

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROTEÇÃO DE PLANTAS

ARIANE MORGANA LEAL SOARES

**ECOLOGIA QUÍMICA VISANDO O MONITORAMENTO E CONTROLE DE
LEPIDÓPTEROS PRAGAS DA CULTURA DO CAJUEIRO**

Rio Largo – AL,
2019

ARIANE MORGANA LEAL SOARES

**ECOLOGIA QUÍMICA VISANDO O MONITORAMENTO E CONTROLE DE
LEPIDOPTEROS PRAGAS DA CULTURA DO CAJUEIRO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Proteção de Plantas do Centro de Ciências Agrárias da
Universidade Federal de Alagoas como requisito
parcial para obtenção do título de Doutora em Proteção
de Plantas.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart
Santana

Coorientador: Prof. Dr. Henrique Fonseca Goulart

Coorientadora: Dra. Jakeline Maria dos Santos

Rio Largo – AL,

2019

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Agrárias
Bibliotecário: Erisson Rodrigues de Santana

S676e Soares, Ariane Morgana Leal

Ecologia química visando o monitoramento e controle de lepidópteros pragas da cultura do cajueiro. Rio Largo-AL – 2019.
98 f.; il; 33 cm

Tese (Doutorado em Proteção de Plantas) - Universidade Federal de Alagoas, Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2019.

Orientador(a): Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Santana.
Coorientador: Prof. Dr. Henrique Fonseca Goulart.
Coorientadora: Dr^a. Jakeline Maria dos Santos.

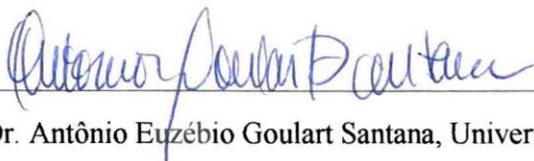
1. Cajueiro. 2. Feromônio. 3. Feromônio Sexual. 4. *Anacardium occidentale* L. Título.

CDU: 634.573

ARIANE MORGANA LEAL SOARES

**ECOLOGIA QUÍMICA VISANDO O MONITORAMENTO E CONTROLE DE
LEPIDOPTEROS PRAGAS DA CULTURA DO CAJUEIRO**

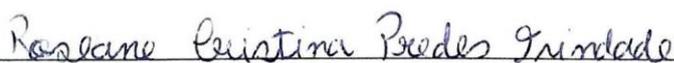
Tese submetida à banca avaliadora como
requisito para conclusão do curso de Doutorado
em Proteção de Plantas, aprovado no dia 27 de
fevereiro de 2019.



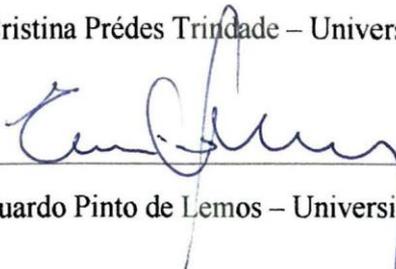
Profº Dr. Antônio Euzébio Goulart Santana, Universidade Federal de Alagoas

Orientador

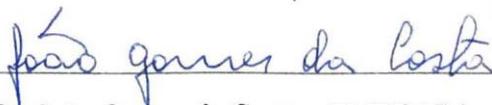
Banca Examinadora:



Profª. Drª Roseane Cristina Prêdes Trindade – Universidade Federal de Alagoas



Prof. Dr. Eurico Eduardo Pinto de Lemos – Universidade Federal de Alagoas



Dr. João Gomes da Costa – EMBRAPA - Tabuleiros Costeiros

Rio Largo - Alagoas,

2019

Aos meus pais, Anunciação de Maria Sousa Leal
Soares e Marcos Antônio Queiroz Soares.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus. Aos meus pais Anunciação de Maria Sousa Leal Soares e Marco Antônio Queiroz Soares, por apoiarem todas as minhas decisões, estarem sempre presentes, me proporcionarem todas as oportunidades que já vivi, e serem a minha razão de ser a cada dia melhor. A minha irmã Ayllana Maria Leal Soares pela convivência e paciência durante o curso, e ao meu irmão Aryell Madson Leal Soares. A toda minha família, em especial aos meus avós Antônia Faustino, Francisco Gomes, e Osmarina Queiroz.

