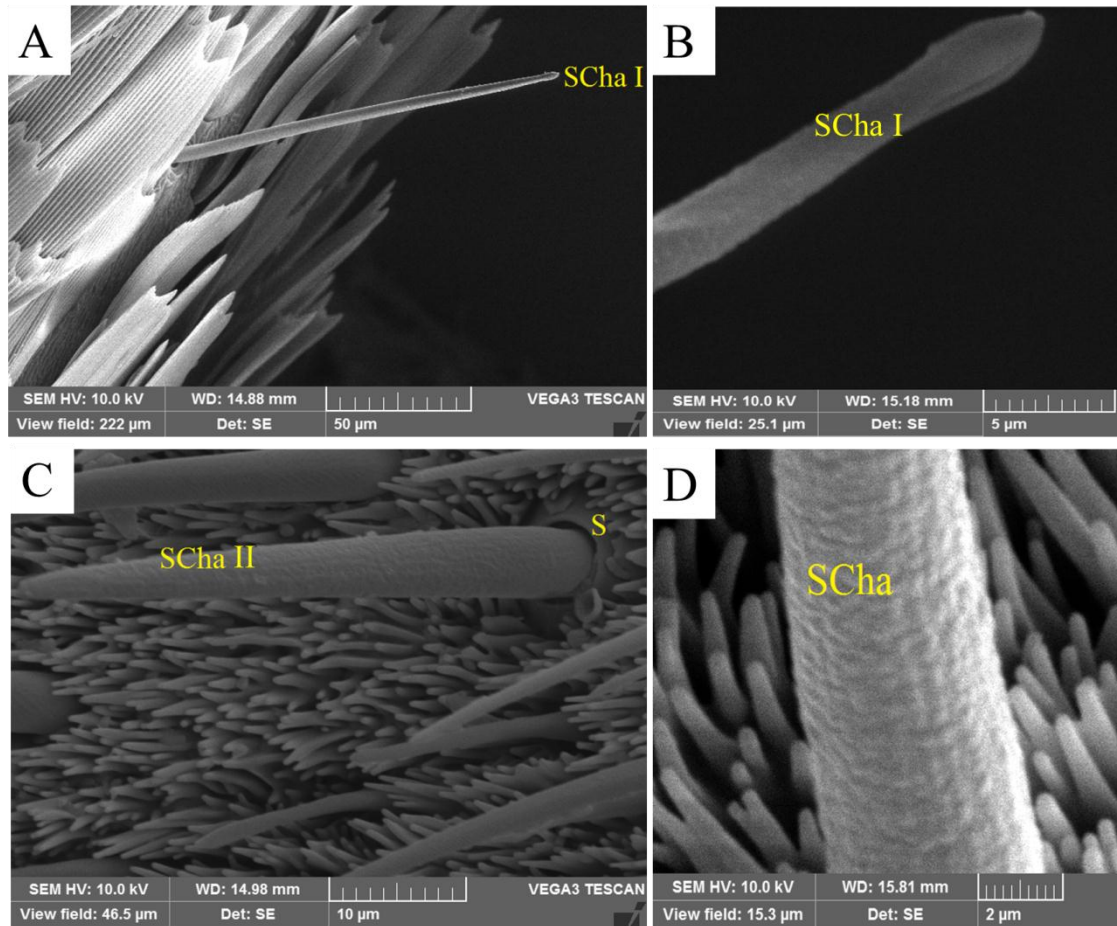


Figura 5. Sensilas tricóides e basicônica presentes na área sensilar da antena de *E. cyparissias*. Sensila tricóide ST (A-D) e Sensila basicônica SBa (A-C); indicação (→) da possível presença de poros P na parede cuticular da sensila tricóide (B e D); possível presença de poros P (→) na parede cuticular da sensila basicônica (C).

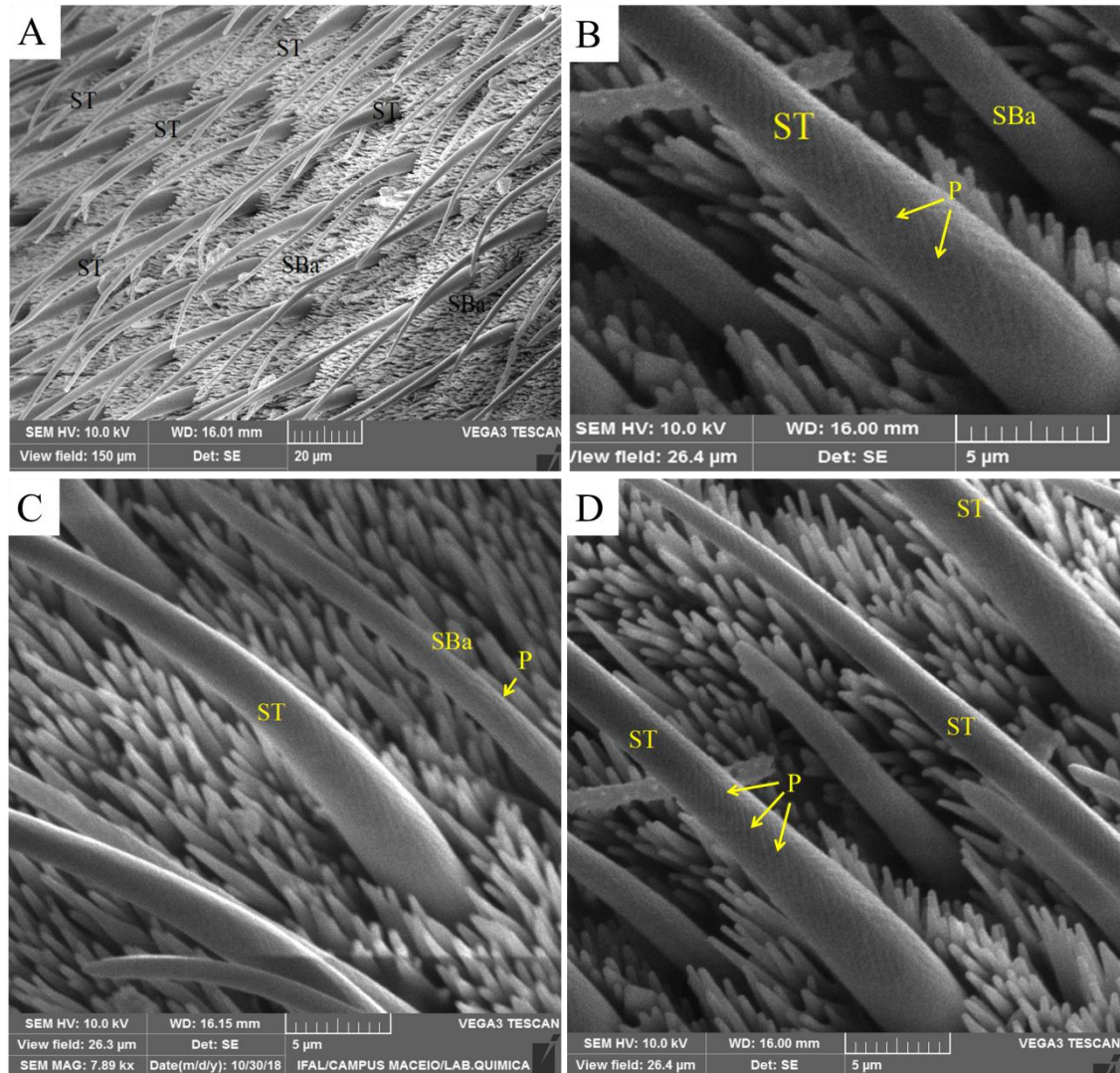


Figura 6. Estrutura morfológica das sensila coelocônica e aurícula em ambos os sexos. Sensila coelocônica SCo (A e C); sensila aurícula SAu (B e D); parede cuticular com indicação de possível poro P (→) em sensila aurícula SAu (B).

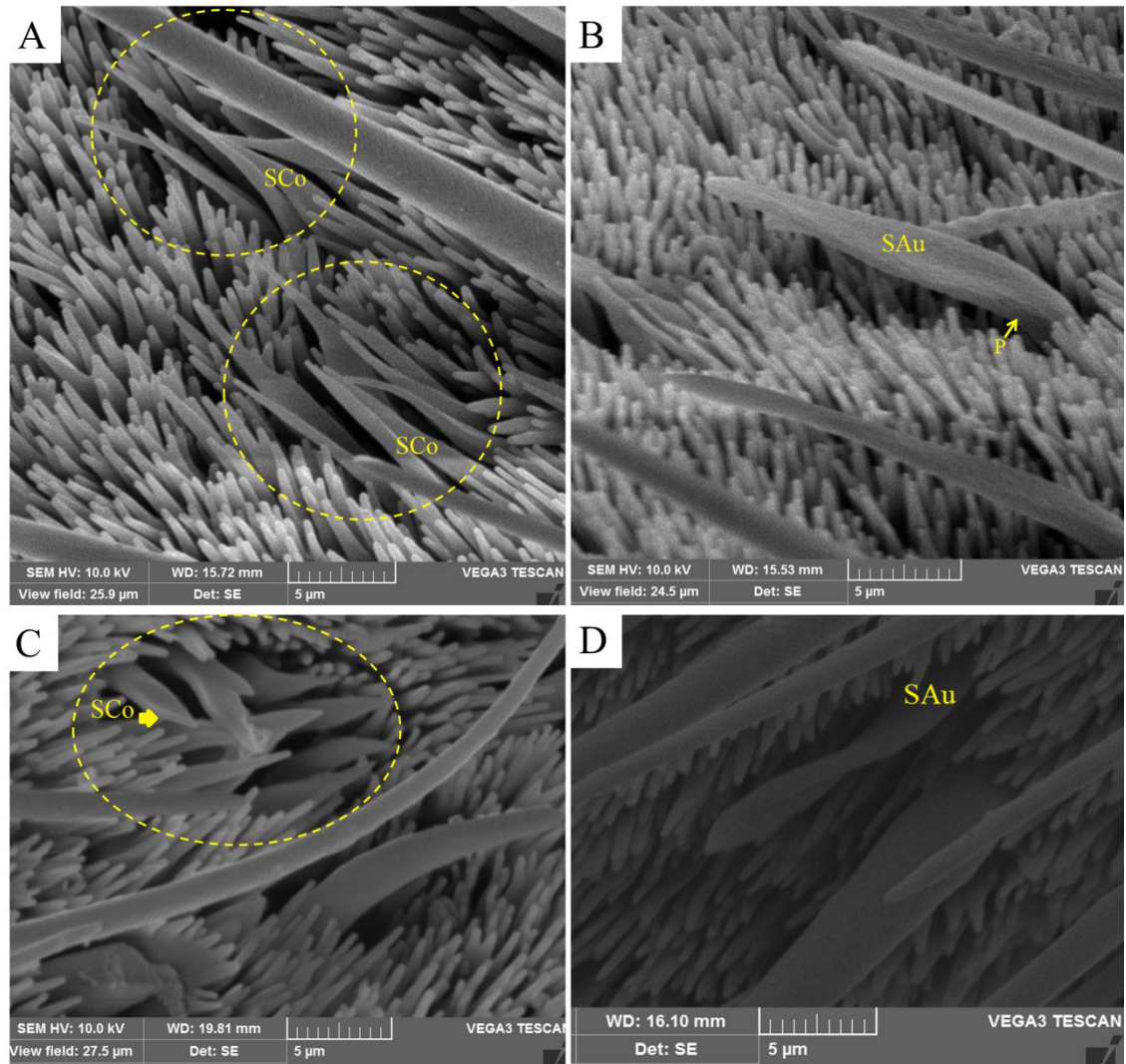


Figura 7. Cromatograma de resposta eletrofisiológica de fêmea virgem diante de um componente (1) no extrato da asa posterior do macho.



Figura 8. Espectro de massas do geranylgeraniol (a); formula molecular do geranylgeraniol (b).

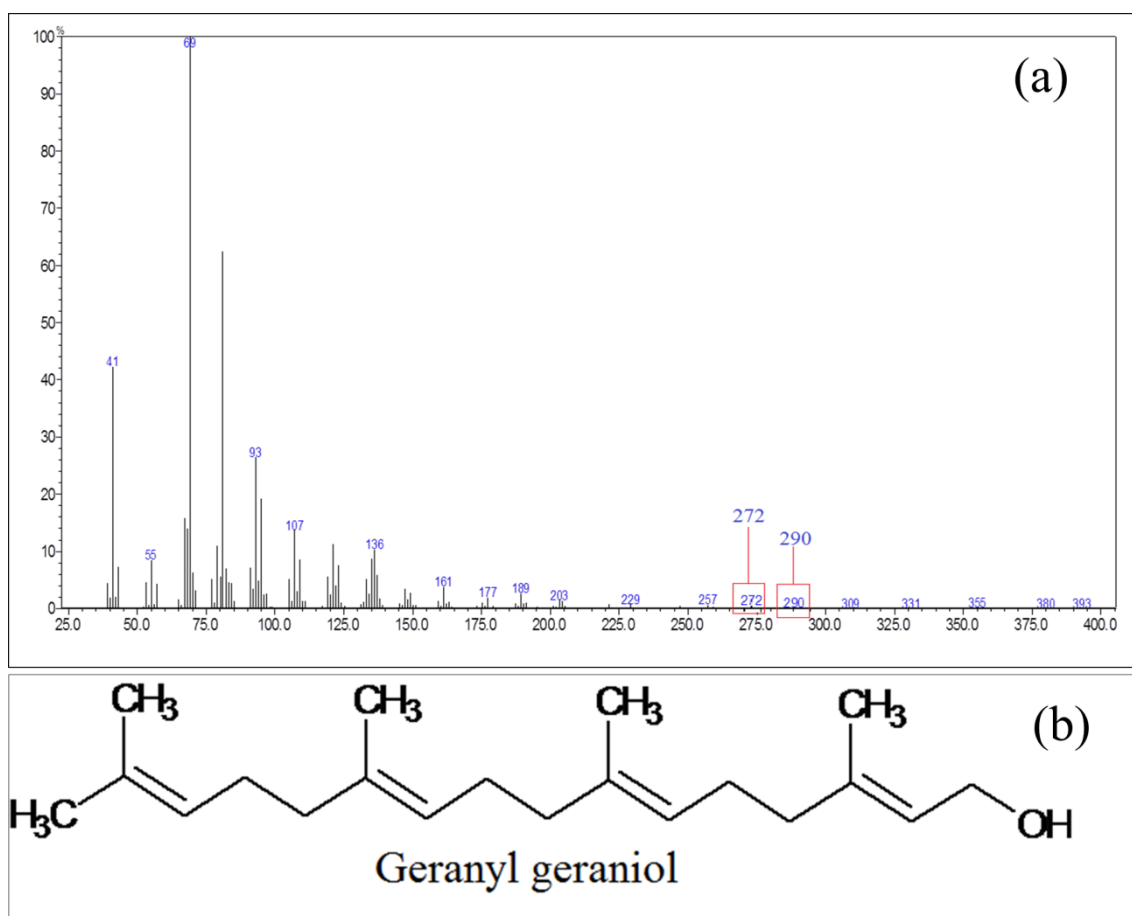


Figura 9. Cromatograma CG-DIC (Programação1) do extrato da asa posterior do macho e da fêmea com identificação do componente EAD-ativo no macho (1).

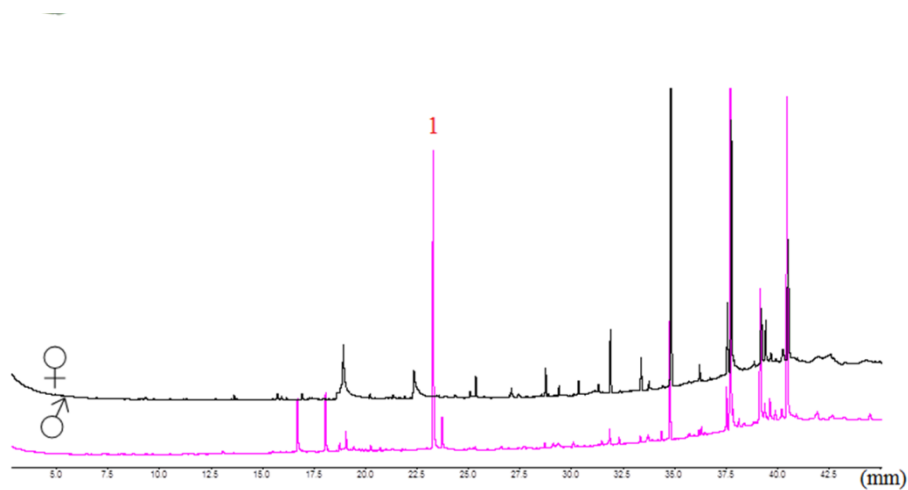
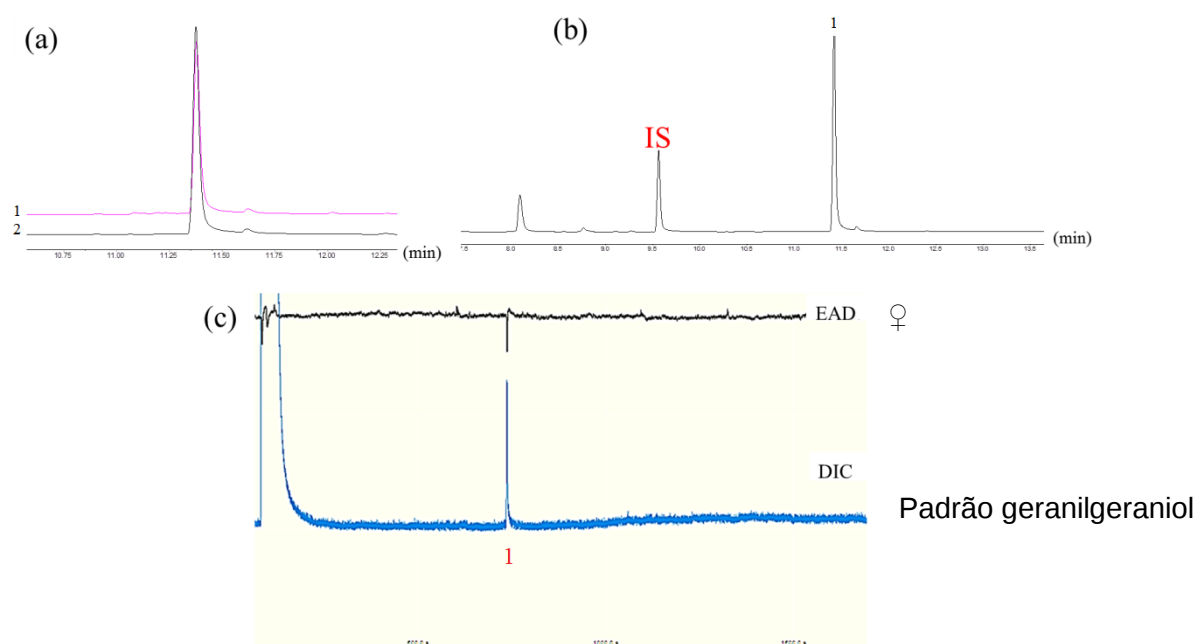


Figura 10. Sobreposição do cromatograma do CG-DIC extrato do macho (1) com padrão autêntico do geranylgeraniol (2) (a); quantificação do composto EAD-ativo com padrão interno eicosano IS (b); resposta eletrofisiológica de antena de fêmea frente o padrão autêntico do geranylgeraniol (1) (c).