A Kassia Pereira do Nascimento por ser presente em toda a minha jornada acadêmica e na minha vida, pelo apoio incondicional, compreensão, incentivo, atenção e companheirismo.

Ao Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Santana, ao qual tenho a honra ter sido orientada, pela dedicação e paciência na transmissão do conhecimento sobre ecologia química, por ter me dado uma oportunidade impar na minha vida, tão rica de cultura e aprendizado, ao respeito e amizade durante estes anos.

Ao meu Co-Orientador Prof. Dr. Henrique Goulart Fonseca pela orientação e apoio.

Ao Aldy por todo apoio, colaboração e amizade.

A Merybeth Fernandez Triana, Jakeline Maria dos Santos e Paulo Henrique Barcellos França, pela participação e colaboração neste projeto, pela amizade que transcende o ambiente acadêmico, pela confiança, por serem presentes na minha vida durante esses anos, gratidão a vocês.

A todos os amigos do Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais (LPqRN), pelo convívio, pelo aprendizado, por toda a colaboração durante as pesquisas, muito obrigada. Em especial a Keciane Mesquita, Isis Torres, Bruna Granja, Abel Queiroz, Jéssica Rocha e Vanderson Bernado pelas risadas e amizade, vocês tornaram essa jornada melhor. A Ellen Rebecca pela amizade, carinho e confiança, pelas palavras de apoio e aprendizado.

Aos amigos e professores do curso de pós-graduação em Proteção de Plantas do CECA-UFAL, em especial a Alisson Van Der Linden, Adso Mendes e Luan Carlos da Paz pelo companheirismo, convívio, risadas e apoio incondicional.

A todos os amigos que sempre me direcionaram mensagens de carinho e apoio, que fizeram destes anos longe de casa e de familiares mais leves.

Ao curso de Doutorado em Proteção de Plantas (CECA-UFAL) pela concessão da bolsa de estudos, estrutura para execução das pesquisas e contribuição para minha qualificação profissional.

À Capes, pela concessão de bolsa de estudos.

“Eu sou aquela mulher
a quem o tempo muito ensinou.
Ensinou a amar a vida
e não desistir da luta,
recomeçar na derrota,
renunciar a palavras
e pensamentos negativos.
Acreditar nos valores humanos
e ser otimista.”

Cora Coralina

RESUMO

O cajueiro precoce, *Anacardium occidentale*, é uma árvore frutífera tropical perene importante no Brasil. *Anthistarcha binocularis* Meyrick, 1929 (Lepidoptera: Gelechiidae), conhecida como broca-das-pontas do cajueiro e *Anacampsis phytomiella* Busck, 1914 (Lepidoptera: Gelechiidae), broca-das-castanhas, são consideradas pragas chaves desta cultura, devido aos danos diretos na diminuição da produção. Estas pragas são de difícil controle por terem hábitos endofíticos na fase de lagarta, usando isso como proteção. Em função da pouca informação disponível sobre as pragas, métodos de controle ineficientes, e visando entender os hábitos comportamentais de atividade atrativa sexual, os objetivos deste trabalho foi descrever e caracterizar o ciclo de vida e as injúrias causadas por *A. binocularis*, analisar o comportamento sexual, identificar as sensilas presentes nas antenas dos insetos machos e identificar a composição do feromônio sexual de fêmeas de *A. binocularis* e *A. phytomiella*. As larvas e pupas das pragas foram coletadas em cultivo de caju na cidade de Boca da Mata, Alagoas, Brasil (9 ° 39'39,3 "S 36 ° 11'52,7" W) entre março e maio, e entre setembro e novembro de 2015/16, e na cidade de Picos, Piauí, Brasil (07°04'37" S 41° 28'01"W) no mês de Julho de 2016. As observações sobre os parâmetros biológicos do ciclo de vida, comportamento reprodutivo, extração de glândulas, análises, identificação, sínteses e testes de bioatividade por eletroantenografia foram realizadas no Laboratório de Pesquisa em Ecologia Química da Universidade Federal de Alagoas e o teste de campo realizado no Piauí. Os extratos de glândulas sexuais foram analisados por CG/DIC, cromatograma acoplada ao espectrômetro de massas (CG/EM), e os resultados analisados por Índice de Kovats, fragmentações, comparações com bases de dados e confirmações através de síntese. O ciclo de vida de *A. binocularis* em condições de laboratório foi de 54 dias, o período de atração começa perto da quinta hora da escotofase e o acasalamento tem duração de 2h e 30min a 3h e 40min. Foi observado a presença das sensilas tricoide, auricílica, coelocônica, esquamiforme e caética nas antenas de machos de *A. binocularis*. O feromônio sexual de *A. binocularis* foi identificado como uma mistura do álcool (*E*)-6-dodecenol e do derivado acetado de (*E*)-6-dodecenila, com atratividade biológica comprovada em campo. O comportamento sexual de *A. phytomiella* tem início na sétima hora da escotofase e cópula com duração de uma hora e quarenta minutos e observados os mesmos tipos de sensilas presentes em *A. binocularis* com exceção do tipo auricílica. Propomos que os componentes do feromônio sexual de *A. phytomiella* sejam os acetatos: acetado de decila, acetato de 7-decenila e acetato de 7,9-decadienila. Para confirmações dos compostos será necessária a síntese e estudos de derivatizações das moléculas. As informações sobre a biologia, os hábitos e o comportamento reprodutivo, bem como a identificação do feromônio sexual das pragas em estudo podem ser empregadas para ajustar os atuais programas de manejo integrado de pragas na cultura do cajueiro anão precoce.