CAPITULO III

Manuscript Details

Manuscript number	JMIC_2019_36
Title	Morphology and distribution of antennal sensilla of <i>Automeris liberia</i> (Lepidoptera: Saturniidae)
Article type	Full Length Article

Abstract

The lepidopteran species *Automeris liberia* from the Saturniidae family is a polyphagous insect responsible for defoliating plants, such as the oil palm (*Elaeis guineensis* Jacqum). The antennae of insects play an important role in survival in various environments. Antennae are the main sensory organs of insects and have different sensilla to detect chemical cues, movement, humidity and temperature. The olfactory and sensorial structures present in the antennae are responsible for the behavior of the insects, which is influenced by chemical communication. The morphology, distribution and location of the sensilla in the antennae of male and female *A. liberia* were investigated by scanning electron microscopy to understand the olfactory mechanisms relevant to insect-insect communication and insect-plant communication, among others. The results showed that the antennal length and the number of antennomeres were different between the sexes, demonstrating the existence of sexual dimorphism in the antennae. According to the morphological data, seven types of sensilla were identified along the surface of the antennae, classified as trichodea, chaetica, basiconica, coeloconica, squamiformia, styloconica and Böhm's bristles. In the sensilla chaetica, basiconica and Böhm's bristles, two subtypes based on length were identified in both sexes. The trichodea sensilla indicated dimorphism since three subtypes were observed in males, while in females only one subtype was observed, according to the length of the sensory structure. Sensilla trichodea subtypes I and II were specific to males, while subtype III was observed in both sexes. These types of sensilla are involved in the recognition of pheromone molecules. Therefore, the morphological study of the localization of the sensilla in the antennae will provide useful and relevant results for electrophysiological studies and behavioral tests. This can help to understand the chemical orientation of insects and provide directed strategies for pest control.

Keywords	Lepidopteran; antenna; morphology; sensilla; scanning electron microscopy
Manuscript category	Filip Braet - Biological Science
Corresponding Author	Antonio Euzébio Goulart Santana
Corresponding Author's Institution	Centro de Ciências Agrárias-CECA/Universidade Federal de Alagoas-UFAL
Order of Authors	Kelly Barbosa da Silva, Chryslane Barbosa da Silva, Karlos Antônio Lisboa Ribeiro Júnior, Jeniffer McLaine Duarte de Freitas, Johnatan Duarte de Freitas, Gilson Sánchez Chía, Ricardo Salles Tinoco, João Gomes da Costa, Henrique Fonseca Goulart, Antonio Euzébio Goulart Santana
Suggested reviewers	Heinrich Römer, Verheggen François Jean, Christer Löfstedt, Christopher Ranger

Submission Files Included in this PDF

File Name [File Type]

Cover letter Micron 2019.docx [Cover Letter]

Highlights.docx [Highlights]

Antennal sensilla of *Automeris liberia*.docx [Manuscript File]

To view all the submission files, including those not included in the PDF, click on the manuscript title on your EVISE Homepage, then click 'Download zip file'.

Morphology and distribution of antennal sensilla of *Automeris liberia* (Lepidoptera: Saturniidae)

Kelly Barbosa da Silva^{a*}, Chryslane Barbosa da Silva^a, Karlos Antônio Lisboa Ribeiro Júnior^a, Jeniffer McLaine Duarte de Freitas^b, Johnnatan Duarte de Freitas^b, Gilson Sanchez Chia^c, Ricardo Salles Tinôco^c, João Gomes da Costa^d, Henrique Fonseca Goulart^e, Antônio Euzébio Goulart Santana^{e*}

^aUniversidade Federal de Alagoas -UFAL, 57072-970, Maceió-Alagoas, Brazil

^bInstituto Federal de Alagoas-IFAL, 57020-600, Maceió-Alagoas, Brazil

^cGrupo Agropalma, 68695-000, Tailândia – Pará, Brazil

^dEmbrapa Tabuleiros Costeiros, BR 104, s/n, 57100-000, Rio Largo-Alagoas, Brazil

^eCentro de Ciências Agrárias-CECA/Universidade Federal de Alagoas-UFAL, BR 104, s/n, 57100-000, Rio Largo-Alagoas, Brazil

^{a*}, ^{e*} Autor (es) correspondente (s): Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Santana;
Kelly Barbosa da Silva

(Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais, Universidade Federal de Alagoas-UFAL, Maceió-Alagoas, Brazil).

aegs@ceca.ufal.br; kelly.barbosa.ufal@gmail.com

Highlights

- The lepidopteran species *Automeris liberia* exhibited sexual dimorphism in the antennae of males (bipectinate) and females (filiform).
- The typology of sensilla present on the olfactory sensory system (antennae) in both sexes of *A. liberia* was investigated.
- Seven types of sensilla were identified in males and females.
- Sexual dimorphism was observed with the presence of sensilla subtypes in insect antennae.
- Trichodea sensilla subtypes I and II were identified only in male antennae.

ABSTRACT: The lepidopteran species *Automeris liberia* from the Saturniidae family is a polyphagous insect responsible for defoliating plants, such as the oil palm (*Elaeis guineensis* Jaquim). The antennae of insects play an important role in survival in various environments. Antennae are the main sensory organs of insects and have different sensilla to detect chemical cues, movement, humidity and temperature. The olfactory and sensorial structures present in the antennae are responsible for the behavior of the insects, which is influenced by chemical communication. The morphology, distribution and location of the sensilla in the antennae of male and female *A. liberia* were investigated by scanning electron microscopy to understand the olfactory mechanisms relevant to insect-insect communication and insect-plant communication, among others. The results showed that the antennal length and the number of antennomeres were different between the sexes, demonstrating the

existence of sexual dimorphism in the antennae. According to the morphological data, seven types of sensilla were identified along the surface of the antennae, classified as trichodea, chaetica, basiconica, coeloconica, squamiformia, styloconica and Böhm's bristles. In the sensilla chaetica, basiconica and Böhm's bristles, two subtypes based on length were identified in both sexes. The trichodea sensilla indicated dimorphism since three subtypes were observed in males, while in females only one subtype was observed, according to the length of the sensory structure. Sensilla trichodea subtypes I and II were specific to males, while subtype III was observed in both sexes. These types of sensilla are involved in the recognition of pheromone molecules. Therefore, the morphological study of the localization of the sensilla in the antennae will provide useful and relevant results for electrophysiological studies and behavioral tests. This can help to understand the chemical orientation of insects and provide directed strategies for pest control.

Keywords: Lepidopteran; antenna; morphology; sensilla; scanning electron microscopy

1.Introduction

The antennae are the main olfactory organs of insects and play an important role in the detection and selection of dispersed odoriferous molecules in the environment and in the perception of physical signals regarding temperature and humidity (Altner and Prillinger, 1980; Bawin et al., 2017; Li et al., 2018). The insect olfactory sensory system comprises numerous structures called sensilla that are morphologically distinct and have diverse functions, influencing insect behavior and assisting the communication and survival of the species in their habitat (Altner and Prillinger 1980; Ma et al., 2017; Sakurai et al., 2014).

Sensilla have several functions, including mechanoreception, thermoreception, hygromoreception, chemoreception (reception of pheromones and reception of plant volatiles), and gustatory reception, according to their structural morphology (Steinbrecht, 1996). A feature of the sensilla that has increasing relevance is the presence of pores along the cuticular surface, which suggests an olfactory function (Steinbrecht, 1997; Yuvaraj et al., 2013). This type of function is important for behavioral and mainly electrophysiological tests for the detection of plant volatiles and/or pheromones defining the components that stimulate responses in the olfactory organ of the insect (Hallem et al., 2006; Ruschioni et al., 2015).

Olfactory structures are important for detecting odoriferous molecules. Molecules enter the pores of the cuticular wall of the olfactory sensilla and are

transported in the sensillar lymph by odorant-binding proteins (OBPs); OBPs arrive at the odoriferous receptors (ORs) present in the dendrites of the olfactory sensory neurons, which aid in the process of recognition of the molecules and induce a response to the antennae. In addition, recognizes the appropriate proportion of the active component capable of triggering a response in the insect brain that results in behavioral activity (Carraher et al., 2015; Guidobaldi et al., 2014; Jacquin-joly and Merlin, 2004; Reisenman et al., 2016, Steinbrecht, 1996; Suh et al., 2014).

Sensilla have already been described for insects of different orders and contain several types the most common are sensilla coeloconica, squamiformia, chaetica, styloconica, trichodea, basiconica and auricillica (Li et al., 2018; Ma et al., 2017; Melnitsky et al., 2018; Song et al., 2017; Wang et al., 2016; Yi et al., 2016). Many insects have a large number of sensilla types and subtypes that may vary or not between individuals (Faucheux et al., 2006). There are descriptions that in some moths, males have a larger region, number, and type or subtype of sensilla when compared to females, reinforcing the indication that males are the recipients of odoriferous molecules since female moths generally release substances attractive to males (Bawin et al., 2017; Yan et al., 2017).

Studies of insect antennae sensilla structures and semiochemicals are important to help elucidate the olfactory mechanisms involved in detecting molecules that can be electrophysiologically active. In this way, the olfactory sensory system is increasingly important to studies directed at the chemical ecology of insects for behavioral control and useful for elucidating the communication system between conspecifics insects (Agelopoulos et al., 1999; Brito et al., 2016; Deisig et al., 2014; Park et al., 2018; Tegoni et al., 2004; Zhang et al., 2015).

The typology of the olfactory sensory system is little studied in many insects, as is case for the species *Automeris liberia* (Lepidoptera: Saturniidae), a moth that causes damage to Aceraceae plantations, specifically the oil palm (Courunrerr et al., 1993; Polanía and Posada- Flórez, 1992). In the caterpillar stage, it is characterized by urtication due to the presence of bristles, similar to thorns, present in the body. The damage caused to the host plant consists of defoliation, which causes a reduction in the leaf area affecting production (Oliveira et al., 2018; Tinôco, 2016).

The objective of the present study was to identify the antennal ultrastructure of *A. liberia* and the typology of sensilla structures in both sexes.

2. Materials and methods

2.1. Insects

A. liberia caterpillars were collected from commercial plantations of oil palm on the farms of Group Agropalma S/A (02° 31 '31 "S and 48° 45' 7") located in the municipality of Thailand in the State of Pará, Brazil. The specimens were kept at the Laboratory of Research in Natural Resources at Federal University of Alagoas UFAL, Maceió-AL, Brazil, in a breeding laboratory with a temperature of 25 ± 2 °C (photo-period 12 L: 12D). The caterpillars were fed with coconut leaflets until the prepupal stage.

2.2. DNA extraction

2.2.1 Polymerase chain reaction (PCR) and sequencing

Genomic DNA was extracted from the legs of male *A. liberia* using the method based on cell lysis by SDS with modifications (Luque et al., 2002). DNA was extracted from individuals of the morphologically identified species. The gene region COI was amplified using the primer LepF (5'-ATTCAACCAATCATAAAGATATTGG-3') and the reverse primer LepR (5'-TAAACTTCTGGATGTCCAAAAAATCA-3') (Folmer et al., 1994). Each amplification was performed in a 25 µl total volume, which included 1 µl DNA, 2.5 µl (10 × buffer), 0.5 µl (Taq DNA Polymerase), 1.0 µl (2.5 mM dNTP mix), 0.5 µl (50 mM MgCl₂), 1.0 µl of each primer (10 mmol) and 17.5 µl (ddH₂O). PCR parameters were 95°C for 3 min and 35 cycles of 94°C for 30 sec, 51°C (for COI) for 40 sec and 72°C for 60 sec, followed by a final extension step of 72°C for 10 min. The obtained PCR products were run on 1.0% agarose gel using ethidium bromide and visualized with a gel imaging system.

PCR products showing positive clear bands were purified using QIAquick® PCR Purification Kits (according to the manufacturer's protocol). A maximum of two positive PCR samples of the species were sequenced bidirectionally in Sequences at Macrogen Inc. (Korea), Seoul, South Korea.

2.2.2 Analysis of DNA sequences

The trace files/chromatograms of the COI sequences were edited manually using the Codon Code software (Codon Code Corporation, www.codoncode.com). Low quality sequences were excluded from data analysis. Consensus sequences were aligned using Clustal W in MEGA 6.0 software (Thompson et al., 1994). Once the alignment was complete, species identification was confirmed by comparing the sequences to publicly available sequence data in GenBank using Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) and the barcode of the database life (BOLD) interface (Ratnasingham & Hebert, 2007).

Mega version 6.0 was used to calculate sequence pair-to-pair intraspecific and interspecific divergence using the distance model of the Kimura 2-parameter (Kimura et al., 1980). Support of NJ trees were evaluated with 1000 bootstrap replications. The positions of the codon included 1st + 2nd + 3rd + noncoding regions. All sequences of generated COI haplotypes have been deposited in the Bold Systems, and accession numbers are provided in Supplementary (Fig.S1).

2.3 Preparation of the Antennae for Scanning Electron Microscopy

The antennae of adult insects of both sexes (n = 10 antennae) aged 24 to 48 h were used for analysis. For antennal dimorphism, images of the antennae of both sexes were obtained through a digital microscope (Labomed Luxeo 4D).

Newly emerged adults (24-48 h old) were anesthetized at low temperature -18 °C, and the antennae (n=10) from the insect heads of both sexes were removed with histological tweezers starting from the scape; antennae were immersed in glutaraldehyde solution at 2.5% in 0.1 M sodium phosphate buffer for 10 minutes. Then, the antennae were submitted to dehydration with a 70%, 80%, 90% and 100% ethanol solution for 5 minutes each. The antennae were maintained on filter paper until evaporation of the solvent. When dry, the antennae were mounted in the ventral and dorsal positions on carbon sulfite adhesive tape and attached to the stub (metal support) for metallization (Q150R ES, Quorum).

Metallization was performed by gold sputtering at 45 mV for 200 sec. Each antenna had the structure and typology of the sensilla examined in an electron scanning microscope (Tescan Mark, model VEGA3 LMU) operating with an electron

beam at 5.0 kV. This analysis was performed at the Microscopy Laboratory of the Federal Institute of Alagoas - IFAL, Maceió-AL, Brazil.

2.3.1 Identification and distribution of sensilla

The antennal morphology of both sexes was analyzed by observing the segments that comprise the antennae of adult male and female individuals. To characterize the sensilla, the morphology and typology of these structures were verified based on the literature. Sensilla were then classified into subtypes according to the apparent morphology, size and shape of the antennal surface of five antennae (five male and female insects). The parameters antenna length and total number of antenna units were analyzed in 10 male and 10 female antennae using the ImageJ program, Rasband, 1997-2006. The images captured from electron scanning microscope were edited using Adobe Photoshop.

2.3.2 Statistical analysis

The parameters of length, width of the base of the scape, pedicel, number of antennomeres ($n = 10$) and sensilla base length and width ($n = 25$) of each type were evaluated using Student's t test and applied using Genes software (Cruz, 2013).

3. Results

3.1 Molecular identification of the species

In this study, COI gene fragments with 730 bp were amplified, and after the use of the BLAST tool, the identification of the species was confirmed by comparing the sequences to publicly available sequence data in GenBank. The species *Automeris liberia* Cramer, 1780 was confirmed. To support the confirmation, a phylogenetic tree was constructed with the sequences of *A. liberia* and other moths of the family Saturniidae. The constructed phylogenetic tree clearly indicated that the compared sequences were identical and represented the same species, thus confirming the results found in GenBank. The phylogenetic tree is available in Supplementary, Fig.S2.

3.2 Ultrastructures of the antennae and sensilla types in *Automeris liberia*

According to the morphology, the antennae of males and females of *A. liberia* are structurally distinct with marked dimorphism. The antennae were classified as bipectinate (male) and filiform (female). The bipectinate structure has a central filament with lateral branches similar to a fish scale or feather, these lateral filaments have distinct scales and sensilla in contrast, the antennae of the female have a filiform structure, such as a thread, covered in scales and sensilla (Fig. 1A, 1B).

The antenna comprises two segments that form its base, the scape, which has a rounded appearance and the short-segment pedicel. The basal segments are followed by the flagellum, which is the largest segment of the antennae and is composed of several connected units called antennomeres. The antennae of males and females have different total lengths ($t = 2.54$; $df = 18$; $p = 0.02074$) (Table 1).

There was a significant difference between the lengths of the basal divisions of the antennae between males and females as the length of the scape ($t = 3.38$, $df = 18$, $p = 0.00332$), pedicel ($t=16,57$; $df=18$; $p=0,0000$) and flagellum ($t = 4.35$, $df = 18$, $p = 0.00039$) (Table 1). A difference was also observed in the number of antennomeres ($t = 4.29$, $df = 18$, $p = 0.00044$) (Table 1) present in the flagellum between the sexes. The segments that make up the antennae of this lepidopteran species are dense with sensilla starting from the base of the antenna. The base that connects the antenna to the head of the insect is called a scape, and a pedicel connects the scape to the flagellum. The largest segment of the antenna, the flagellum, is composed of several antennomeres in the proximal (base/initial), intermediate (center/medium) and apical (end/tip) (Fig. 2 A, B,C,D, E,F).

Along the flagellum, the antennomeres have sensilla in the ventral and dorsal regions. Throughout the flagellum, these structures were classified according to their morphology by microscopic images. Seven types of sensilla were observed in *A. liberia*, including sensilla squamiformia, chaetica, trichodea, basiconica, coeloconica, styloconica and Böhm's bristles.

3.2.1 Böhm's bristles and sensilla squamiformia

The structures of Böhm's bristles and squamiformia sensilla were observed in the basal region of the antennae (scape and pedicel) underneath the long scales (Fig. 3 A, B, C, D). Böhm's bristles are morphologically smooth, spike-like and

nonporous structures. They are exposed when the long scales that cover them on the scape and pedicel are removed (Fig. 3B, 3D).

These structures were observed by the presence of several agglomerated units in the basal region of the antennae in both sexes near the joints. Böhm's bristles were characterized into subtypes BBI and BBII according to their lengths in males and females. The BBI subtype had a similar length in both sexes ($t = 0.31$, $df = 48$, $p < 0.05$) (Table 2). The BBII subtype was longer in males than in females ($t = 3.74$, $df = 48$, $p = 0.0005$) (Table 2).

.The squamiformia sensilla were long, similar to scales with a thin apical tip, and were scattered in the basal regions of the antenna (scape and pedicel) in both sexes (Fig. 3A and 3C). The females also presented these structures in the dorsal region of the antennomeres in a dispersed pattern along the flagellum. In the antenna of the male insect, this sensilla was present on the antennomere near the pedicel and was not observed in the intermediate and apical regions of the antennae.

3.2.2 Sensilla chaetica

The chaetica sensilla present in male and female insects had robust base structures and were long and pointed (Fig. 4A, 4B and 4C). In male antennae, these structures were classified as subtype I, which had a longer length and were observed at the tips of the lateral branches and the apical tip of both the ventral and dorsal part of the antennae.

In female antennae, subtype I sensilla were observed along one or more of the antennomeres on the side of the flagellum and at the antennae apical tip. A significant difference was observed in the length ($t = 5.26$, $df = 48$, $p = 0.000$) of these sensilla between the sexes (Table 2). Subtype II (medium) was observed in the center of each antennomere along the flagellum in the ventral region and in the apical tip in both sexes. Their morphological characteristics were similar to subtype I. The length of the subtype II structures differed significantly ($t = 2.21$; $df = 48$; $p = 0.03$) between male and female insects (Table 2).

3.2.3 Sensilla trichodea

In both sexes, the trichodea sensilla were observed along the length of the flagellum in the proximal and intermediate regions and became scarce at the apical tip of the antenna. The structure of these sensilla varied from long to medium slightly inclined and/or spiral-shaped (Fig. 4A, 4B and 4D). For male insects, it was verified that the trichodea sensilla had a varied structural form and can be long, curved at the tip, inclined and/or spiral shaped. In females, the structures were long and slightly inclined. The trichodea sensilla were observed quite prominently in males with the presence of three subtypes of trichodea sensilla; females only presented one subtype. The subtypes were classified as long (I), medium (II) and short (III) according to the length of each olfactory structure (Fig. 4A, 5A, 5B and 5D).

Subtype I was observed in the antennae of male insects and characterized as the longest of the subtypes. Subtype I was found mainly in the lateral branches of the bipectinate antennae with an average length of $143.853 \pm 28.818 \mu\text{m}$ (Table 2). These sensilla have a slight curvature at the apical tip, and the cuticular surface has grooves along its structure up to the apical tip.

Subtype II (average size), with an average length of $99,778 \pm 18,771 \mu\text{m}$ (Table 2), showed an "S" curvature or spiral form and was distributed on the lateral branches of the antennomeres. Some structures were observed in the dorsal region of the central filament of the units that form the scourge flagellum of male insects. The cuticle wall showed transverse line-like (Fig. 4B, 4D, 5B and 5D).