Palavras chave: cajueiro, *Anacardium occidentale*, feromônio, *A. binocularis*, *A. phytomiella*, feromônio sexual, gelechiidae.

ABSTRACT

Early dwarf cashew is a locally important perennial plant in Brazil. *Anthistarcha binocularis* Meyrick, 1929 (Lepidoptera: Gelechiidae), known as inflorescence borer and *Anacamptis phytomiella* Busck, 1914 (Lepidoptera: Gelechiidae), cashew nut borer, are considered to be key pests of cashew crop due to damage production. These pests are difficult to control because they have endophytic habits in the caterpillar phase, using this as protection. The objective of this work was to describe and characterize the life cycle and the injuries caused by *A. binocularis*, to analyze the behavior to identify the sensilla present in the antennae of the male insects and to identify the composition of the sexual pheromone of *A. binocularis* and *A. phytomiella* females. The observations on the biological parameters of the life cycle, reproductive behavior, gland extraction, analysis, identification, synthesis and bio-activity tests by electroantennography were carried out at the Chemical Ecology Research Laboratory of the Federal University of Alagoas and the field test carried out in the Piauí. The extracts of sex glands were analyzed by GC/DIC, chromatogram coupled to the mass spectrometer (GC/MS), and the results were analyzed by Kovats index, fragmentation, comparisons with databases and confirmations by synthesis. The life cycle of *A. binocularis* under laboratory conditions was 54 days, the attraction period begins near the fifth hour of the escotophase and the mating lasts for 2h and 30min to 3h and 40min. It was observed the presence of tricoid, auriclic, coeloconic, squamiform and caetic sensilla in the antennae of *A. binocularis* males. The sexual pheromone of *A. binocularis* was identified as a mixture of (*E*)-6-dodecenol alcohol and the (*E*)-6-dodecenyl acetate derivative with field proven biological attractiveness. The sexual behavior of *A. phytomiella* occurs at the seventh hour of the vestophase and intercourse lasting one hour and forty minutes and the same types of sensilla present in *A. binocularis* except for the auricle type are observed. We propose that the components of the sexual pheromone of *A. phytomiella* are the acetates: decil acetate, 7-decenyl acetate and 7,9-decadienyl acetate. For confirmation of the compounds will be necessary the synthesis and studies of derivatizations of the molecules. Information on the biology, habits and reproductive behavior, as well as the identification of the sexual pheromone of the studied pest can be used to adjust the current programs of integrated pest management in the culture of the precocious dwarf cashew tree.