Subtype III, classified as short, had slight inclinations and/or curvatures at the tips of the sensilla in both sexes. These sensilla presented transverse grooves along the wall of the cuticular surface (Fig. 5A and 5D). In male insects, these sensilla were present on the surface of the antennomeres of the central filament and on the lateral branches of the bipectinate antennae. In female insects, these sensilla were dispersed on the antennomeres mainly on the lateral side between sensilla chaetica I. The length of the sensilla trichodea III did not differ statistically between ($t = 0.38$, $df = 48$, $p < 0.05$) male and female insects (Table 2).

3.2.4 Sensilla basiconica

The basiconica sensillum had a slightly curved structure at the apex and/or an inclined tip and appeared to have a rough surface (Fig. 5A, 5B and 5C). These

sensilla were identified in both sexes and classified as basiconica type I and II according to the length. The basiconica sensilla were observed in the center and on the lateral branches of each antennomere along the flagellum in the male antenna. These sensilla were interspersed between trichodea sensilla. In the female insects, these sensilla were distributed in the center of and along the sides of the antennomeres of the dispersed scourge flagellum, interspersed between trichodea and chaetica sensilla. There was no difference in the length of basiconica type I ($t = 1.01$, $df = 48$, $p = 0.31$) and basiconica type II ($t = 1.72$, $df = 48$, $p = 0.09$) between the sexes (Table 2).

3.2.5 Sensilla coeloconica and styloconica

The coeloconica sensillum has a pin form inside a cavity surrounded by a short scale similar to a flower (Fig. 6A). These structures were observed on the surface of antennae of male and female insects and were usually dispersed along the antennomeres in the dorsal and ventral regions ending just before the final part of the antennae.

The styloconica sensilla were robust and short structures similar to small cones. The wall of the cuticle was smooth with one or more pins in the apical region, and some sensilla had two connected style units (Fig. 6B, 6C and 6D). These sensilla were visible on the antennae of female and male insects on the antennomeres in the ventral region and on the apical part of the antennae.

4. Discussion

4.1 Antenna morphology

There was a significant difference in antenna length between male and female insects, with female insect antennae being slightly shorter than male insect antennae. This distinction was also reported by Yang et al. (2017) in *Monema flavescens* Walker (Lepidoptera: Limacodidae). A marked dimorphism was observed in the antennae of *A. liberia*, with male insects having bipectinate antennae with several branches on each antennomere in the dorsal and ventral regions, whereas the female insects have filiform antennae. This characteristic of antenna dimorphism has been described for other species of the Saturniidae family, such as *Periga acuta*,

Periga alticola, *Periga campestre* and *Eacles imperialis magnifica* (Mielke et al., 2013, Mielke and Siewert, 2014, Zanuncio et al., 1993).

Studies have suggested that in some lepidopteran families, the bipectinate antenna has a larger area specifically for sensilla, allowing more olfactory structures when compared with the filiform antenna (Symonds et al., 2011). Thus, higher olfactory sensitivity has been suggested for the detection of odoriferous molecules (Symonds et al., 2011; Wang et al., 2018).

4.2 Description of sensilla on the antenna

The antennae of insects have a variety of sensilla morphologically different from each other. In this work, trichodea, chaetica, basiconica, coeloconica, squamiformia, styloconica sensilla and Böhm's bristles were identified in adult individuals of both sexes of *A. liberia* according to the structural typology. These types of sensilla were similar to those reported in other Lepidoptera insect species, such as *Mythimna separata* (Noctuidae) (Chang et al., 2015), *Helicoverpa armigera* (Noctuidae) (Diongue et al., 2013), *Sitotroga cerealella* (Gelechiidae) (Maet et al., 2017), and *Tuta absoluta* (Gelechiidae) (Bawin et al., 2017).

Sensilla are responsible for the reception of stimuli they have high sensitivity and can be classified as thermoreceptors, mechanoreceptors, hygroreceptors and chemoreceptors. The chemoreceptor function is important for detecting odors in the environment, which can affect the behavior of insects (Bawin et al., 2017; Hansson and Stensmyr, 2011; Schneider, 1964; Seada, 2015). In many Lepidoptera, mainly moths, the olfactory chemoreceptors have an important function because males act as recipients of the signals emitted by females (Ma et al., 2017; Wee et al., 2016).

The structures of the trichodea, basiconica, chaetica, auricillica and coeloconica sensilla are considered chemoreceptors when they present a single-porous or multiporous cuticular surface (Chang et al., 2015). These sensilla allow odor molecules to penetrate the pores and disperse longitudinally into the cuticular wall of the olfactory structures (Chang et al., 2015, Roh et al., 2016; Steinbrecht, 1997). The olfactory action of the sensilla is important to electrophysiological studies for the selection of molecules that generate antennal responses. It has been

suggested that olfactory receptors (ORs) in trichodea and basiconica sensilla provide considerable molecular detection (Brito et al., 2016; Wee et al., 2016).

Generally, insect OBPs are divided into general odor-binding proteins (GOBPs), antennal binding proteins (ABPs), and pheromone binding proteins (PBPs), which are important for communication between individuals (Li et al. 2016; Pelosi et al., 2006; Zhou et al., 2009).

There is a relationship between odor binding proteins (OBPs) and odoriferous molecules, as these proteins are part of the semiochemical pathway for detection. The odor molecule binds to specific OBPs for transportation to the olfactory receptor (OR). Studies have shown that there is an involvement of OBPs in the transport and recognition of odor molecules, indicating their presence in olfactory sensilla in insect antennae, such as in *Antheraea polyphemus* (Forstner et al., 2009; Vogt and Riddiford, 1981), *Bombyx mori* (Pelosi et al., 2018; Sakura et al., 2004), *Heliothis virescens* (Wang et al., 2011), and *Spodoptera littoralis* (Montagné et al., 2012). Ozaki et al. (1995) suggested that OBPs are also present in other parts of the body of insects.

A. liberia males have filamentous central branch antennae with lateral branches, while the female antennae have only a filamentous central stem. Both antennae have a cuticular surface replete, with sensilla being observed in seven types classified as trichodea, chaetica, basiconica, coeloconica, squamiformia, styloconica and Böhm's bristles.

4.2.1 Böhm's bristles and sensilla squamiformia

Böhm's bristles (Bh) are common in a diversity of insects. In the antennae of *A. liberia*, these structures were observed grouped in the basal region (scape and pedicel) and were similar to structures present in the lepidopteran species *Tuta absoluta*, *Sitotroga cerealella*, *Plutella xylostella* (Plutellidae) (Bawin et al., 2017; Ma et al., 2017; Yan et al., 2017). In both sexes of adult *A. liberia* individuals, BBI and BBII sensilla were present on the scape and pedicel and has the same location as species of Lepidoptera, including *Mythimna separata* (Lepidoptera: Noctuidae) (Chang et al., 2015). Studies have indicated that Böhm's bristles have a mechanoreceptor function, acting as a mediator of antennal motion and positioning,

which occurs through the activity of the antenna muscles in response to the sensory stimulus (Krishnan et al., 2012; Schneider, 1964; Sun et al., 2011).

The squamiformia sensilla were observed in male and female *A. liberia*. The structural typology of these sensilla had a similarity with scales, with a flat, elongated shape with a tapered apical tip, similar to those observed in other Lepidoptera, such as *Plodia interpunctella* Hübner, 1813 (Pyrilidae) (Ndomo-moualeu et al., 2014) and *Conogethes punctiferalis* (Crambidae) (Li et al., 2018). The distribution of these sensilla in *A. liberia* females was similar to that observed in *P. interpunctella*. In *P. interpunctella*, these sensilla were observed the scape and pedicel and were present in the antennomeres along the flagellum (Ndomo-moualeu et al., 2014). In some Lepidoptera, a mechanoreception function has been suggested for these aporous, squamiformia structures (Bawin et al., 2017).

4.2.2 Sensilla chaetica and styloconica

The chaetica sensilla observed in *A. liberia* were also reported in other Lepidoptera, such as *Helicoverpa armigera* *Monema flavescens* (Lepidoptera: Limacodidae) and *Catocala remissa* (Lepidoptera Noctuidae) (Diongue et al., 2013; Yang et al., 2017; Zheng et al., 2014). In *A. liberia*, the chaetica sensilla were distributed in the proximal, intermediate and apical regions of the antennae in both sexes. Morphological characteristics included sensillum that were straight and pointed with a broad base and longitudinal lines and were of different sizes. Throughout the antennae of *A. liberia*, the distribution of the sensilla SChae I and SChae II in male and female insects was observed. Studies have indicated a mechanoreceptive function for these sensilla, and in cases with the presence of pores, a chemoreceptive function has been postulated (Bawin et al., 2017).

The styloconica sensilla observed in male and female *A. liberia* presented robust structures that were smooth with conical ends and had a single pin or two pins in the same structure. It was observed that structures with two or more styles connected to each other were distributed in the antennomeres along the flagellum on the antennae. These conical-shaped sensilla have been observed in lepidopteran antennae, such as in *Mythimna separata* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Helicoverpa assulta* (Lepidoptera: Noctuidae) (Chang et al., 2015; Koh et al., 1995). Unbranched

dendrites within the sensilla function to detect a change in humidity, and the lamellar dendrites detect the temperature variation in the environment; therefore, a thermohygroreceptive function was assigned to styloconica sensilla with an aporous cuticular wall (Bawin et al. 2017).

4.2.3 Sensilla trichodea

The trichodea sensilla observed in the antennae of both sexes of *A. liberia* are quite common in insects, mainly of the order Lepidoptera, such as in *Plodia interpunctella* (Hübner, 1813) (Lepidoptera: Pyralidae) and *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) (Bawin et al., 2017; Ndomo-moualeu et al., 2014). We observed dimorphism in relation to the subtypes of sensilla present in *A. liberia*. In males, three subtypes were present in the proximal (antennae base), intermediate (middle antennae) and apical (antennae tip) regions in the dorsal and ventral parts of the antenna. In the female insects, only one subtype was scattered in the lateral and center ventral and dorsal regions of the antennomeres. Structurally, the distribution of the trichodea sensilla found in the male insects of *A. liberia* showed similarity to that observed in *Bombyx mori*, which has bipectinate antennae and lateral branches that are dense with this type of sensilla (Steinbrecht, 1970).

The structure of the trichodea sensilla found in *A. liberia* is long and slightly curved at the apical tip, similar to that observed in another Lepidoptera (Gaaboud et al., 2016; Steinbrecht, 1970; Zheng et al., 2014). Multiporous trichodea sensilla with pores present along the cuticle suggest an olfactory function to detect odor molecules and insect pheromone molecules (Hansson, 1995; Liu et al., 2018).

These sensilla have olfactory and gustatory functions (Altner and Prillinger, 1980). Studies have indicated a high sensitivity for these structures due to the presence of ORs that detect odoriferous molecules (Kaissling et al., 1978; Mark et al., 2017). These sensilla are common in moths and butterflies of the Lepidoptera order and are utilized in behavioral studies due to their chemoreceptor function (Forstner et al., 2009; Kaissling, 2009).

4.2.4 Sensilla coeloconica

Coeloconica sensilla were identified in the insect antennae of both sexes of *A. liberia*. These sensilla are also present in the lepidopteran species *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) and *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) (Hunger and Steinbrecht, 1998; Seada, 2015). Studies have suggested an olfactory function for the porous coeloconica sensilla, indicating that the odor molecules penetrate the longitudinal grooved cuticular surface in the structural segment of the sensillum. These sensilla have also been attributed with the function of thermoreception and the detection of plant volatiles when searching for a host plant (Hunger and Steinbrecht, 1998; Steinbrecht, 1997).

4.2.5 Sensilla basiconica

The basiconica sensilla identified in *A. liberia* are also common in other insects of the Lepidoptera order (Bawin et al., 2017; Liu et al., 2014; Seada, 2015). For these structures, an olfactory function was attributed (Bawin et al., 2017; Zhang et al., 2001). Basiconicas sensilla with pores allow the entry of odor molecules and are fundamental in the recognition of odorous substances. Therefore, are useful in electrophysiological and behavioral tests due to the presence these structures that can detect volatile compounds (Bawin et al. 2017; Binyameen et al., 2012; Hallberg et al., 1994; Liu et al., 2015).

Other functions attributed to basiconica sensilla are contact and taste (Hallberg et al., 1994). The basiconica sensilla were distributed along the antennomeres similarly in the antennae of both sexes of *A. liberia*, and their morphology, with a curved structure, was similar to the basiconica sensilla present in the lepidoptera species *M. separata* (Chang et al., 2015)

5. Conclusion

We presented here the presence of sexual dimorphism in the antennae of males and females, which were classified as bipectinate and filiform, respectively. Seven types of sensilla were observed, including sensilla trichodea, chaetica, basiconica, coeloconica, squamiformia, styloconica and Böhm's bristles. We analyzed the morphology, distribution and location of these olfactory sensory structures along the antennal segments, including the scape, pedicel and flagellum, of both sexes. Sensilla basiconica, sensilla chaetica and Böhm's bristles were

classified into two subtypes in both sexes. The sensilla trichodea were classified into three subtypes, I, II and III, in males, while in females, only subtype III was observed, indicating dimorphism in the subtypes of trichodea sensilla between the sexes. This knowledge allows a better understanding of the morphology of the antennae and allows us to know which sensilla present in this lepidopteran species are important for the selection of components that stimulate antennal response. This knowledge will contribute to future electrophysiological and behavioral analyses involving the chemical communication between the opposite sexes of *A. liberia*.

Conflicts of interest statement

The authors declare that the submitted work has no conflict of interests.

Acknowledgement

This study was funded by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia (INCT) Semioquímicos na Agricultura (CNPq Proc. 465511/2014-7 and Fapesp Proc. 2014/50871-0) and Grupo Agropalma S/A.

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético – CGEN Acesso ao Patrimônio Genético nº 010428/2012-7, Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) nº ABE142 (*Automeris liberia*).

References

- Agelopoulos, N., Birkett, M.A., Hick, A.J., Hooper, A.M., Pickett, J.A., Pow, E.M., Smart, L.E., Smiley, D.W.M., Wadhams, L.J., Woodcock, C.M., 1999. Exploiting semiochemicals in insect control ¹. *Pestic. Sci.* 9063, 225–235.
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9063\(199903\)55](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9063(199903)55)
- Altner, H., Prillinger, L., 1980. Ultrastructure of Invertebrate Chemo., Thermo. and Hygroreceptors and Its Functional Significance. *Acad. Press. Inc* 67, 69–139.
- Bawin, T., Collard, F., Backer, L. De, Barthélémy, B., Compère, P., Francis, F., Verheggen, J., 2017. Structure and distribution of the sensilla on the antennae of

- Tuta absoluta* (Lepidoptera : Gelechiidae). Micron 96, 16–28.
<https://doi.org/10.1016/j.micron.2017.01.008>
- Binyameen, M., Anderson, P., Ignell, R., Seada, M. A., Hansson, B. S., & Schlyter, F. (2012). Spatial organization of antennal olfactory sensory neurons in the female *Spodoptera littoralis* moth: differences in sensitivity and temporal characteristics. *Chemical senses*, 37(7), 613-629.
- Brito, N.F., Moreira, M.F., Melo, A.C.A., 2016. A look inside odorant-binding proteins in insect chemoreception. *J. Insect Physiol.* J. 95, 51–65.
<https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2016.09.008>
- Carraher, C., Dalziel, J., Jordan, M.D., Christie, D.L., Newcomb, R.D., Kralicek, A. V, 2015. Towards an understanding of the structural basis for insect olfaction by odorant receptors. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 66, 31–41.
<https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2015.09.010>
- Chang, X., Zhang, S., Lv, L., Wang, M., 2015. Insight Into the Ultrastructure of Antennal Sensilla of *Mythimna separata* (Lepidoptera : Noctuidae) . *J. Insect Sci.* 15, 1–22.
- Courunrerr, G., Kahn, F., Peripho-, B.O.I.T., 1993. A New Pest of the African Oil Palm in the Neotropics : *Periphoba hircia* (Lepidoptera Saturniidae Hemileucinae). *Principes* 37, 228–229.
- Cruz, C.D., 2013. Acta Scientiarum GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics 271–276.
<https://doi.org/10.4025/actasciagron.v35i3.21251>
- Deisig, N., Dupuy, F., Anton, S., Renou, M., 2014. Responses to Pheromones in a Complex Odor World: *Insects* 5,399–422. Doi.10.3390/insects5020399
- Diongue, A., Yang, J., Lai, P., 2013. Journal of Asia-Paci fi c Entomology Biomorphometric characteristics of different types of sensilla detected on the antenna of *Helicoverpa armigera* by scanning electron microscopy. *J. Asia. Pac. Entomol.* 16, 23–28. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2012.09.001>
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. & Vrijenhoek, R.1994 DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* 3, 294–299.
- Faucheux, M.J., Kristensen, N.P., Yen, S.H., 2006. The antennae of neopseustid moths: Morphology and phylogenetic implications, with special reference to the

- sensilla (Insecta, Lepidoptera, Neopseustidae). Zool. Anz. 245, 131–142.
<https://doi.org/10.1016/j.jcz.2006.05.004>
- Forstner, M., Breer, H., Krieger, J., 2009. A receptor and binding protein interplay in the detection of a distinct pheromone component in the silkworm *Antheraea polyphemus*. Int. J. Biol. Sci. 5, 745–757.
- Gaaboud, I., El-shewy, A.M., Magda, A.S., 2016. Effect of feeding Silkworm (*Bombyx mori* L .) on Mulberry treated with Bio and Inorganic Fertilizer on Antennal Sensilla Effect of feeding Silkworm (*Bombyx mori* L .) on Mulberry treated with Bio and Inorganic Fertilizer on Antennal Sensilla. J. Biosci. Appl. Res. 2, 440–451.
- Guidobaldi, F., May-concha, I.J., Guerenstein, P.G., 2014. Journal of Physiology - Paris Morphology and physiology of the olfactory system of blood-feeding insects. J. Physiol. - Paris 108, 96–111.
<https://doi.org/10.1016/j.jphysparis.2014.04.006>
- Hallberg, E., Hanssont, B.S., Steinbrechts, R.A., 1994. Morphological characteristics of in the european cornborer *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera : Pyralidae). Tissue cell 26, 489–502.
- Hallem, E.A., Dahanukar, A., Carlson, J.R., 2006. insectodor and taste receptors. Annu. Rev.Entomol. 51, 113–135.
<https://doi.org/10.1146/annurev.ento.51.051705.113646>
- Hansson, B.S., 1995. Reviews Olfaction in Lepidoptera. Birkhfiuser Verlag Basel 51, 1003–1027.
- Hansson, B.S., Stensmyr, M.C., 2011. Review Evolution of Insect Olfaction. Neuron 72, 698–711. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.11.003>
- Hunger, T., Steinbrecht, R.A., 1998. Functional morphology of a double-walled multiporous olfactory sensillum : the sensillum coeloconicum of *Bombyx mori* (Insecta , Lepidoptera). Tissue Cell 30, 14–29.
- Jacquín-joly, E., Merlin, C., 2004. Review article insect olfactory receptors : contributions of molecular biology to chemical ecology. J. Chem. Ecol. 30, 2359–2397.
- Kaissling, K. E. (2009). The sensitivity of the insect nose: The example of *Bombyx mori*. In Biologically Inspired Signal Processing for Chemical Sensing (pp. 45-52). Springer, Berlin, Heidelberg.

- Kaissling, K., Kasang, G., Bestmann, H., 1978. A new pheromone of the silkworm moth *Bombyx mori*. *Naturwissenschaften* 384, 382–384.
<https://doi.org/10.1007/BF00439702>
- Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J Mol Evol.*16:111–20.
- Koh, Y.H.O., Park, K.Y.E.C., Boo, K.S., 1995. Antennal Sensilla in Adult *Helicoverpa assulta* (Lepidoptera : Noctuidae): Morphology , Distribution , and Ultrastructure. *Morphol. Histol. FINE Struct.* 88, 519–530.
- Krishnan, A., Prabhakar, S., Sudarsan, S., Sane, S.P., 2012. The neural mechanisms of antennal positioning in flying moths. *J. Exp. Biol.* 215, 3096–3105. <https://doi.org/10.1242/jeb.071704>
- Li, G., Chen, X., Li, B., Zhang, G., Li, Y., Wu, J., 2016. Binding Properties of General Odorant Binding Proteins from the Oriental Fruit Moth , *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera : Tortricidae). *PLoS One* 11, 1–22.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155096>
- Li, Y., Liu, F., Du, X., Li, Z., Wu, J., 2018. Ultrastructure of antennal sensilla of three fruit borers (Lepidoptera : Crambidae or Tortricidae). *PLoS One* 13, 1–10.
- Liu, H., Liu, Z., Jing, X., Yang, M., Liu, J., Zhang, J., 2014. Scanning electron microscopy studies of antennal sensilla of *Isoceras sibirica* Alpheraky (Lepidoptera , Cossidae). *Ann. la Société Entomol. Fr.* 50, 37–41.
<https://doi.org/10.1080/00379271.2014.981405>
- Liu, H., Liu, Z., Zheng, H., Jin, Z., Zhang, J., Zhang, P., 2018. Sensilla on the antennae and ovipositor of the carpenterworm, *Steltzoviella insularis* (Staudinger, 1892) (Lepidoptera, Cossidae). *Orient. Insects* 5316, 1–14.
<https://doi.org/10.1080/00305316.2018.1437088>
- Liu, S., Rao, X., Li, M., Feng, M., He, M., Li, S., 2015. Identification of candidate chemosensory genes in the antennal transcriptome of *Tenebrio molitor* (Coleoptera : Tenebrionidae). *Comp. Biochem. Physiol. - Part D Genomics Proteomics* 13, 44–51. <https://doi.org/10.1016/j.cbd.2015.01.004>
- Luque, C., Legal, L., Staudter, H., Gers, C., & Wink, M. 2002. ISSR (inter simple sequence repeats) as genetic markers in Noctuids (Lepidoptera). *Hereditas*, 136(3), 251-253.

- Ma, M., Chang, M., Lu, Y., Lei, C., Yang, F., 2017. Ultrastructure of sensilla of antennae and ovipositor of *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera : Gelechiidae), and location of female sex pheromone gland. Nat. Publ. Gr. 7, 1–11.
<https://doi.org/10.1038/srep40637>
- Mark, C.J., Parsons, S., Holwell, G.I., 2017. Antennal morphology and micro-sensory architecture of the New Zealand magpie moth , *Nyctemera annulata* (Lepidoptera : Erebididae): diversity , distribution and dimorphism. Austral Entomol. <https://doi.org/10.1111/aen.12279>
- Melnitsky, S.I., Ivanov, V.D., Yu, M., Zueva, L. V, Zhukovskaya, M.I., 2018. Arthropod Structure & Development Comparison of sensory structures on the antenna of different species of Philopotamidae (Insecta : Trichoptera). Arthropod Struct. Dev. 47, 45–55.
- Mielke, C.G.C., Santos, L., Meister, F., Brechlin, R., Rougerie, R., 2013. Four new *Periga* Walker , 1855 (Lepidoptera : Saturniidae , Hemileucinae , Hemileucini) from Southeastern and Southern Brazil. Eur. Entomol. 4, 121–141.
- Mielke, C.G.C., Siewert, R.R., 2014. Two new *Periga* Walker , 1855 from southern Brazil (Lepidoptera : Saturniidae ,. Nachr. entomol. Ver. Apollo 35, 144–148.
- Montagné, N., Chertemps, T., Brigaud, I., Franc, A., Fouchier, A. De, Lucas, P., Larsson, M.C., Jacquín-joly, E., 2012. Functional characterization of a sex pheromone receptor in the pest moth *Spodoptera littoralis* by heterologous expression in *Drosophila*. Eur. J. Neurosci. 1–9. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2012.08183.x>
- NCBI National Center for Biotechnology Information. <http://www.blast.ncbi.nlm.nih.gov>.
- Ndomo-moualeu, F., Ulrichs, C., Radek, R., Adler, C., 2014. Structure and distribution of antennal sensilla in the Indianmeal moth , *Plodia interpunctella* (Hübner , 1813) (Lepidoptera : Pyralidae). J. Stored Prod. Res. 59, 66–75.
<https://doi.org/10.1016/j.jspr.2014.05.003>
- Oliveira, T.A., Lemos, W.P., Tinôco, R.S., Barbosa, J.C., Martins, I.C.F., 2018. Validation of the sampling methodology for *Opsiphanes invirae* caterpillars on oil palm plantations in the Brazilian Amazon. Ciência Rural. St. Maria 17, 48–51.
- Ozaki, M., Morisaki, K., Idei, W., Ozaki, K., Tokunaga, F., 1995. A putative lipophilic stimulant carrier protein commonly found in the taste and olfactory systems A

- unique member of the pheromone-binding protein superfamily 308, 298–308.
- Park, K.C., Jeong, S.A., Kwon, G., Oh, H.-W., 2018. Olfactory attraction mediated by the maxillary palps in the striped fruit fly , *Bactrocera scutellata* : Electrophysiological and behavioral study. Arch. Insect Biochem. Physiol. 1–13. <https://doi.org/10.1002/arch.21510>
- Pelosi, P., Zhou, J., Ban, L.P., Calvello, M., 2006. Review Soluble proteins in insect chemical communication 63, 1658–1676. DOI 10.1007/s00018-005-5607-0
- Pelosi, P., Zhu, J., Knoll, W., 2018. Odorant-Binding Proteins as Sensing Elements for Odour Monitoring. Sensors MDPI 18, 2–19. <https://doi.org/10.3390/s18103248>
- Polanía, I.Z., Posada-Flórez, F.J., 1992. Manejo de insectos, plagas y benéficos, de la palma africana.
- Reisenman, C.E., Lei, H., Guerenstein, P.G., Anton, S., 2016. Neuroethology of Olfactory-Guided Behavior and Its Potential Application in the Control of Harmful Insects. Front. Physiol. 7, 1–21. Doi.10.3389/fphys.2016.00271
- Roh, H.S., Park, K.C., Oh, H., Park, C.G., 2016. Morphology and distribution of antennal sensilla of two tortricid moths , *Cydia pomonella* and *C. succedana* (Lepidoptera). WILEY 79, 1069–1081. <https://doi.org/10.1002/jemt.22747>
- Ratnasingham, S. & Hebert, P. D. N. 2007. BOLD : The Barcode of Life Data System (www.barcodinglife.org). Molecular Ecology Notes 7, 355–364. DOI: [10.1111/j.1471-8286.2006.01678.x](https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2006.01678.x)
- Ruschioni, S., Riolo, P., Verdolini, E., Peri, E., Guarino, S., 2015. Fine Structure of Antennal Sensilla of *Paysandisia archon* and Electrophysiological Responses to Volatile Compounds Associated with Host Palms. PLoS One 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124607>
- Sakurai, T., Nakagawa, T., Mitsuno, H., Mori, H., Endo, Y., Tanoue, S., 2004. Identification and functional characterization of a sex pheromone receptor in the silkworm *Bombyx mori*. PNAS 101, 16653–16658.
- Sakurai, T., Namiki, S., Kanzaki, R., 2014. Molecular and neural mechanisms of sex pheromone reception and processing in the silkworm *Bombyx mori*. Front. Physiol. 5 MAR, 1–20. <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00125>
- Schneider, B.D., 1964. Insect antennae. Annu.Rev.entomol. 9, 103–122.
- Seada, M.A., 2015. The Egyptian German Society for Zoology Antennal morphology

- and sensillum distribution of female cotton leaf worm *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera : Noctuidae). J. Basic Appl. Zool. 68, 10–18.
<https://doi.org/10.1016/j.jobaz.2015.01.005>
- Song, L., Wang, X., Huang, J., Zhu, F., Jiang, X., Zhang, G., Ban, L., 2017. Ultrastructure and morphology of antennal sensilla of the adult diving beetle *Cybister japonicus* Sharp. PLoS One 12, 1–15.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174643>
- Steinbrecht, R.A., 1997. Pore structures in insect olfactory sensilla : a review of data and concepts. Int. J Insecr Morphol. Embryo 7322, 229–245.
- Steinbrecht, R.A., 1996. Structure and function of insect olfactory sensilla. Ciba Found. Symp. 200-Olfaction Mosquito-Host Interact. Olfaction Mosquito-Host Interact. Ciba Found. Symp. 200. Chichester, UK John Wiley Sons, Ltd. 1, 158–183.
- Steinbrecht, R.A., 1970. Zur Morphometrie der Antenne des Seidenspinners , *Bombyx mori* L . : Zahl und Verteilung der Riechsensillen (Insecta , Lepidoptera). Z. Morph. Tiere 126, 93–126.
- Suh, E., Bohbot, J.D., Zwiebel, L.J., 2014. ScienceDirect Peripheral olfactory signaling in insects. Curr. Opin. Insect Sci. 6, 86–92.
<https://doi.org/10.1016/j.cois.2014.10.006>
- Sun, X., Wang, M., Zhang, G., 2011. Ultrastructural Observations on Antennal Sensilla of *Cnaphalocrocis medinalis* (Lepidoptera : Pyralidae). Microsc. Res. Tech. 121, 113–121. <https://doi.org/10.1002/jemt.20880>
- Symonds, M.R.E., Johnson, T.L., Elgar, M.A., 2011. Pheromone production , male abundance , body size , and the evolution of elaborate antennae in moths. Evol. ofMoth Antennae 227–246. <https://doi.org/10.1002/ece3.81>
- Tegoni, M., Campanacci, V., Cambillau, C., 2004. Structural aspects of sexual attraction and chemical communication in insects. Rev. TRENDS Biochem. Sci. 29, 257–264. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2004.03.003>
- Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. Clustal W: improving the sensitivity of progressive sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Res. 1994;22:4673–80.
- Tinôco, R.S., 2016. Determinação do nível de dano econômico para *Opsiphanes invirae* Hubner , 1808 (Lepidoptera : Nymphalidae) em palma de óleo. Tese de

- doutorado em Agronomia (Entomologia Agrícola)) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.
- Vogt, R. G., & Riddiford, L. M. (1981). Pheromone binding and inactivation by moth antennae. *Nature*, 293(5828), 161.
- Wang, G., Vásquez, G.M., Schal, C., Zwiebel, L.J., Gould, F., 2011. Functional characterization of pheromone receptors in the tobacco budworm *Heliothis virescens*. *Insect Mol. Biol.* 20, 125–133. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2583.2010.01045.x>
- Wang, Q., Shang, Y., Hilton, D.S., Inthavong, K., Zhang, D., Elgar, M.A., Inthavong, K., Zhang, D., Ma, E., 2018. Antennal scales improve signal detection efficiency in moths. *R. Soc.* 285, 1–9.
- Wang, Y., Li, D., Liu, Y., Li, X., Cheng, W., 2016. Morphology , Ultrastructure and Possible Functions of Antennal Sensilla of *Sitodiplosis mosellana* Ge ´ hin (*Diptera : Cecidomyiidae*). *J. Insect Sci.* 16, 1–12. <https://doi.org/10.1093/jisesa/iew080>
- Wee, S.L., Oh, H.W., Park, K.C., 2016. Antennal Sensillum Morphology and Electrophysiological Responses of Olfactory Receptor Neurons in Trichoid Sensilla of the *Diamondback* Moth (*Lepidoptera : Antennal sensillum morphology and electrophysiological responses of olfactory receptor neurons in* t. *Florida Entomol.* 99, 146–158.
- Yan, X., Deng, C., Xie, J., Wu, L., Sun, X., Hao, C., 2017. Distribution patterns and morphology of sensilla on the antennae of *Plutella xylostella* (L .) — A scanning and transmission electron microscopic study. *Micron* 103, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2017.08.002>
- Yang, S., Liu, H., Zhang, J.T., Liu, J., Zheng, H., Ren, Y., 2017. Scanning Electron Microscopy Study of the Antennal Sensilla of *Monema flavescens* Walker (*Lepidoptera : Limacodidae*). *Neotrop Entomol* 46, 175–181. <https://doi.org/10.1007/s13744-016-0450-6>
- Yi, Z., Liu, D., Cui, X., Shang, Z., 2016. Morphology and Ultrastructure of Antennal Sensilla in Male and Female *Agilus mali* (*Coleoptera : Buprestidae*). *J. Insect Sci.* 16, 1–10. <https://doi.org/10.1093/jisesa/iew073>
- Yuvaraj, K.J., Andersson, M.N., Steinbauer, M.J., Farnier, K., Anderbrant, O., 2013. *Journal of Insect Physiology* Specificity and sensitivity of plant odor-detecting

- olfactory sensory neurons in *Ctenarytaina eucalypti* (Sternorrhyncha : Psyllidae). J. Insect Physiol. 59, 542–551. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2013.03.004>
- Zanuncio, J.C., Santana, D.L.Q., Nascimento, E.C., Santos, G.P., Alves, J.B., Sartório, R.C., 1993. manual_pragas_v1 (1).pdf.
- Zhang, S., Maida, R., Steinbrecht, R.A., Verhaltensphysiologie, M., Seewiesen, D., 2001. Immunolocalization of Odorant-binding Proteins in Noctuid Moths (Insecta , Lepidoptera). Chem. Senses 26, 885–896.
- Zhang, X., Wang, S., Li, S., Luo, C., Li, Y., Zhang, F., 2015. Comparison of the Antennal Sensilla Ultrastructure of Two Cryptic Species in *Bemisia tabaci*. PLoS One 1, 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121820>
- Zheng, H., Liu, H., Guo, S., Yan, Y., Zong, S., Zhang, J., 2014. Scanning electron microscopy study of the antennal sensilla of *Catocala remissa*. Bull. Insectology 67, 63–72. [https://doi.org/10.37855\(93\)90265-3](https://doi.org/10.37855(93)90265-3) [pii]
- Zhou, J., Robertson, G., He, X., Dufour, S., Hooper, A.M., Pickett, J.A., Keep, N.H., Field, L.M., 2009. Characterisation of *Bombyx mori* Odorant-binding Proteins Reveals that a General Odorant-binding Protein Discriminates Between Sex Pheromone Components. J. Mol. Biol. 389, 529–545. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2009.04.015>

Table 1. General characteristics of the antennae of male and female *A. liberia* (n = 10 antennae).

Antenna	Male	Female
Scape length (μm)	743,90 $\pm$ 97,70 a	608,89 $\pm$ 79,88 b
Scape Width (μm)	591,31 $\pm$ 54,35 a	509,57 $\pm$ 49,74 b
Pedicel length (μm)	221,33 $\pm$ 0,04 a	198,53 $\pm$ 37,85 b
Pedicel Width (μm)	358,30 $\pm$ 40,76 a	349,38 $\pm$ 25,46 b
Flagellum length (mm)	9,89 $\pm$ 1,63 a	7,35 $\pm$ 0,88 b
Total antenna length (mm)	10,97 $\pm$ 1,75 a	8,29 $\pm$ 0,92 b
Number of antennomeres	30,90 $\pm$ 1,45 a	28,10 $\pm$ 3,18 b

Mean $\pm$ SE values from ten antennae of both sexes. The averages followed by the same letter in the row did not differ statistically by the Student t-test at 5% probability.

Table 2. Length and basal width of different sensilla types on the antenna of *A. liberia* males and females

Sensilla type	Length (μm)		Basal width (μm)	
	Male (σ)	Female (σ)	Male (σ)	Female (σ)
Böhm's bristles I	50,856 $\pm$ 8,402a	50,136 $\pm$ 8,168a	3,806 $\pm$ 0,908a	3,535 $\pm$ 0,789a
Böhm's bristles II	30,674 $\pm$ 5,410a	24,624 $\pm$ 6,010b	4,796 $\pm$ 0,797a	3,944 $\pm$ 0,697b
S. trichodea I	143,853 $\pm$ 28,818	Not identified	3.540 $\pm$ 0.44	Not identified
S. trichodea II	99,778 $\pm$ 18,771	Not identified	4.252 $\pm$ 0.644	Not identified
S. trichodea III	53,127 $\pm$ 8,528a	52,260 $\pm$ 7,440a	2,896 $\pm$ 4,560a	2,377 $\pm$ 0,542b
S. basiconica I	29,645 $\pm$ 4,645a	28,335 $\pm$ 4,481a	2,647 $\pm$ 0,416a	2,072 $\pm$ 0,394b
S. basiconica II	16,382 $\pm$ 3,366a	18,049 $\pm$ 3,488a	2,103 $\pm$ 0,753a	1,806 $\pm$ 0,383a
S. chaetica I	99,715 $\pm$ 13,128a	121,522 $\pm$ 16,039b	8,041 $\pm$ 1,141a	9,340 $\pm$ 0,990b
S. chaetica II	53,333 $\pm$ 812a	61,65 $\pm$ 1693b	7,698 $\pm$ 1,396a	9,279 $\pm$ 1,560b
S. coeloconica	-	-	-	-
S. styloconica	-	-	-	-
S. squamiformia	-	-	-	-

Mean values $\pm$ SE of the length and basal width of sensilla subtypes analyzed from 5 separate antennae of insects of both sexes. Measurements are obtained from 25 individual sensillae per type. The difference between each subtype of sensilla between the sexes was analyzed by the means followed by the same letter in the line and did not differ statistically by the Student t-test at 5% probability. Subtypes that have not been measured are represented as "-". The means with absence of letter occurred because the present result is only in a single sex and it is not possible to compare the data between the sexes.

Fig. 1. Antennal dimorphism in an *A. liberia* female, filiform (A and B) and male, bipectinate (C and D).

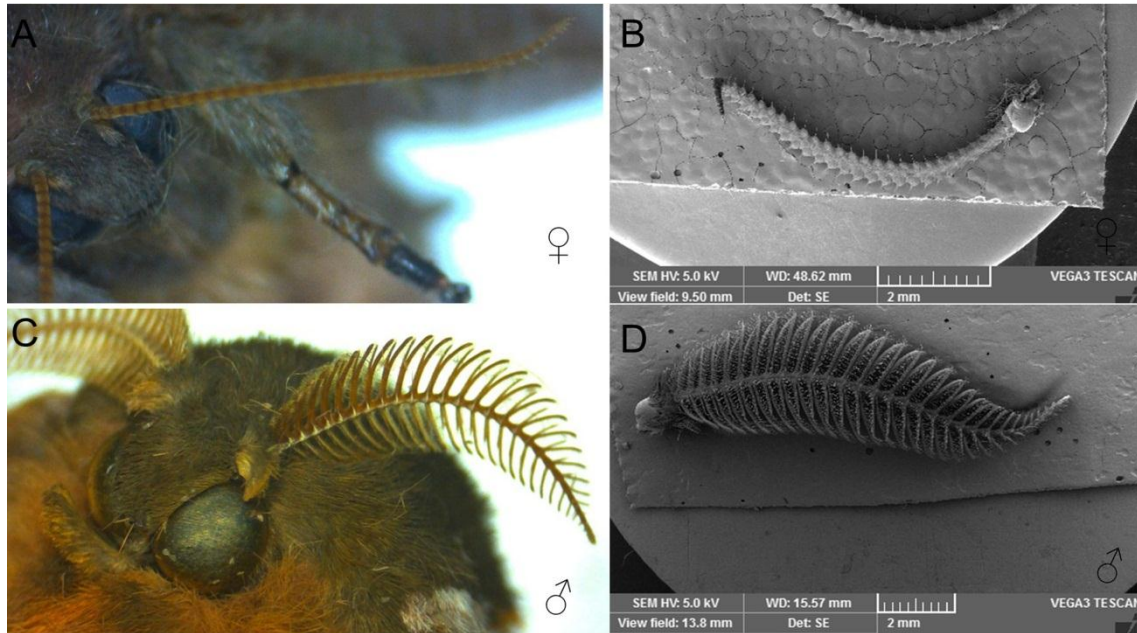


Fig. 2. Division of female antennal segments ♀ (A, C and E) and male antennal segments ♂ (B, D and F).