Keywords: cashew, *Anacardium occidentale*, pheromone, *A. binocularis*, *A. phytomiella*, sex pheromone, gelechiidae.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Broca da castanha, <i>Ancampsis phytomiella</i> Busck, 1914 (a*), e castanhas de caju apresentando a injúria de saída feita pela praga (b).....	20
Figura 2 – Broca-das-pontas, <i>Anthistarcha binocularis</i> Meyrick, 1929 (A*), inflorescência sadia (B), orifício de entrada e saída do inseto no ramo floral (C), injúria típica provocada pela praga (D).....	21
Figura 3 – Estrutura química do feromônio sexual de <i>Bombyx mori</i> (E10Z12-16:OH; bombykol) (BUTENANDT et al., 1959).....	24
Figura 4 – Fase larval de <i>Anthistarcha binocularis</i> em inflorescência de caju em laboratório.	34
Figura 5 – Pupa de <i>Anthistarcha binocularis</i> em ramo de inflorescência de cajueiro, com criação em laboratório, e indicação do orifício de saída do inseto adulto.....	35
Figura 6 – a) Gaiola utilizada para bioensaio de atratividade, b) Câmara utilizada para observação do comportamento sexual de <i>Anthistarcha binocularis</i> em laboratório.....	37
Figura 7 – Injúrias em ramos florais de caju anão precoce causadas por broca das pontas. a) ramo sadio; b) lagarta perfurando ramo; c) orifício causado pelo inseto no ramo; d) lagarta dentro do ramo; e) ramo floral totalmente seco.....	39
Figura 8 – Morfologia do ovo de <i>Anthistarcha binocularis</i> Meyrick, 1929, em ramos de inflorescência (a) e caracterização da morfologia externa do ovo por microscopia eletrônica de varredura (b).	40
Figura 9 – Diferentes estádios de desenvolvimento de lagartas de <i>Anthistarcha binocularis</i> Meyrick, 1929. a) lagarta de primeiro ínstar em botões florais; b) lagarta de último ínstar em ramo floral.	40
Figura 10 – Pupas de <i>Anthistarcha binocularis</i> Meyrick, 1929, com representação das características utilizadas para diferenciar machos e fêmeas. a) indicação para estrutura de diferenciação morfológica e b) ampliação em vista frontal.	41
Figura 11 – Características morfológicas da asa posterior de cor cinza com pontuações pretas, e asa posterior com borda franjada de <i>Anthistarcha binocularis</i> Meyrick, 1929 (Lepidoptera: Gelechiidae).....	43
Figura 12 – Características morfológicas e dimorfismo sexual, com ênfase as na modificação morfológica entre fêmeas e machos adultos na porção final do abdome de <i>Anthistarcha binocularis</i> Meyrick, 1929 (Lepidoptera: Gelechiidae).	43
Figura 13 – Esquema demonstrativo do comportamento sexual de <i>A. binocularis</i> durante a escotofase, período de maior atividade.....	44
Figura 14 – Etograma representativo do comportamento sexual de <i>Anthistarcha binocularis</i> Meyrick, 1929 em condições de laboratório. Etapa 1: Exposição da glândula feromonal pela fêmea e reconhecimento de sinais olfativos pelos machos; Etapa 2: Vôo do macho em direção à fêmea; Etapa 3: Tentativas de cópula; Etapa 4: Cópula.	45
Figura 15 – Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da antena de <i>Anthistarcha binocularis</i>	47
Figura 16 – Microscopia eletrônica de varredura (MEV) de sensilas dos tipos tricoide (Tc I, Tc II), auricúlica (Au) (A); coelocônica (Co) (B); esquamiforme (Sq) (C) e caética (Ct I e Ct II) (D) em <i>Anthistarcha binocularis</i> Meyrick, 1929 (Lepidoptera: Gelechiidae).	47
Figura 17 - Arena utilizada para observações de atratividade sexual de <i>Anthistarcha binocularis</i>	59