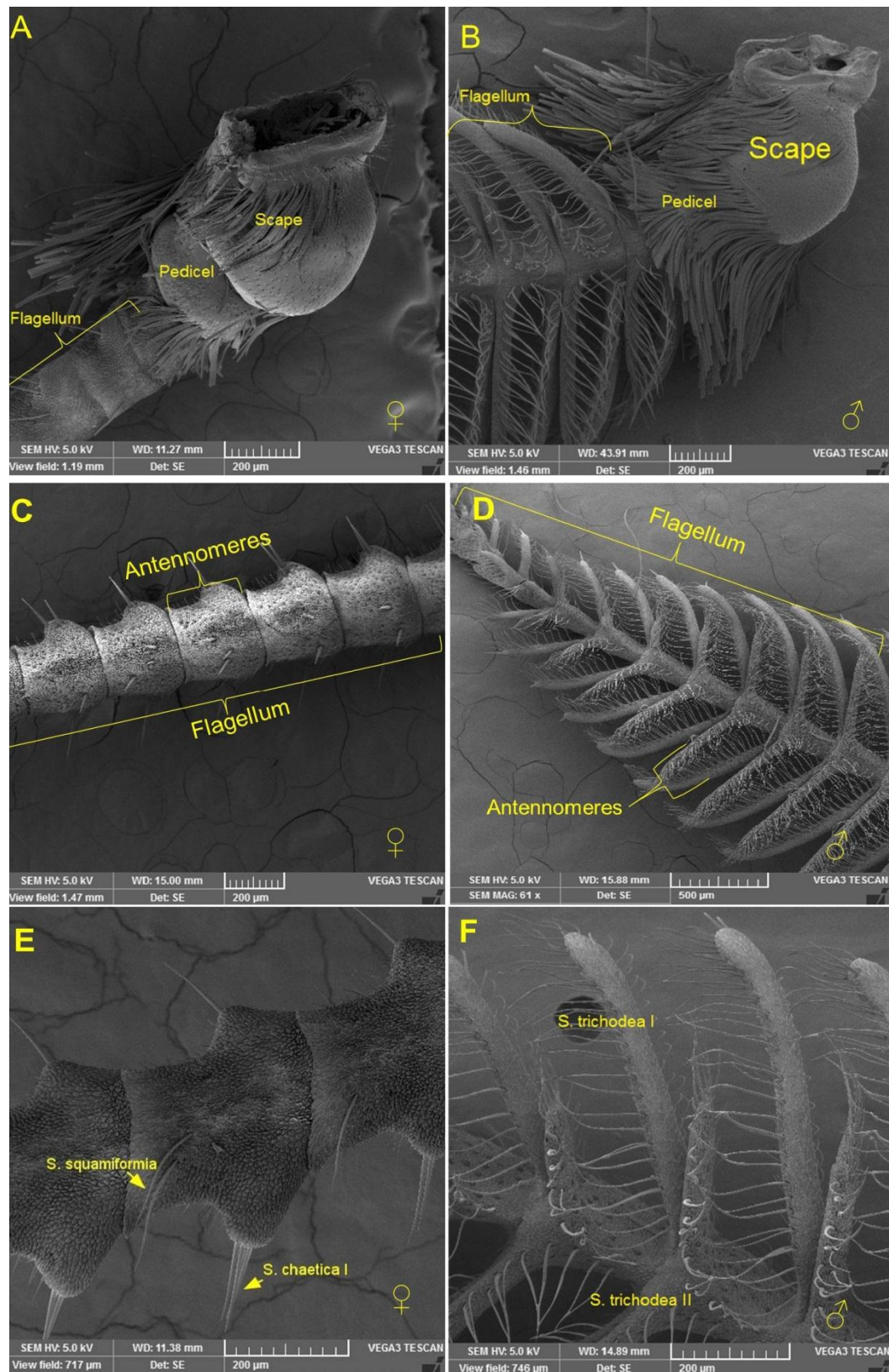


Fig. 3. Sensilla squamiformia (A and C) and Böhm's bristles BB (B and D).

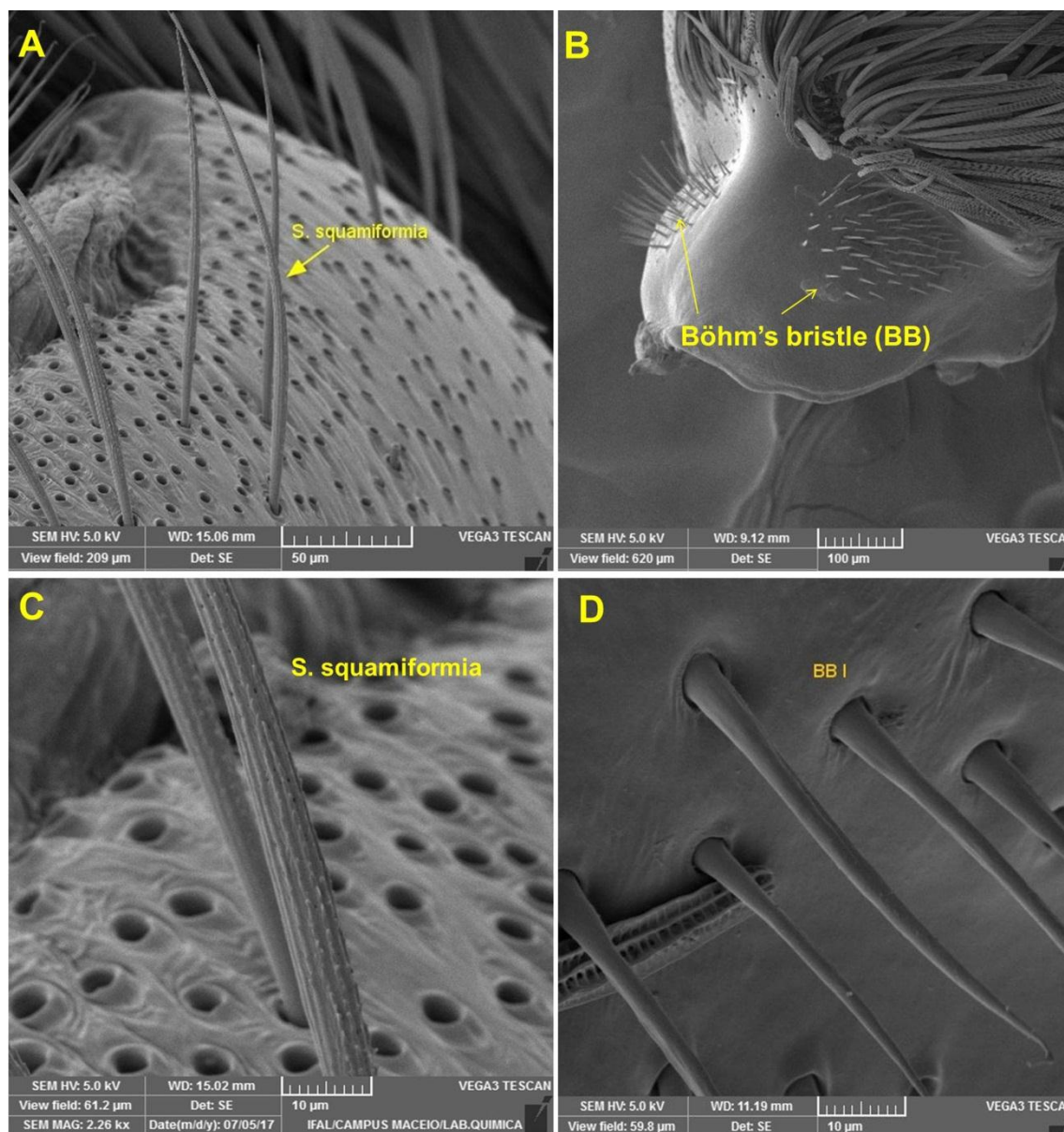


Fig. 4. Sensilla chaetica (A and B), chaetica sensilla (cuticle with vertical line-like) (C), sensilla trichodea (4A and 4B), trichodea sensilla (cuticle with transverse line-like) (D).

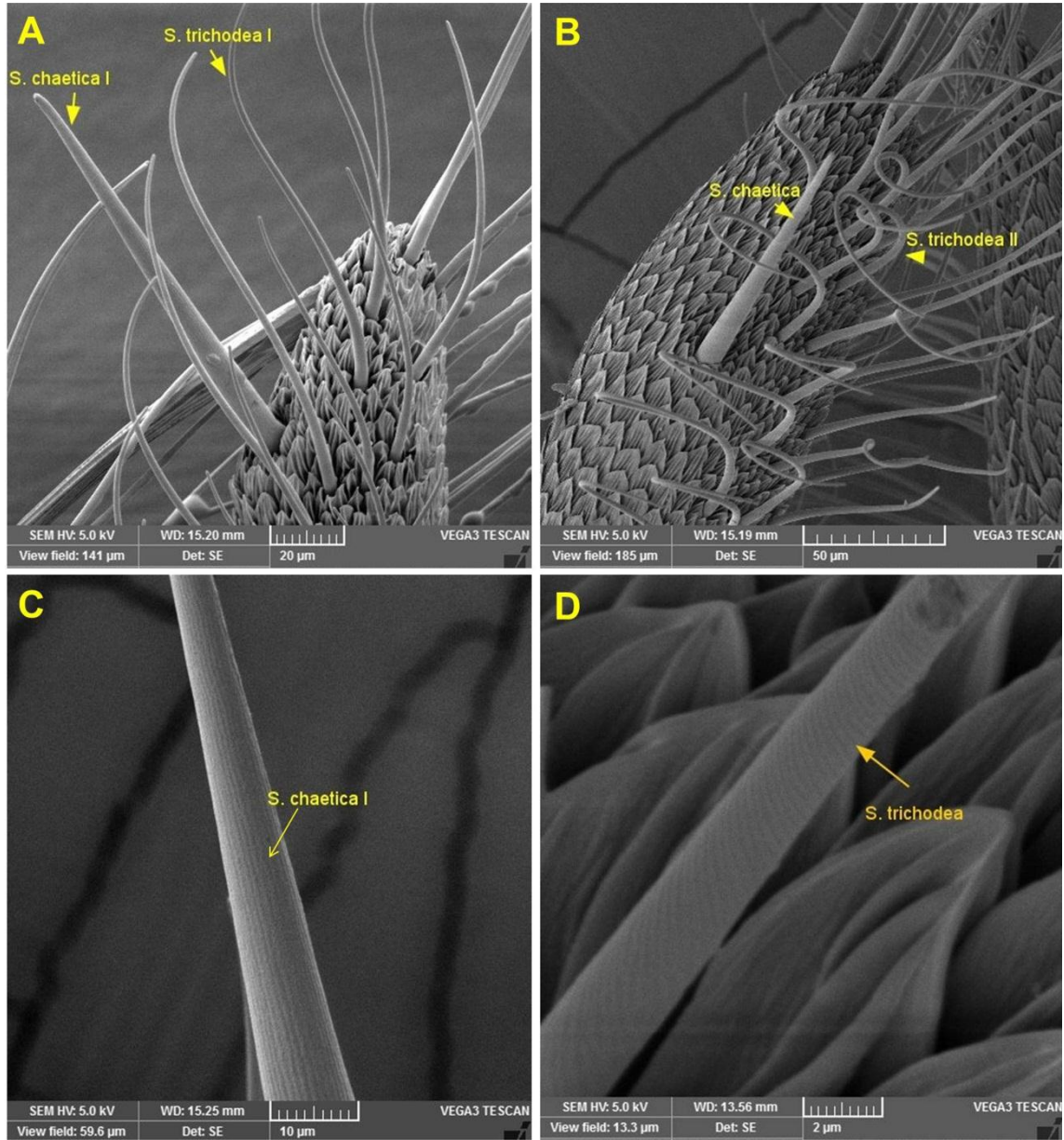


Fig. 5. Morphology of sensilla and cuticle with transverse line-like. Sensilla trichodea (A, B and D), sensilla basiconica (A, B and C).

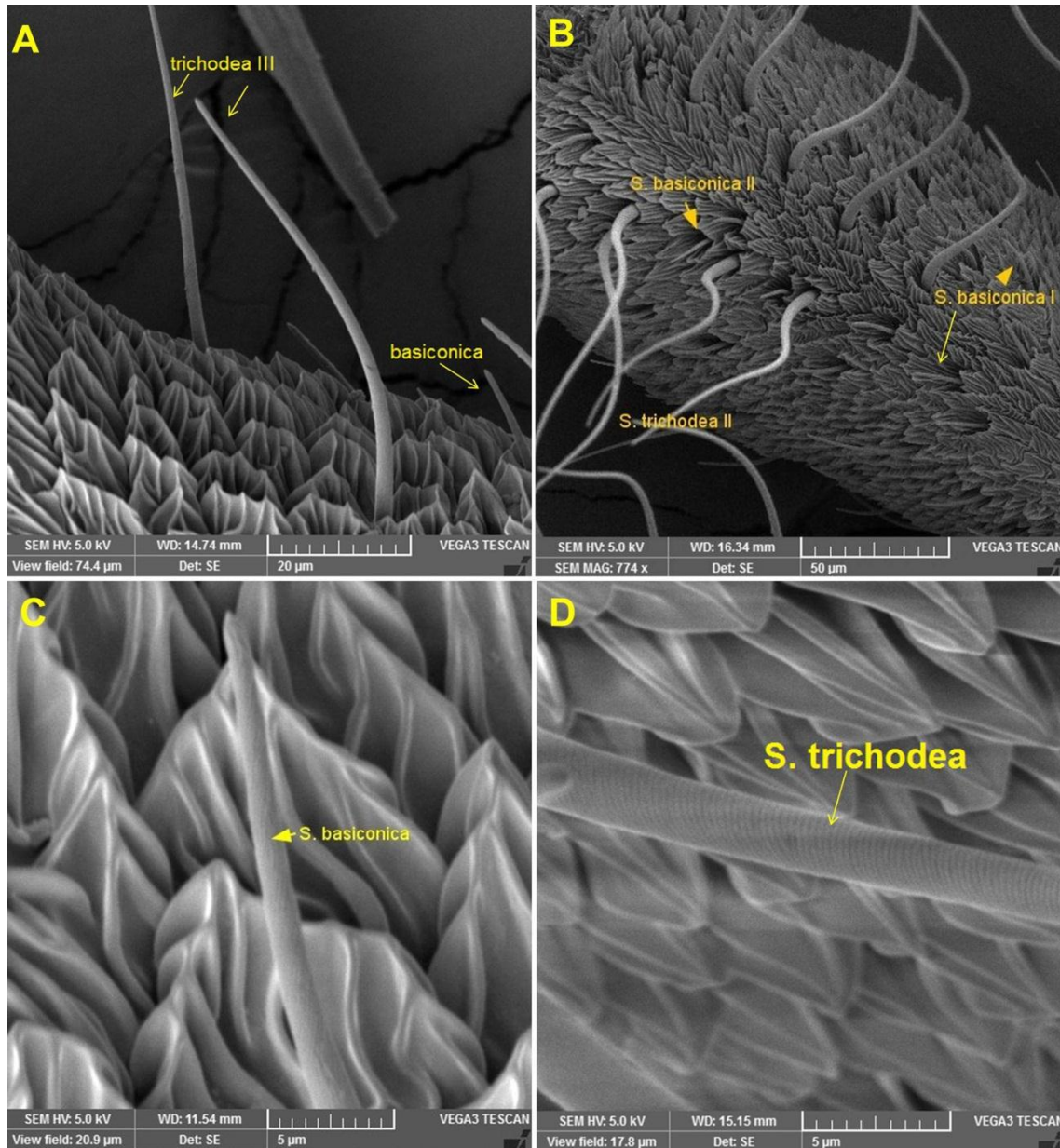
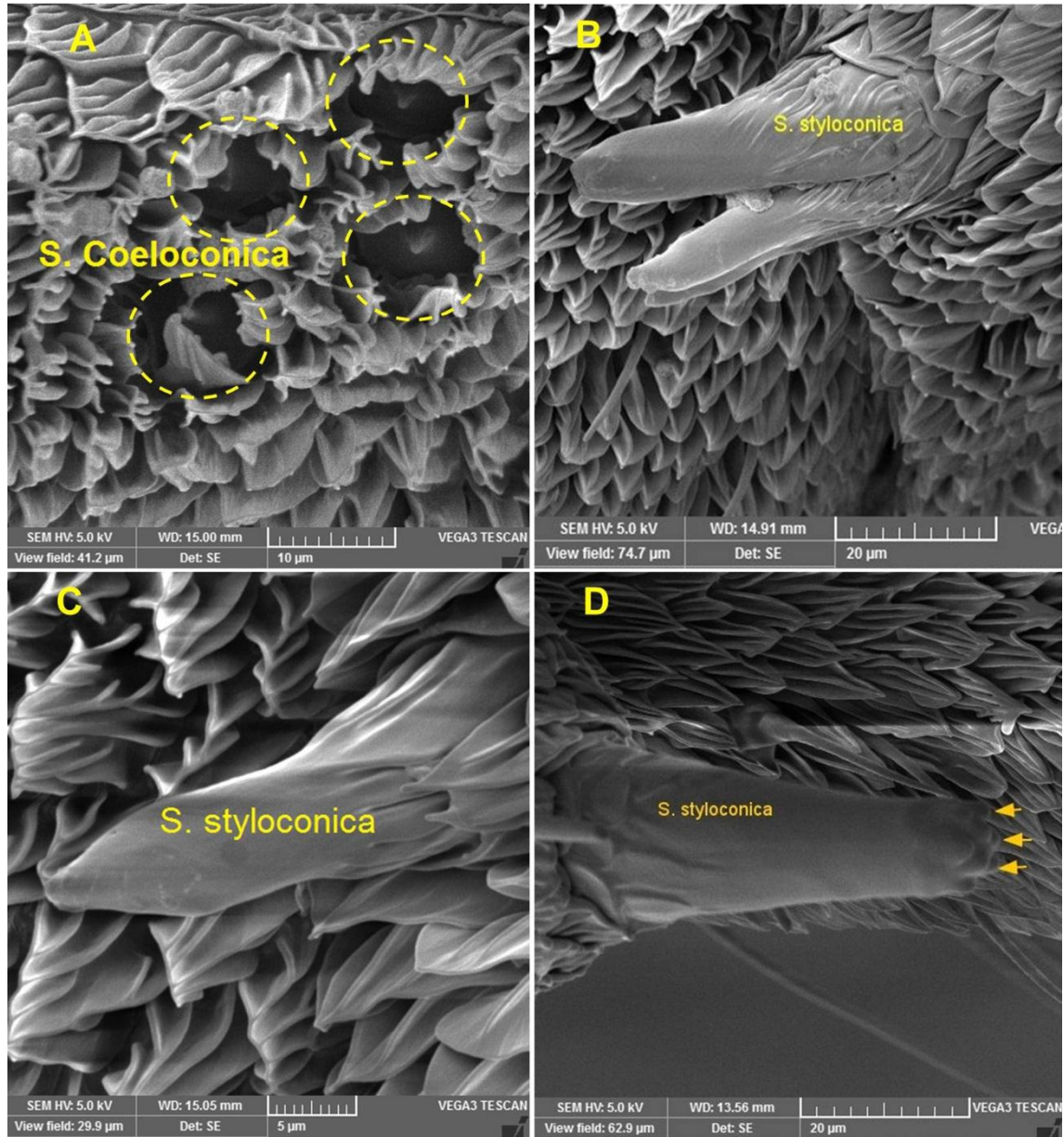


Fig. 6. Sensilla coeloconica (A), sensilla styloconica with more than one connected unit (B), sensillum style with a pin (C), sensillum style with more than one pin (D).