Figura 18 - Representação simplificada de processos para identificação do feromônio sexual de <i>Anthistarcha binocularis</i> Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae).....	62
Figura 19 - Confirmação de atratividade sexual de machos por feromônio produzido e liberado por fêmea de <i>Anthistarcha binocularis</i> , Meyrick, 1929 em teste experimental em laboratório.	63
Figura 20 - Cromatograma de íons totais do extrato da glândula sexual de <i>Anthistarcha binocularis</i> Meyrick, 1929.	64
Figura 21 - Cromatogramas dos padrões sintéticos ¹ dos compostos não ativos em eletroantenografia presentes no extrato de <i>Anthistarcha binocularis</i> Meyrick, 1929 com tempos de retenção.	65
Figura 22 - Estrutura molecular dos compostos saturados presentes no extrato de glândula de <i>Anthistarcha binocularis</i> Meyrick, 1929.	65
Figura 23 - Derivatização de compostos insaturados presentes na glândula sexual de <i>Anthistarcha binocularis</i> Meyrick, 1929 e espectro de massas do 6-dodecenol derivatizado.	66
Figura 24 - Espectro de massas e estrutura molecular do 6-dodecenol.	66
Figura 25 - Derivatização de compostos insaturados presentes na glândula sexual de <i>Anthistarcha binocularis</i> Meyrick, 1929 e espectro de massas do acetato de 6-dodecenila derivatizado.	67
Figura 26 - Espectro de massas e estrutura molecular do acetato de 6-dodecenila.	67
Figura 27 - Cromatogramas dos padrões sintéticos ¹ dos compostos (1) Z6-12: OH, (2) Z6-12: OAc, (1) E6-12: OH, (2) E6-12: OAc e extrato da glândula de <i>Anthistarcha binocularis</i> Meyrick, 1929.	68
Figura 28 - Respostas eletroantenográficas da antena de machos de <i>Anthistarcha binocularis</i> quando expostas a extratos de glândulas de feromônio de fêmeas (a) e misturas químicas sintéticas de componentes de feromônio (b, c). GC – EAD equipado com capilar coluna Rtx-5 (FID).	69
Figura 29 - Respostas eletroantenogênicas médias (EAG) (\pm EP) de antenas de machos de <i>Anthistarcha binocularis</i> a álcool e acetato sintético em ambas as configurações de ligação dupla (0,5 μ g EO) e hexano como controle. Médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes (teste de Tukey, P <0,05).	70
Figura 30 - Número de mariposas machos capturadas usando três misturas diferentes. As barras mostram os valores médios, enquanto os Traços mostram o erro padrão.	71
Figura 31 - Modelo linear generalizado (GLM) mostrando o aumento de capturas de traças masculinas com o aumento da dosagem da mistura EOH / EOAc. O modelo assume uma distribuição de probabilidade de Poisson.	72
Figura 32 – Castanhas de caju com injúria causada por <i>Anacamptis phytomiella</i> Busck (1914) (a) e ampliação da imagem com a presença da lagarta (b).	81
Figura 33 – Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da antena de <i>Anacamptis phytomiella</i> Busck, 1914 (Lepidoptera: Gelechiidae).	87
Figura 34 – Microscopia eletrônica de varredura (MEV) de sensilas dos tipos tricoide (Tc I (A), Tc II) (A, B), coelocônica (Co), esquamiforme (Sq) e caética (Ct I e Ct II) (A) presentes nas antenas de <i>Anacamptis phytomiella</i> Busck, 1914 (Lepidoptera: Gelechiidae).	87
Figura 35 – Íonograma do extrato da glândula sexual de fêmeas de <i>A. phytomiella</i> , coletadas no município de Boca da Mata, Alagoas.	88
Figura 36 - Cromatograma gasoso acoplada ao eletroantenógrafo da antena de machos de <i>Anacamptis phytomiella</i> quando expostas a extratos de glândulas de feromônio de fêmeas.	89

Figura 37 – Cromatograma CG-DIC com método utilizado no CG-EAD para identificar a região dos compostos com resposta de antenas de machos a extrato de glândulas sexuais de fêmeas de <i>Anacampsis phytomiella</i> , de acordo com a figura 36.	89
Figura 38 – Ampliação do perfil cromatográfico de íons totais (CG/EM) na região que apresenta resposta eletroantenográficas em <i>Anacampsis phytomiella</i> , Busck, 1914, de acordo com a figura 36.	90
Figura 39 - Estrutura molecular dos compostos eletrofisiologicamente ativos presentes no extrato de glândula de <i>Anacampsis phytomiella</i> , Busck, 1914, de acordo com a ordem da figura 36.	90