2/5/2019

Supplementary Fig.S1: Sequence View for Process ID: LPQRN001-19

LPQRN001-19 | BOLDSYSTEMS

Sequence View for Process ID: LPQRN001-19

Specimen Details Current

Sample ID:

AL2-18001

Process ID:

LPQRN001-19

Project:

LPQRN

Tax Names:

Arthropoda, Insecta, Lepidoptera, Saturniidae, Hemileucinae, Hemileucini, Automeris, Automeris iberia

Taxon:

Automeris iberia

Rank Name:

species

Sampling Protocol:

N/A

BIN URI:

N/A

Kingdom:

Animals

Marker Summary

Marker Code	Sequence Length	GC	Ambiguous	Trace Count
COI-5P	667	33.4%	0%	2

COI-5P

Illustrative Barcode



Nucleotide Sequence

GAACCTCTACTTTATTTTGGGAATTTGAGCAGGAATAGGAACTTCATTAGATTACTAATTC
STGCTGAATTAGGTACCCCGAGATCTTTAATTGAGATGATCAAAATTTATAACTACTCGTACAG
CCCATGCCCTTCAATATAATTTTATAGTTATACCTATTATAATCGAGGATTCGGAATTTGAT
TAGTTCCCTTAATATTAGGGGCCCGAGATATAGCTTTCCCGGAATAAATAATAGATTTTGAC
TACTCCCCCTCTTTAGCCCTTTAATTTCAAGAGAAATTTGAAAAATGCTCCGATACCGCT
GACCGTTTACCCCTCTCTTCTTAATTTGCTCATGAGGATCTTCAATTTGATTTAGCTATTT
TTGCTTACATTTAGTGGAAATTCCTCAATTTTAGGAGCTATTAAATTTTATACAACAAATTATTA
ATATACTTTAAATAATATATCTTTTGAACAAATACCTCTATTGTTGAGCTGTTGGAAATCACC
CATTTTACTCTCTCTTCAATACCTGTTTATGCTGAGCTATTACTATATTAAACAGACCGTA
ATTAATACTCTCTTTTGAACCCCGAGGAGCGAGACCTATTTTATATGACACTATTTT
GATTTT

Amino Acid Sequence

TLVFIKGIWAGMVTSLSLIRAELOTPSSLTGDDQIYNTIVTAHAFINEFFMMPDKIGGFQML
VPLRLGAPQWAFPIHNNPSFMLLPSSLTLISSSIVENGAGTGTVPPLSSNIAHGGSSVLAIF
SULHAGISSILGAINFITTIENRILNNSFDQMPFVNAWGITAFLLLSLPVLASAITMLLTORN
LNTSFFDPAAGGDPILYQHLFWFK

Sequence Metadata

Genbank Accession:

N/A

Translation Matrix:

Invertebrate Mitochondrial

Last Updated:

2019-01-16 19:53:23.247191

Sequence Runsite:

Macrogen Inc., Korea

COI-5P Tags & Comments

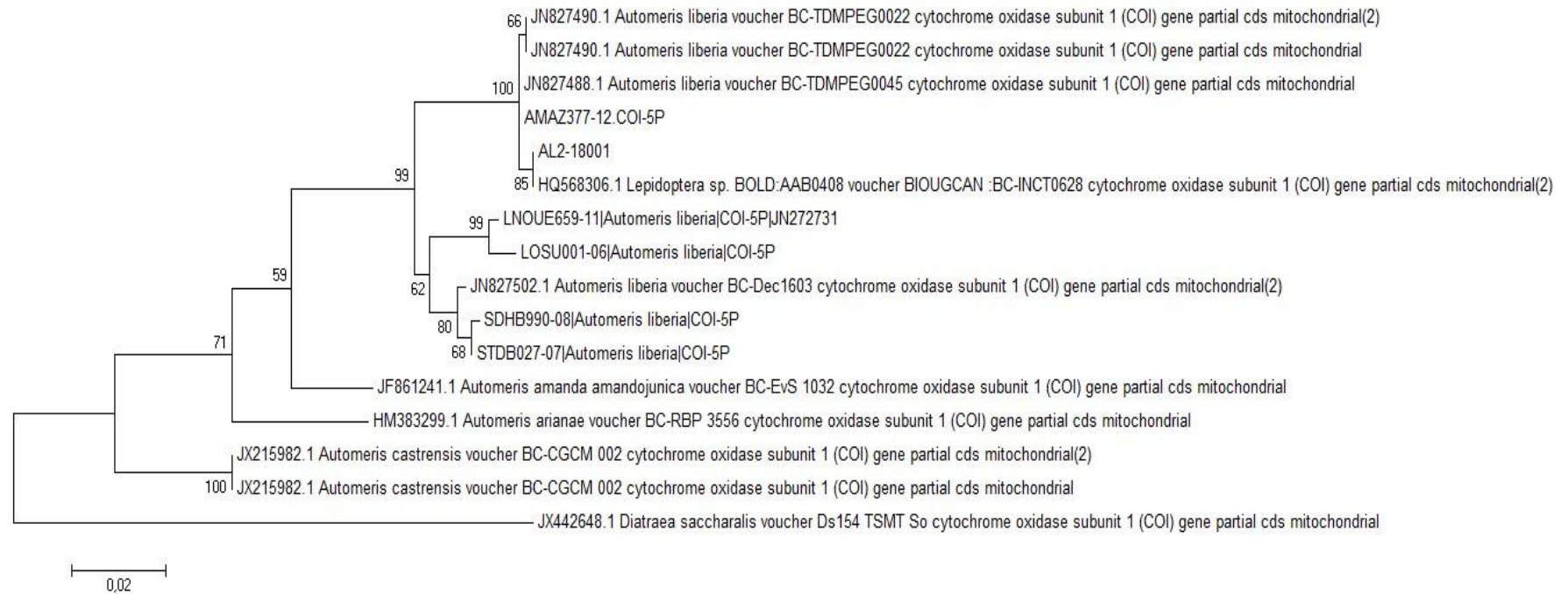


Figure S2. Phylogenetic tree constructed with the sequences of *Automeris liberia* and other moths of the family Saturniidae.

CAPITULO IV

Morfologia, histologia do ovipositor e resposta eletrofisiológica de machos ao extrato da glândula sexual da fêmea de *Automeris liberia* (Cramer, 1780) (Lepidoptera: Saturniidae)

Resumo: *Automeris liberia* (Cramer, 1779) é uma praga para culturas de relevância socioeconômica como, por exemplo, a palma de óleo e o coqueiro. Seu principal dano consiste na desfolha causada pela lagarta prejudicando o desenvolvimento da planta. O intuito de reduzir o uso de inseticidas em razão da preservação ambiental e saúde da população torna alvo de estudos alternativas de controle para pragas. Os semioquímicos são uma alternativa de controle viável e o uso de feromônio para controle de pragas agrícolas já é uma realidade que auxilia o produtor a manter a qualidade do produto e a produtividade sem afetar o meio ambiente. O objetivo do presente trabalho foi realizar a análise da morfologia e histologia da glândula sexual com identificação de semioquímicos produzidos pela fêmea de *Automeris liberia*. Foi realizada a excisão dos segmentos abdominais (8° e 10°) de fêmeas virgens de 24 a 48 horas idade, com realização de análise por microscopia eletrônica de varredura do ultimo segmento (10°). Alguns exemplares de glândulas foram usados para realização de cortes histológicos para verificação de epitélio glandular. Extrato de fêmea (glândula sexual) foi obtido por extração com solvente HPLC e usado para identificação da molécula ativa com elucidação da estrutura química por CG-EAG, CG-FID e CG-MS. A glândula sexual nas fêmeas, denominada de membrana intersegmental, fica localizada entre o 8° e 10° segmento final do abdômen das fêmeas, essa região fica inflada no horário de atividade sexual do inseto durante a escotofase. Foi observado no décimo segmento denominado de vulva esclerótica à presença de sensilas caéticas e microtrichia. A partir da análise histológica foi verificado à presença de células glandulares sugeridas como responsáveis pela produção de moléculas de odores. Em bioensaios eletrofisiológicos com a antena de macho mostraram que o extrato da glândula sexual da fêmea provoca despolarização da antena com um pico sugerido como componente EAD-ativo onde o candidato sugerido é um hidrocarboneto ramificado. Diante dos resultados obtidos verifica-se que é necessário explorar mais a composição química da glândula sexual e sua função na comunicação intraespecífica dessa espécie, com o intuito de obter uma alternativa para o controle comportamental desta praga no campo.

Palavras-chave: Semioquímicos, Mariposa, Inseto-praga, Glândula sexual.

1. Introdução

A família Saturniidae possui inúmeras espécies de lepidópteros geralmente noturnos e muitos são pragas de culturas agrícolas. Essa família abrange nove subfamílias dentre elas a Hemileucinae com cerca de 5 gêneros e 630 espécies (MILLAR et al. 2010; YAN et al. 2015; SPECCHT et al. 2006; SPECCHT et al., 2007; SPECCHT et al., 2009). A subfamília Hemileucinae compreende diversas mariposas do gênero *Automeris* que ocorrem no Brasil, Canadá e Argentina (SPECCHT et al., 2006; SPECCHT et al., 2007; SCHOWALTER E RING, 2017). No Brasil o gênero *Automeris* está presente no norte, nordeste e sudeste (TINÔCO, 2016).

A *Automeris liberia* (Cramer, 1780) pertence à família Saturniidae subfamília Hemileucinae. Os adultos possuem coloração laranja predominante e a lagarta tem cor verde com listras laterais e corpo repleto de cerdas. Na fase de lagarta é considerada uma desfolhadora que afeta Arecaceae principalmente na região norte do Brasil. O dano consiste na redução da área foliar das plantas (OLIVERIA et al., 2018).

Para algumas espécies de Saturniidae tem se a descrição de moléculas usadas por mariposas na comunicação intraespecífica com atividade na atração sexual (MILLAR et al., 2010; BESTMANN et al., 1987; MCELFFRESH e MILLAR, 1999; ZARBIN et al., 2007). Muitos destes compostos são identificados em uma região específica denominada de glândula sexual presente em diversas mariposas. Os estudos sugerem que a presença da célula epidermal na glândula sexual está envolvida na produção destes compostos em fêmea (MA e RAMASWAMY, 2003).

Os semioquímicos, principalmente feromônios sexuais são usados em estratégias de controle e monitoramento de pragas em ambientes agrícolas. Muitas moléculas identificadas já foram introduzidas com sucesso para o controle comportamental para coleta massal, confundimento sexual e monitoramento (WITZGALL et al., 2010; PINTO-ZEVALLOS et al., 2013; GOULART et al., 2015).

Em comparação com outras espécies de lepidópteros da família Saturniidae, pouco se sabe sobre semioquímicos usados para controle comportamental de espécies do gênero *Automeris*. Tais informações são escassas principalmente para a espécie *A. liberia*.

O objetivo do presente estudo foi examinar a presença de células epidermais na glândula sexual das fêmeas e identificar moléculas eletrofisiologicamente ativas no extrato da glândula que estimulam respostas olfativas em machos.

2. Materiais e métodos

2.1 Insetos

As lagartas foram obtidas em plantios de palma de óleo do Grupo Agropalma S/A em Tailândia-PA, Brasil (Figura 1A). O material foi direcionado ao Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais na Universidade Federal de Alagoas – UFAL, Maceió – AL, Brasil. As lagartas foram alimentadas com folíolos de coqueiro até a fase de pré-pupa e pupa (Figura 1B-C).

Figura 1. Coleta de lagarta de *A. liberia* no campo (A,B); lagarta (C) e adulto (D) mantido em sala de criação.



Fotos: Kelly B. da Silva, 2016.

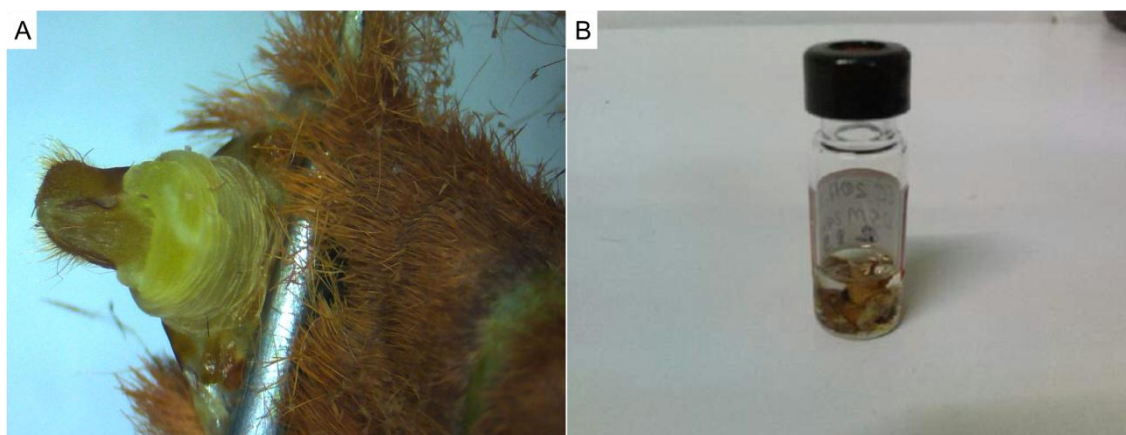
A sexagem foi realizada na fase de pupa e confirmada na fase adulta. Os insetos adultos de ambos os sexos foram mantidos separadamente em gaiolas numa sala de criação a $25 \pm 2^\circ \text{C}$, com fotoperíodo de 12:12 horas (Fotofase:Escotofase) (Figura 1D). Foram utilizados insetos adultos de 24 a 48 horas

de idade para os procedimentos experimentais como histologia e preparação dos extratos

2.2 Obtenção de glândula sexual para preparo de extrato e morfologia

O extrato da glândula sexual foi obtido a partir de 10 exemplares de fêmeas adultas virgens com 24-48 horas de idade, no horário do comportamento reprodutivo deste lepidóptero, durante a escotofase (definido mediante estudos preliminares). As glândulas foram excisadas com tesoura cirúrgica a partir dos segmentos abdominais 8-10. Em seguida, foram rapidamente imersas em 500 μ L de hexano grau HPLC (VETEC) durante 20 minutos. Os extratos obtidos em 3 repetições (10 glândulas cada) contendo uma concentração final de 50 μ L de hexano/glândula (Em cada repetição) (Figura 2). Exemplares do órgão foram utilizados para obtenção de imagens em microscópio digital (Labomed Luxe o4D Digital Stereozoom Model).

Figura 2. Excisão dos segmentos finais a glândula sexual da fêmea de *A. liberia* (A); extração por solvente (B).



Fotos: Autor.

2.3 Identificação química

2.3.1 Detector de ionização em chamas-DIC e espectrometria de massas EM

O extrato da glândula sexual da fêmea de *A. liberia* foi analisado em cromatógrafo a gás (Shimadzu, GC-2010) com detector de ionização de chama (CG-DIC), equipado com coluna RTX-5 (30 m comprimento, 0,25 mm i.d., 0,25 mm de espessura) com hidrogênio como fase móvel. O equipamento foi programado com a temperatura inicial do forno a 140°C por 1 minuto com rampa de 10°C /min até 300°C e mantida por 12 minutos. Foi injetado 1 μ L do extrato no modo sem divisão

de fluxo (Splitless). A identificação dos componentes foi realizada através do cálculo do índice de Kovats (KI). Os KIs foram determinados através da injeção de uma série homóloga de *n*-alcanos, C7-C40 (Sigma Chemical, Co., St. Louis, MO) na mesma programação das amostras conforme descrito acima, com consulta subsequente nas bases de dados nos sites do Pherobase, NIST e ChemSpider.

O extrato foi analisado em cromatógrafo gasoso acoplado ao espectro de massas modelo Shimadzu (CG/QP2010 Plus), com injetor Split/splitless usando o hélio como gás de arraste. A ionização ocorreu por impacto de elétrons a 70 eV. Foi injetado 1 µL do extrato no modo sem divisão de fluxo (splitless). O aparelho equipado com coluna capilar DB1 (100% Dimetilpolisiloxano) com (30 m, d. 0,25 mm) foi programado com temperatura inicial do forno de 120° C durante 2 min, aumentada 300° C a 5 ° C/min-1 e mantida durante 6 minutos.

O espectro de massas foi analisado de forma individual e por análise frente aos espectros sugeridos pela biblioteca computacional do equipamento como Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia, 2008 (NIST08 e NIST08s) e da biblioteca Wiley 229. Foi determinado o índice de Kovats (KI) através de uma série homóloga de *n*-alcanos C7- C40 (Sigma Chemical, Co., St. Louis, MO) obtidas nas mesmas condições da amostra e comparados com KI presentes em bancos de dados publicados nos sites Pherobase e NIST Chemistry Web Book.

2.4 Bioensaio

2.4.1 Identificação de compostos ativos por CG/EAG

Os insetos adultos machos de *A. liberia* foram anestesiados em baixa temperatura (-18° C) por um período de um minuto e com uso de pinça entomológica. Foi realizada a remoção da antena do inseto a partir do escapo de forma cuidadosa, em seguida, a antena foi colocada no eletrodo de prata do EAG, a partir da extremidade final (ponta da antena) e inicial (base escapo), e sobre as extremidades foi colocado gel condutor (Sigma Gel; Parker Laboratories, Inc., Fairfield, NJ).

As antenas foram submetidas aos seguintes tratamentos: pulsos de ar contendo extrato e como controle pulso de ar com hexano e também somente com ar. Para a análise foi adicionado 10 µL da amostra sobre a superfície de um papel de filtro (2,1 cm x 1,1 cm), e este foi inserido na extremidade superior da pipeta de pasteur de vidro. Em seguida, a pipeta foi inserida ao sistema gerador de pulsos

mantida a 0,2s (Stimulus, Controller, Type CS-55, Syntech) e conectada a uma entrada do sistema de saída de ar com amostra. Foram realizados para cada tratamento 3 repetições. Foi utilizada um total de 9 antenas de machos virgens de 24 a 48 horas de idade. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas por intermédio do teste de Tukey a 5% de probabilidade. Todas as análises foram realizadas utilizando-se o programa Genes (CRUZ, 2013).

Foi utilizado para análise no GC-EAG um cromatógrafo a gás com detector de ionização em chama CG-DIC (Shimadzu GC2010) equipado com coluna capilar RTX®-5 (30m X 0,25mm X 0,25µm de espessura de filme; Restek), modo de injeção Splitless com hidrogênio como gás de araste e acoplado ao detector eletroantenográfico EAG. A programação do equipamento (CG) seguiu as seguintes condições de análise do CGDIC. A amostra injetada passou pela coluna e o fluxo de saída foi dividido na proporção de 1: 1. Os insetos adultos (fêmea 24-48 horas de idade) foram anestesiados em condições de baixa temperatura (-18° C) por um minuto, e em seguida, a antena foi retirada desde a base e fixada entre as duas bases do eletrodo. A região distal da antena foi colocada no eletrodo da interface de aquisição de sinal conectado ao EAG. Um gel condutor de eletricidade (Sigma Gel; Parker Laboratories, Inc., Fairfield, NJ) foi usado para cobrir as duas extremidades da antena sobre o eletrodo. As respostas do GC-DIC e EAG foram simultaneamente gravadas fazendo uso do Software AutoSpike (Syntech, Holanda) com o Syntech GC-EAD32 (versão 4.6, 2008).

2.5 Preparação do ovipositor para microscopia eletrônica de varredura

Foi realizada a dissecação do 10° segmento abdominal de fêmeas virgens com 24 horas de idade usando tesoura cirúrgica esterilizada. Em seguida o material foi imerso em solução fixadora de glutaraldeído a 2,5% em tampão fosfato de sódio a 0,1M e mantido por 10 minutos. Depois a amostra foi submetida à desidratação em série graduada de etanol (70%, 80% e 100%, por 5 minutos em cada concentração).

Para microscopia eletrônica de varredura a amostra foi montada sobre uma fita de carbono fixada no stub suporte de metal e revestida de ouro (Q150R ES, Quorum). As imagens foram obtidas por microscopia eletrônico de varredura (Marca Tescan, modelo VEGA3 LMU) operando a 20kv (Figura 3). No Laboratório de Análise Instrumental do Instituto Federal de Alagoas – IFAL, Maceió-AL, Brasil.

Figura 3. Equipamento de microscopia eletrônica de varredura – MEV.



Foto: Autor.

2.6 Preparação de tecidos para histologia

Para o preparo das lâminas para avaliar a histologia foi usado o aparelho reprodutor de fêmeas virgens de *A. liberia* com 24 horas de idade. No horário de atividade sexual do inseto (escotofase) através de uma leve pressão sobre o abdômen e com auxílio de uma tesoura cirúrgica foi excisado o aparelho reprodutor a partir do 8º segmento abdominal. Em seguida, foi colocado o material excisado na solução fixadora de Bouin (ácido pícrico 75%, formaldeído 25%, ácido glacial acético 5%) e mantido por 24 horas.

Após a fixação em solução de Bouin as amostras foram desidratadas por um tratamento em diferentes concentrações de etanol (70%, 80% e 90%), clarificado por xilol e incluído em parafina. Em seguida, o material parafinado foi levado ao micrótomo (Slee, RM2125) para a realização de cortes de 5 µm, os cortes foram feitos horizontalmente ao órgão. Em seguida, os cortes foram desparafinados com xilol, reidratados por concentrações decrescentes de etanol e submetidos à coloração para avaliação estrutural (Hematoxilina - Eosina - HE). A análise foi realizada por microscopia de luz convencional através de uma câmera digital (Olympus, DP25) adaptada ao microscópio (Olympus, BX41).

A combinação mais comum de corantes usada em histologia é Hematoxilina eosina (HE), pois distingue os diversos componentes estruturais celulares da matriz

extracelular. A hematoxilina possui característica química alcalina, ou seja, tem atração por ácidos que compõem os tecidos, tais como as proteínas, o retículo endoplasmático rugoso e os ácidos nucleicos, conferindo a essas estruturas a cor azul-púrpura. Já a eosina, por ser um corante com característica ácida (basófila), apresenta afinidade predominante pelo citoplasma, corando-o de róseo a vermelho (JUNQUEIRA E CARNEIRO, 2008).

3. Resultados

3.1 Morfologia dos segmentos abdominais finais da fêmea de *A. liberia*

Em fêmeas foram observados de 1/7 segmentos abdominais visíveis, enquanto os últimos segmentos 8, 9 e 10 ficam menos expostos. Foi observado que a glândula fica localizada entre os últimos segmentos abdominais do inseto e sua exposição ocorre geralmente no horário de atividade sexual (noturno). Estes três últimos segmentos formam o aparelho reprodutor da fêmea e são respectivamente classificados como cutícula esclerotizada, membrana intersegmental (glândula) e válvulas escleróticas do ovipositor (papila anal) (Figura 4).

Figura 4. Exposição da glândula sexual da fêmea de *A. liberia* (A), parte terminal do abdômen com ovipositor e glândula (região dorsal) (B).

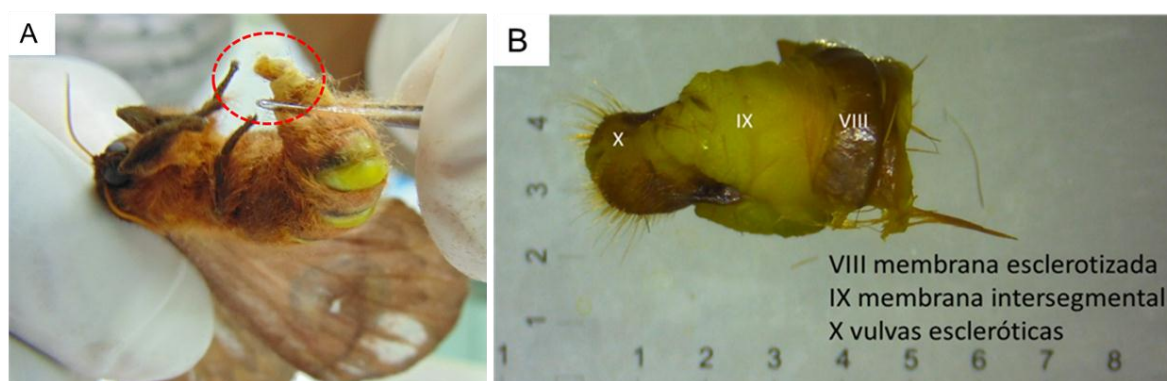
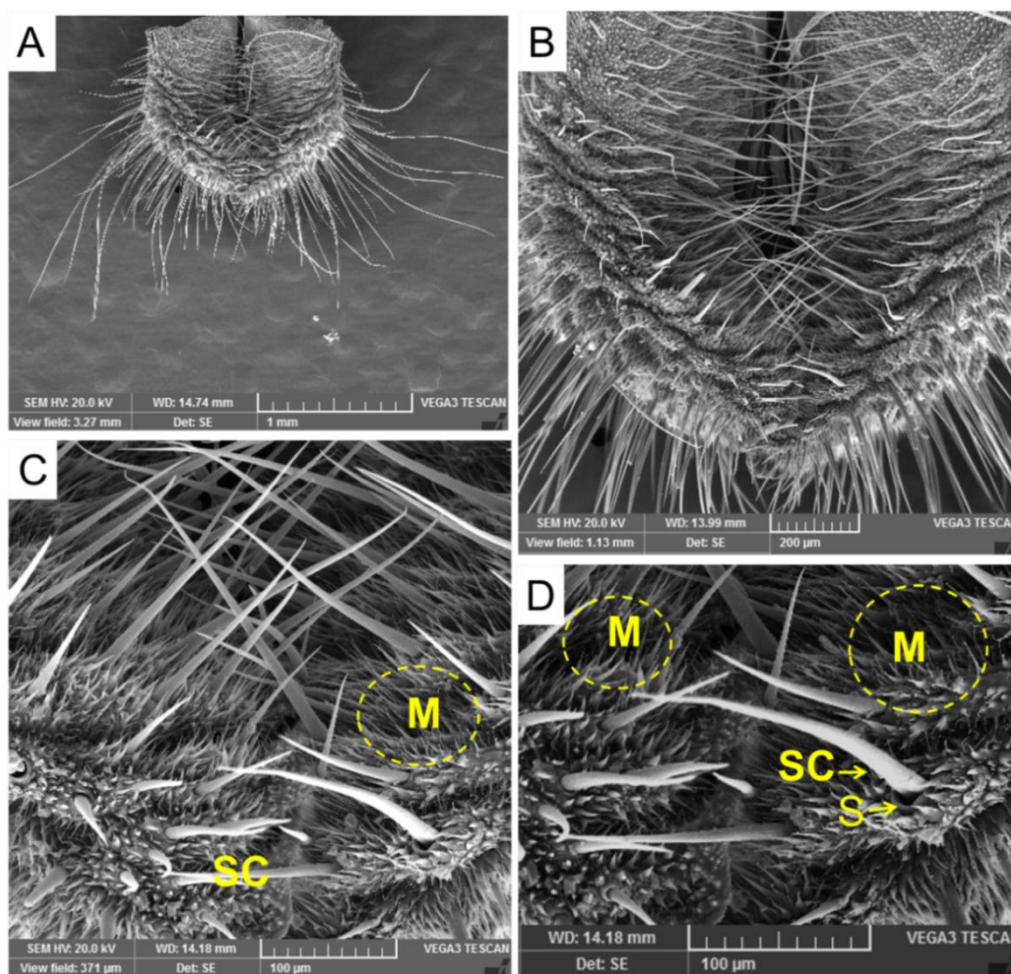


Foto: Kelly B. da Silva, 2017.

Os três últimos segmentos ficam retraídos no segmento anterior (7°) permanecendo oculto e quando estendido ficam totalmente expostos os segmentos 8°, 9°/10° permitindo a observação da glândula sexual. A região da glândula sexual denominada de membrana intersegmental é localizada no 9° segmento, está fica retraído entre o oitavo segmento e o último (décimo).

Na *A. liberia* a membrana intersegmental está interligado ao décimo segmento geralmente fundido. Neste último segmento estão presentes várias cerdas com estruturas alongadas na papila anal (vulva esclerotizada/ovipositor) (Figura 5).

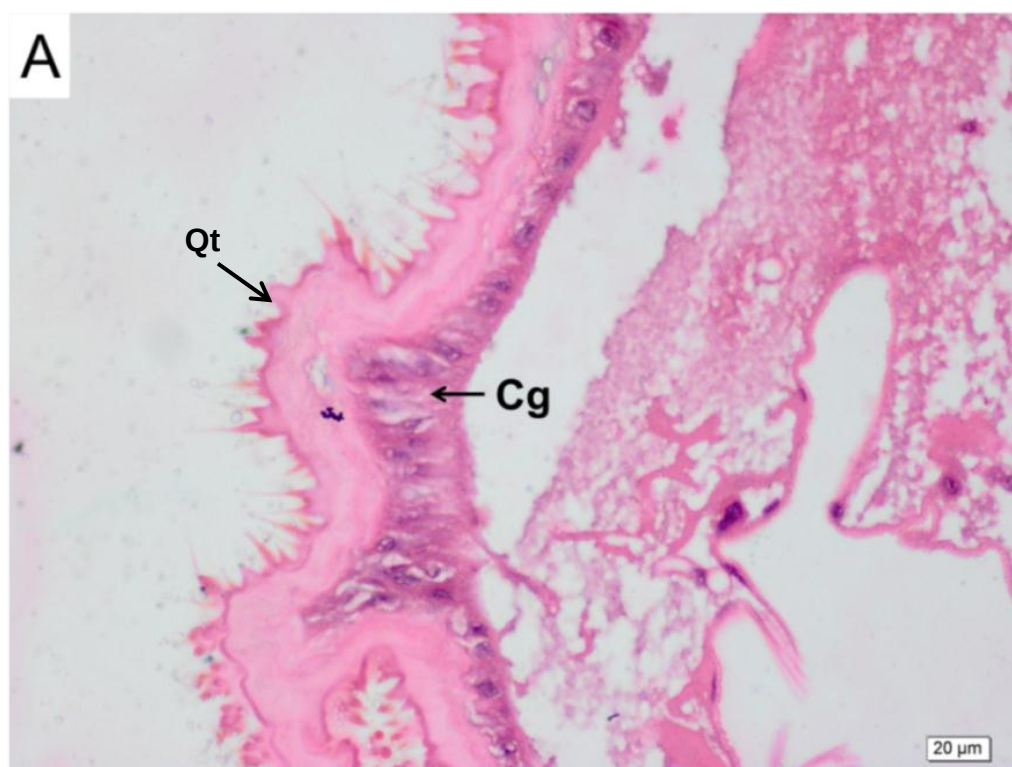
Figura 5. Estruturas do ovipositor por microscopia eletrônica de varredura. Ovipositor (A-D); sensila caética SC (C-D); soquete S (D) e microtricas curtas M (C-D).



O décimo segmento (ovipositor) possui uma série de estruturas filamentosas, sendo observada a presença de sensila caética SC com a presença de soquete S eminente na base dessa estrutura (Figura 5), essas sensilas estão distribuídas nas regiões ventral e dorsal do ovipositor. A presença de microtrichia M foi observada intercalada entre as sensilas caéticas na mesma região, a estrutura da microtrichia é similar a espinhos, alguns mais robustos outras com a ponta apical mais (Figura 5).

A partir dos cortes histológicos dos segmentos 8° ao 9° foram obtidas imagens que sugerem a presença de células glandulares. Essas são células epidermais hipertrofiadas. Após o revestimento da parede cuticular foi sugerido logo abaixo, uma camada de células glandulares na região da membrana intersegmental conforme exposto na figura 6.

Figura 6. Cortes histológicos da região glandular (glândula sexual). Células glandulares (Cg) e Quitina (Qt) (A).



Foram observadas nas imagens histológicas a presença de uma camada de células proeminentes com forma alinhada similar a um cordão de contas. É sugerida que estas células glandulares (Cg) que se conectam entre si, são estruturas modificadas que possuem uma função secretora estando envolvidas na presença de compostos voláteis na glândula sexual.

3.2 Perfis dos cromatogramas das amostras de *A. liberia*

Os perfis cromatográficos dos extratos de ambas as partes do corpo do inseto (asa anterior ♀♂; asa posterior ♀♂; aparelho reprodutor masculino ♂ e ovipositor♀) foram verificados por cromatografia gasosa. Foi observado o perfil dos picos

presentes nas amostras e através da sobreposição dos cromatogramas dos extratos por sexo foi observado que o extrato da glândula da fêmea apresenta uma possível região de componentes indicados somente neste extrato da fêmea entre 11.00 e 19.00 minutos (Figura 7).

Figura 7. Cromatograma CGMS-DB1 com perfil de componentes em fêmea de *A. liberia*.

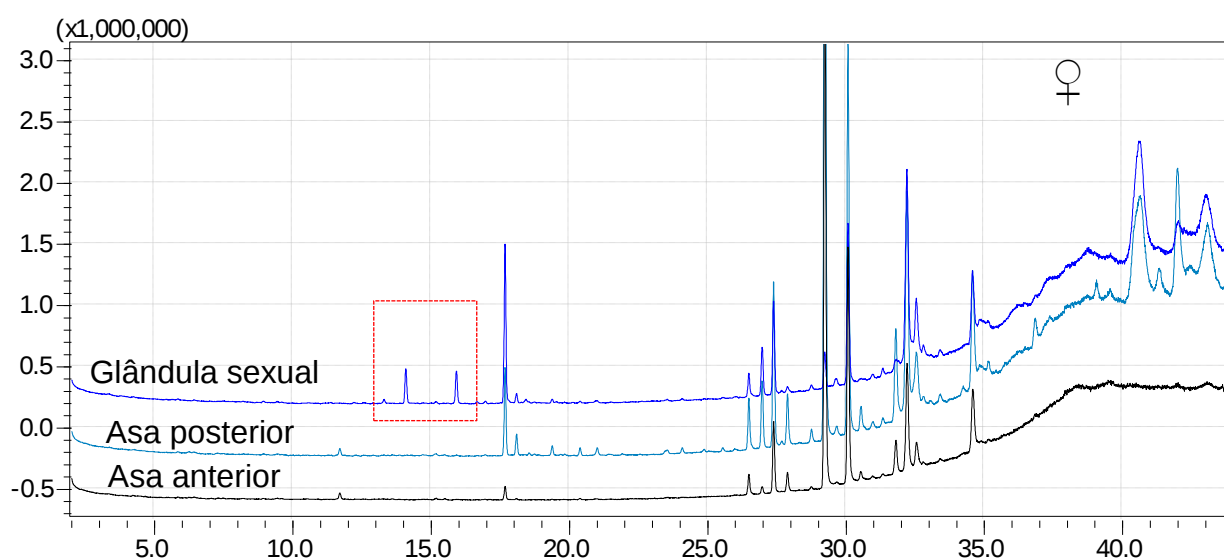
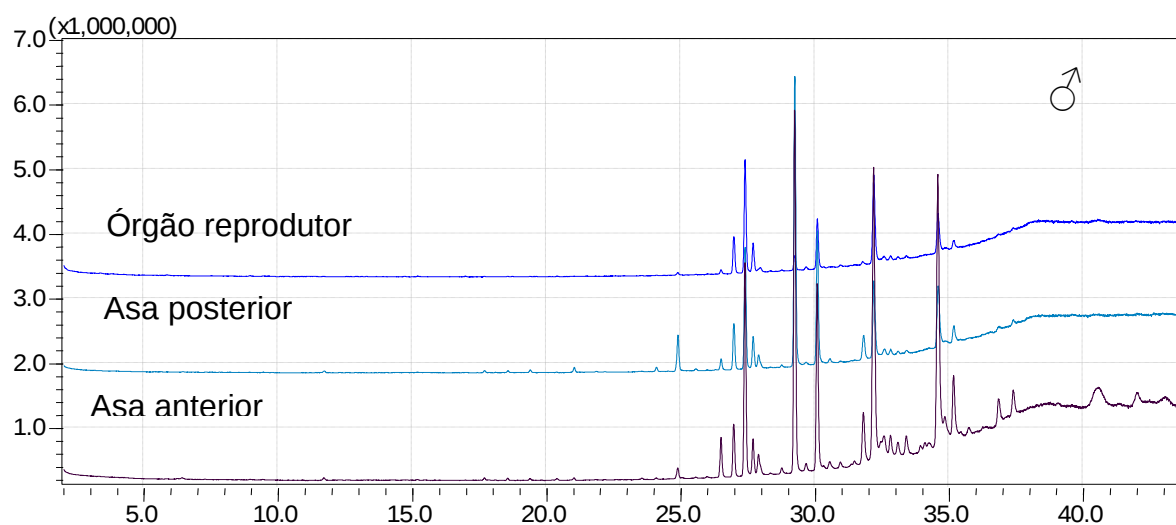


Figura 8. Cromatograma CGMS-DB1 com perfil de componentes em macho de *A. liberia*.

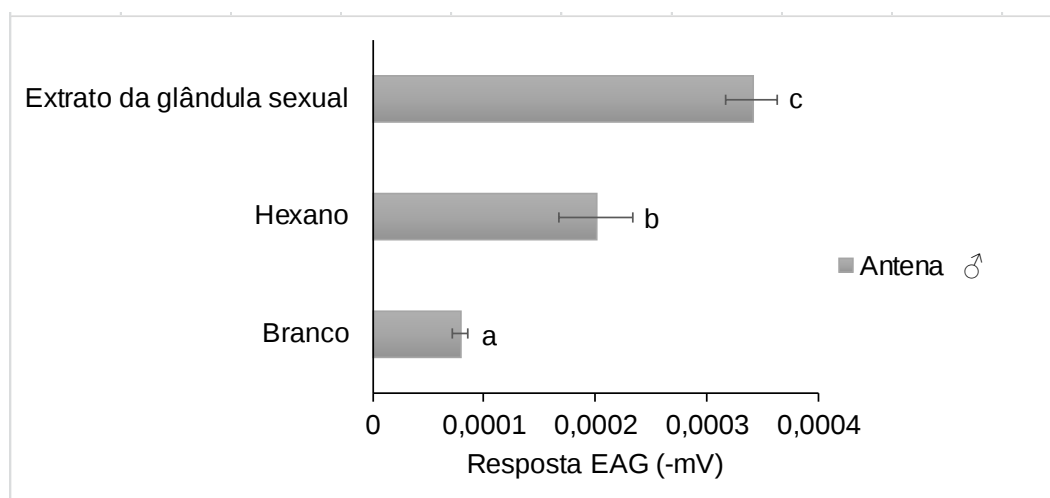


Ao verificar os perfils cromatográficos dos extratos do macho não foi possível notar a presença da região de picos indicados na fêmea principalmente daqueles indicados no extrato da glândula sexual (Figura 7 e 8).

3.3 Análise de extrato da glândula de fêmeas

O resultado do bioensaio eletrofisiológico das antenas de machos virgens com 24-48 horas de idade (n=9) frente ao extrato da glândula de fêmea virgem de 48 horas de idade, demonstrou que houve a despolarização da antena dos machos sugerindo resposta aos voláteis presentes no extrato da glândula da fêmea. Logo, o extrato da glândula da fêmea foi capaz de elicitar resposta olfativa superior em antena de macho quando comparado aos demais tratamentos como branco e o hexano ($P < 0,05$) (Figura 9).

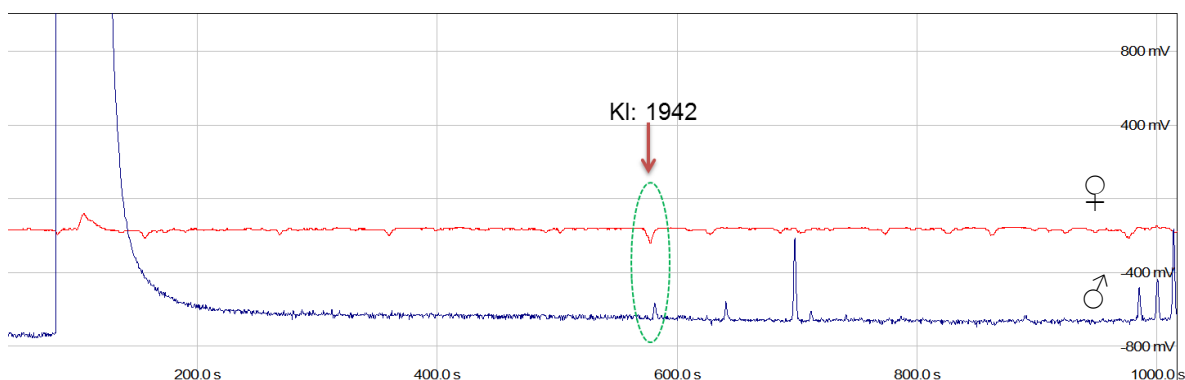
Figura 9. Intensidade da despolarização da antena de macho frente voláteis do extrato da glândula da fêmea, branco e o hexano (média $\pm$ erro).



Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

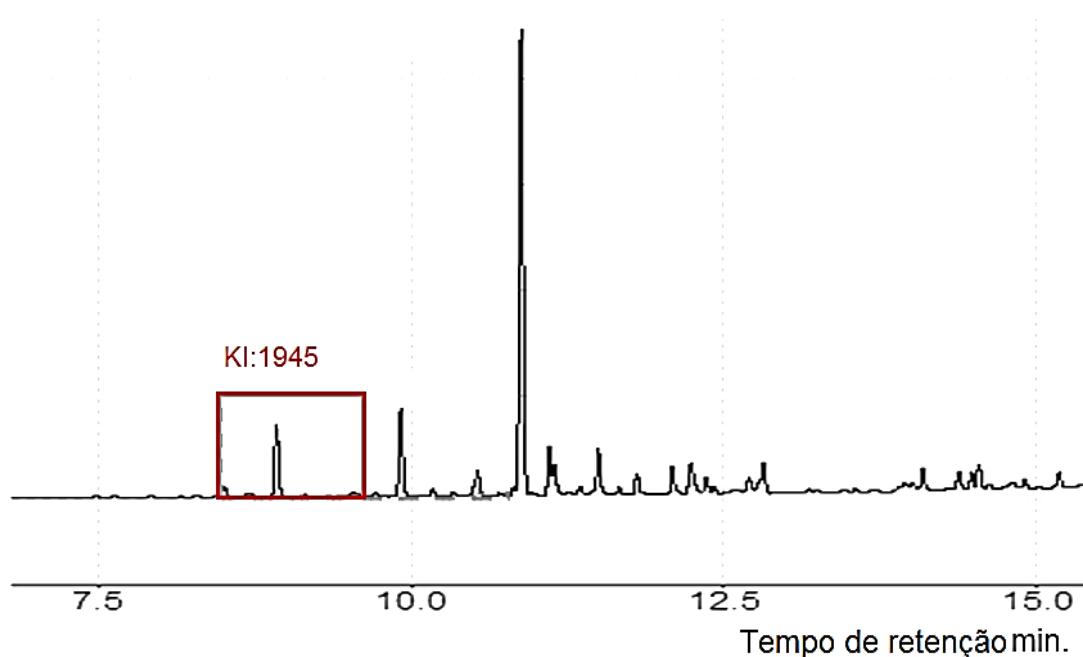
Foi verificado a princípio que extrato da fêmea demonstrou ser ativo para os machos de *A. liberia*. Logo, em análises no CGEAG foi identificado previamente um pico no extrato da fêmea que provocou a resposta (despolarização) na antena de machos virgens. O pico foi classificado como EAG-ativo com índice de kovats de 1942 conforme exposto na Figura 10.

Figura 10. Cromatograma do CGEAG do extrato da glândula sexual da fêmea (linha azul) com despolarização da antena de macho (linha vermelha).



Através do perfil cromatográfico CGDIC em coluna RTX-5 nas mesmas condições do CGEAG, foi observado que o pico sugerido como eletrofisiologicamente ativo encontra-se presente entre o tempo de retenção de 8.0 a 9.50 minutos (Figura 11).

Figura 11. Cromatograma de ionização em chama da glândula de *A. liberia*. Pico do EAG-ativo indicado de vermelho e index de kovats.



O candidato previamente sugerido por estimular resposta olfativa em antena de macho é um hidrocarboneto ramificado cuja molécula sintética ainda está na fase de síntese para confirmação da perante a atividade eletrofisiológica. Entretanto, mais picos devem ser avaliados para verificação de outros componentes ativos, mediante a realização de mais repetições no teste eletrofisiológico da antena de macho com o extrato da glândula da fêmea, a fim de verificar se a composição química presente no extrato pode ter somente um ou mais componentes ativos.

4. Discussões

Geralmente muitas mariposas expõem a glândula naturalmente durante horário de atividade sexual havendo assim a atração de machos. Desta forma, a glândula sexual passa a ter uma relação com a presença de compostos voláteis de atração sexual (ROTHSCHILD, 1981; VOGEL et al., 2010; MA E ROELOFS, 2002; RAINA et al., 2000; LI et al., 2015).

Em *A. liberia* a glândula sexual foi verificada entre o 8° e o 10° segmento abdominal, ou seja, nos segmentos finais. Logo, em muitas espécies de mariposas este órgão está localizado entre os segmentos terminais do abdômen das fêmeas, a exata localização da membrana intersegmental com região glandular pode apresentar distinção entre as espécies de mariposa fêmeas (PERCY-CUNNINGHAM E MACDONALD, 1987). A presença da região protuberante glandular pode ser indicada na parte ventral ou dorsal desse órgão sexual conforme verificado em lepidópteros como *Ostrinia nubilalis* (MA E ROELOFS, 2002) e *Yponomeuta latreille* (POVEL, 1994).

A glândula sexual da *A. liberia* aparenta uma região inflada esse característica foi verificada em outros lepidópteros como, por exemplo, a espécie *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera, Pyralidae) (MA E ROELOFS, 2002), *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) (RAINA et al., 2000), *Cameraria ohridella* (RASPOTNIG et al., 2003), *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) (SEADA et al., 2016).

O ovipositor de *A. liberia* apresenta várias estruturas longas na papila anal (vulva esclerotizada). As estruturas consistem em sensila caética e microtrichia dispersa na região ventral e dorsal. Outros lepidópteros possuem a presença dessas estruturas no ovipositor como, por exemplo, *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae) (MA et al., 2017), *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera:

Noctuidae) (SEADA et al., 2016), *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera, Pyralidae) (MA e ROELOFS, 2002). As estruturas sensilares no ovipositor geralmente possuem as funções mecanossensoriais e quimiossensoriais. Para as sensilas caéticas identificadas em *Heliothis virescens* foi sugerida a função quimiorreceptora (WIDMAYER et al., 2009) em *Bombyx mori* sugeriu-se para essas sensilas a função mecanorreceptora (YAMAOKA et al., 1971). As Microtrichia são estruturas comuns em outros lepidópteros como, por exemplo, *Holcocerus hippophaecolus* (WANG et al., 2015), *Lobesia botrana* (MAHER E THIERY, 2004).

A histologia da glândula sexual da *A. liberia* sugere a presença de células glandulares localizadas na membrana intersegmental. Essas células glandulares modificadas foram identificadas em estudos para verificação de sua presença na glândula sexual de outras espécies de mariposas como, por exemplo, *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae) (MA et al. 2017), *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera, Pyralidae) (MA E ROELOFS, 2002), *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) (RAINA et al., 2000), *Heliothis peltigera* (ALTSTEIN et al., 2003). Estudos com a glândula sexual de outros lepidópteros sugerem que a glândula é compreendida por camadas de células epidérmicas presentes na membrana intersegmental local geralmente sugerido em muitas mariposas fêmeas como responsável pela produção de feromônio que atua na atração de machos coespecíficos (NOIROT E QUENNEDEY, 1974; MA E RAMASWAMY, 2003; PERCY, 1974).

A ordem lepidoptera compreende uma diversidade de mariposas que fazem uso de substâncias químicas principalmente para comunicação sexual no encontro e localização de parceiro (a) para a cópula (ANDO E YAMAKAWA, 2011). Muitas espécies de mariposas tiveram a identificação de compostos na glândula sexual, sendo estes compostos atrativos para machos, a fêmea atua como emissor e o macho receptor do sinal químico (YAN et al., 2015; MILLAR et al., 2010; ALLISON E CARDÉ, 2016).

Em testes eletrofisiológicos muitos lepidópteros (mariposas) apresentam uma composição de moléculas voláteis capazes de elicitar resposta na antena do sexo oposto e muitas dessas substâncias são produzidas na glândula sexual de fêmeas (HE et al., 2017; MA et al., 2017; ZARBIN et al., 2007; LI et al., 2014).

Feromônio de atração sexual foram identificados para diversas mariposas e são usados com sucesso no controle comportamental seja para monitoramento da

densidade de insetos no campo ou para controle por coleta massal e/ou confundimento sexual. Empresas de âmbito nacionais e internacionais comercializam esses produtos (feromônio) para atender aos produtores no controle de pragas específicas (GOULART et al., 2015).

Os bioensaios com o extrato da glândula sexual de *A. liberia* provoca resposta olfativa em antena de macho. Neste estudo é sugerido que o extrato da glândula sexual da fêmea de *A. liberia* consegue estimular resposta olfativa em machos virgens. Em muitas mariposas fêmeas esse órgão (glândula sexual) compreende a produção e dispersão de compostos que são reconhecidos por machos (MA et al., 2017).

Houve um pico que foi sugerido como eletrofisiologicamente ativo conforme as repetições de resposta olfativa, entretanto, a síntese da molécula é necessária para comprovação e para determinação se ambos os isômeros são ativos, assim como a realização de mais bioensaios para verificação da resposta olfativa frente o material sintético e a verificação de testes eletrofisiológicos com extrato em busca de verificar se há mais de um composto ativo, pois a limitação dos bioensaios se deve ao pequeno número de insetos para essa finalidade.

5. Conclusão

Os resultados desta pesquisa apresentam impactos científicos com informações relevantes para um possível controle comportamental deste inseto em ambiente agrícola. Identificou-se a região da glândula sexual atribuída da região glandular sugerindo a presença de células glandulares. A indicação dessa região produtora contribui com a verificação de órgão produtores de moléculas odoríferas. Esses dados são fundamentais por permitir compreender que a fêmea tem o papel de emissor do sinal químico. O componente eletrofisiologicamente ativo encontra-se em análise estrutural e síntese da molécula. É necessário comprovar a estrutura da molécula por síntese e analisar a ação deste componente para definir sua função no comportamento do inseto.

6. Referências

- ALLISON, J.D.; CARDÉ, R.T. Pheromone communication in moths: evolution, behavior, and application. Univ of California Press, 2016.
- ALTSTEIN, M et al. Histochemical localization of the PBAN receptor in the pheromone gland of *Heliothis peltigera*. Peptides, v. 24, n. 9, p. 1335-1347, 2003.
- ANDO T, YAMAKAWA R. Analyses of lepidopteran sex pheromones by mass spectrometry. TrAC Trends in Analytical Chemistry, v. 30, n. 7, p. 990-1002. 2011.
- BESTMANN, H-J et al. Identification of three sex pheromone components of the female Saturniid moth *Antheraea pernyi* (Lepidoptera: Saturniidae). Zeitschrift für Naturforschung C, v. 42, n. 5, p. 631-636, 1987.
- CRUZ, C. D. Programa Genes: Aplicativo computacional em genética e estatística, 2007. 2013.
- GOULART, H.F., LIMA, M.R.F., MORAIS, R.K., Bernardo, V.B. Feromônios: uma alternativa verde para o manejo integrado de pragas. Revista Virtual de Química, 7(4), 1205-1224. 2015.
- HE, P., ZHANG, Y. F., HONG, D. Y., WANG, J., WANG, X. L., ZUO, L. H., ... & HE, M.. A reference gene set for sex pheromone biosynthesis and degradation genes from the diamondback moth, *Plutella xylostella*, based on genome and transcriptome digital gene expression analyses. BMC genomics, v. 18, n. 1, p. 219, 2017.
- JUNQUEIRA, L. C., CARNEIRO, J.. Histologia Básica. 11 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 524 p
- KRKOSOVA, Z.; KUBINEC, R.; ADDOVA, G.; JURDAKOVA, H.; BLASKO, J.; OSTROVSKY, I.; SOJAK, L., Gas chromatographic - mass spectrometric characterization of monomethylalkanes from fuel diesel, Petroleum Coal, 49, 3, 51-62. 2007.
- LI ZQ, ZHANG S, LUO JY, WANG CY, LV LM, DONG SL, & CUI JJ. Transcriptome comparison of the sex pheromone glands from two sibling *Helicoverpa* species with opposite sex pheromone components. Scientific reports, 5, 9324. 2015. DOI: 10.1038/srep09324
- MA M, CHANG MM, LU Y, LEI CL, & YANG FL. Ultrastructure of sensilla of antennae and ovipositor of *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae), and location of female sex pheromone gland. Scientific reports, 7, 40637. 2017. doi:10.1038/srep40637

- MA, P.W.K; RAMASWAMY, S.B. Biology and ultrastructure of sex pheromone-producing tissue. In: Insect pheromone biochemistry and molecular biology. p. 19-51. 2003.
- MA, P.W.K.; ROELOFS, W.L. Sex Pheromone Gland of the Female European Corn Borer Moth, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera, Pyralidae): Ultrastructural and Biochemical Evidences. Zoological Science, 19(5):501-511. 2002. [//doi.org/10.2108/zsj.19.501](https://doi.org/10.2108/zsj.19.501)
- MAHER, N. & THIERY, D. Distribution of chemo- and mechanoreceptors on the tarsi and ovipositor of female European grapevine moth, .Entomol.Exp. Appl. 110, 135–143 (2004).
- MCELFRESH, JS; MILLAR, JG. Sex attractant pheromone of saturniid moth *Coloradia velda*. Journal of chemical ecology, v. 25, n. 5, p. 1067-1078, 1999.
- MILLAR JG, MCELFRESH JS, ROMERO C, VILA M, MARÍ-MENA N, & LOPEZ-VAAMONDE C. Identification of the sex pheromone of a protected species, the Spanish moon moth *Graellsia isabellae*. Journal of chemical ecology, 36(9), 923-932. 2010. DOI 10.1007/s10886-010-9831-1
- NOIROT, C; QUENNEDEY, A. Fine structure of insect epidermal glands. Annual review of entomology, v. 19, n. 1, p. 61-80, 1974.
- OLIVEIRA, TA de et al. Validation of the sampling methodology for *Opsiphanes invirae* caterpillars on oil palm plantations in the Brazilian Amazon. Ciência Rural, v. 48, n. 7, 2018.
- PERCY-CUNNINGHAM, J. E. & MACDONALD, J. A. Biology and ultrastructure of sex pheromone-producing glands In Pheromone biochemistry. (eds Blomquist, G. J. & Prestwich, G. D.) 27–75 (Academic, 1987).
- Percy, J. E. Ultrastructure of sex-pheromone gland cells and cuticle before and during release of pheromone in female eastern spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clem.) (Lepidoptera: Tortricidae). Can. J. Zool. 52, 695–705 (1974).
- PINTO-ZEVALLOS DM, ZARBIN PHG. A química na agricultura: perspectivas para o desenvolvimento de tecnologias sustentáveis. Química Nova, v. 36, n. 10, p. 1509-1513. 2013.
- POVEL, G. D. E. Morphology of the female sex pheromone gland of *Yponomeuta latreille* (Lepidoptera: Yponomeutidae). Neth. J. Zool. 44, 77–84 (1994).

- RAINA, A. K., WERGIN, W. P., MURPHY, C. A. & ERBE, E. F. Structural organization of the sex pheromone gland in *Helicoverpa zea* in relation to pheromone production and release. *Arthropod Struct.Dev.* 29, 343–353 (2000).
- RASPOTNIG, G., SCHICHO, R., STABENTHEINER, E., MAGNES, C. & STELZL, M. Morphology of female sex pheromone gland in the horse chestnut leaf miner *Cameraria ohridella* (Lep., Gracillariidae). *J. Appl. Entomol.* 127, 121–126 (2003).
- ROTHSCHILD, G. H. L. Mating disruption of lepidopterous pests: current status and future prospects In *Management of Insect Pests with Semiochemicals* (ed. Mitchell, E. R.) 207–228, 1981.
- SCHOWALTER TD, RING DR. Biology and Management of the Buck Moth, *Hemileuca maia* (Lepidoptera: Saturniidae). *Journal of Integrated Pest Management*, v. 8, n. 1, p. 4. , 2017. <https://doi.org/10.1093/jipm/pmw017>
- SEADA, MA.; IGNELL, Ri; ANDERSON, P. Morphology and distribution of ovipositor sensilla of female cotton leaf worm *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae), and evidence for gustatory function. *Entomological Science*, v. 19, n. 1, p. 9-19, 2016.
- SPECHT A, CORSEUIL E, BENEDETTI A.J., POLETTTO G., & FORMENTINI A.C. Biological and morphological aspects of *Leucanella viridescens* (Lepidoptera: Saturniidae: Hemileucinae). *Zoologia* (Curitiba), 26(1), 25-31.2009. <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-46702009000100005>
- SPECHT A., FORMENTINI A.C., & CORSEUIL E. Biology and morphological aspects of the immature stages of *Automeris naranja* Schaus (Lepidoptera, Saturniidae, Hemileucinae). *Revista Brasileira de Zoologia*, 24(3), 523-534. 2007. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-81752007000300001>
- SPECHT A., FORMENTINI A.C., & CORSEUIL E. Biology of *Automeris illustris* (Walker) (Lepidoptera, Saturniidae, Hemileucinae). *Revista Brasileira de Zoologia*, 23(2), 537-546. 2006. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-81752006000200029>
- TINÔCO R.S. Determinação do nível de dano econômico para *Opsiphanes invirae* Hübner, 1808 (Lepidoptera: Nymphalidae) em palma de óleo. TESE. (Doutorado em Agronomia - Entomologia Agrícola). Universidade Estadual Paulista - Jaboticabal, 52 p. 2016.

- VOGEL, H., HEIDEL, A. J., HECKEL, D. G. & GROOT, A. T. Transcriptome analysis of the sex pheromone gland of the noctuid moth *Heliothis virescens*. BMC genomics 11, 1, 2010.
- WANG, R., ZHANG, L., XU, L. L., ZONG, S. X. & LUO, Y. Q. Sensilla on the Antennae and Ovipositor of the Sea Buckthorn Carpenter Moth, *Holcocerus hippophaecolus* (Lepidoptera: Cossidae). *Neotrop.Entomol.*44, 68–76 (2015).
- WIDMAYER, P., HEIFETZ, Y. & BREER, H. Expression of a pheromone receptor in ovipositor sensilla of the female moth (*Heliothis virescens*). *Insect Mol. Biol.* 18, 541–547, 2009.
- WITZGALL P, KIRSCH P, CORK A. Sex pheromones and their impact on pest management. *Journal of chemical ecology*, v. 36, n. 1, p. 80-100. 2010.
- YAMAOKA, K., HOSHINO, M. & HIRAO, T. Role of sensory hairs on the anal papillae in oviposition behaviour of *Bombyx mori*. *J. Insect Physiol.* 17, 897905–903911. 1971.
- YAN Q, KANEGAE A, MIYACHI T, NAKA H, TATSUTA H, & ANDO T. Female sex pheromones of two Japanese saturniid species, *Rhodinia fugax* and : Identification, synthesis, and field evaluation. *Journal of chemical ecology*, 41(1), 1-8. 2015. DOI 10.1007/s10886-014-0538-6
- ZARBIN, P. H., LORINI, L. M., AMBROGI, B. G., VIDAL, D. M., & LIMA, E. R. Sex pheromone of *Lonomia obliqua*: daily rhythm of production, identification, and synthesis. *Journal of chemical ecology*, v. 33, n. 3, p. 555-565, 2007.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo de identificação dos semioquímicos envolvidos na interação intraespecífica da *E. cyparissias* e *A. liberia* apresenta detalhes de órgão produtor, receptor (sensila) e as moléculas coespecíficas eletrofisiologicamente ativas para as espécies estudadas. A partir dos resultados obtidos foi sugerido para *A. liberia* que o extrato da glândula sexual da fêmea é eletrofisiologicamente ativo sendo reconhecida pela antena do macho virgem, havendo a sugestão de um pico ativo ainda em análise, sendo necessário realizar a síntese para confirmação da estrutura com sua estereoquímica e a atividade eletrofisiológica da molécula para verificação da sua função no comportamento deste inseto.

Os resultados apresentados para *E. cyparissias* demonstra a presença de uma molécula macho específico presente nas amostras da asa, bioensaios eletrofisiológicos demonstram a atividade desse componente em estimular resposta na antena da fêmea. Testes para verificação da ação do composto no comportamento do inseto são necessários para determinação de sua função como feromônio.

Esses dados fornecem informações relevantes sobre os compostos que podem ser candidatos a feromônio para futuro controle dessas pragas em ambiente agrícolas. Os resultados expostos apresentam impactos científico para conhecimento sobre o sistema olfativo do inseto importante para testes comportamentais e eletrofisiológicos, com identificação de compostos para as espécies trazendo expectativas para alternativas de controle e monitoramento com produtos biotecnológicos que podem atuar no controle dessas pragas a partir destas moléculas.

As perspectivas deste trabalho visa que é necessária a obtenção das moléculas ativas em quantidade suficiente para um estudo robusto em campo, a fim de determinar o uso destes semioquímicos no monitoramento e controle de pragas. Este estudo deve ser realizado pelo menos por 3 a 4 anos seguidos.