LISTA DE TABELA

Tabela 1 – Principais pragas do cajueiro de acordo com a parte da planta atacada, adaptado de Mesquita; Dias-Pini; Braga Sobrinho (2016).	19
Tabela 2 – Médias de peso, comprimento, largura, duração do período de pupa de <i>Anthistarcha binocularis</i> Meyrick, 1929, em clone de caju anão precoce.	42
Tabela 3 – Média e erro padrão da média (EP) do comprimento e largura basal das sensilas presente nas antenas de machos de <i>Anthistarcha binocularis</i> Meyrick, 1929 (Lepidoptera: Gelechiidae).	46
Tabela 4 - Composição química dos compostos saturados, presentes no extrato da glândula sexual de <i>Anthistarcha binocularis</i> Meyrick, 1929 coletadas nos estados de Alagoas e Piauí.	64
Tabela 5 – Características químicas dos compostos (1) Z6-12: OH, (2) Z6-12: OAc, (1) E6-12: OH, (2) E6-12: OAc, presentes no extrato da glândula sexual de <i>Anthistarcha binocularis</i> Meyrick, 1929 coletadas nos estados de Alagoas e Piauí.	68
Tabela 6 - Teste Z post-hoc para o modelo linear generalizado (glm) referente aos efeitos do tipo de mistura (EOH / EOAc, ZOH / ZOAc e o controle com hexano) e dose de mistura (100 e 250 µg) no número de traças masculinas capturadas. O modelo assume uma distribuição de probabilidade de Poisson.	71
Tabela 7 - Quadro adaptado da sequência de comportamentos de pré-cópula e cópula de <i>Anacamptis phytomiella</i> Busck (1914).	85
Tabela 8 – Média e erro padrão da média (EP) do comprimento e largura basal das sensilas presentes nas antenas de machos de <i>Anacamptis phytomiella</i> Busck, 1914 (Lepidoptera: Gelechiidae).	86
Tabela 9 - Tempo de retenção, Índice de Kovats ¹ e nomenclaturas dos compostos presentes nas glândulas sexuais de fêmeas de <i>A. phytomiella</i> , de acordo com a Figura 30.	88

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	15
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1	Aspectos gerais da cajucultura	17
2.2	Insetos associados à cultura do cajueiro	18
2.3	Métodos de controle de <i>Anthistarcha binocularis</i> e <i>Anacamptis phytomiella</i> na cultura do cajueiro	22
2.4	Controle comportamental utilizando feromônio para a família Gelechiidae	23
	REFERÊNCIAS	26
3	ASPECTOS BIOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS DE <i>Anthistarcha binocularis</i> MEYRICK, 1929 (LEPIDOPTERA: GELECHIIDAE) EM INFLORESCÊNCIA DE CAJUEIRO ANÃO PRECOCE	30
3.1	INTRODUÇÃO	31
3.2	MATERIAL E MÉTODOS	33
3.2.1	Obtenção dos insetos e inflorescências	33
3.2.2	Caracterização das injúrias	33
3.2.3	Parâmetros biológicos de <i>Anthistarcha binocularis</i> em laboratório	33
3.2.3.1	Aspectos biológicos, e descrições morfológicas e morfométricas	33
3.2.4	Análise dos resultados	36
3.2.5	Comportamento sexual de <i>Anthistarcha binocularis</i> em laboratório	36
3.2.6	Identificação das sensilas presentes nas antenas de machos de <i>A. binocularis</i>	37
3.2	RESULTADOS	38
3.3.1	Caracterização das injúrias	38
3.3.2	Parâmetros biológicos de <i>Anthistarcha binocularis</i> em laboratório	39
3.3.3	Aspectos biológicos e descrições morfológicas e morfométricas	39
3.3.4	Comportamento sexual de <i>Anthistarcha binocularis</i> em laboratório	43
3.3.5	Identificação das sensilas presentes nas antenas de machos de <i>A. binocularis</i>	46
3.4	DISCUSSÃO	48
3.5	CONCLUSÃO	51
	REFERÊNCIAS	52
4	IDENTIFICAÇÃO DO FEROMÔNIO SEXUAL DE FÊMEAS DE BROCA DAS PONTAS DO CAJUEIRO <i>Anthistarcha binocularis</i> MEYRICK, 1929	55
4.1	INTRODUÇÃO	56
4.2	MATERIAL E MÉTODOS	58
4.2.1	Coleta e criação dos Insetos	58
4.2.2	Teste de atratividade sexual	58

4.2.3	Extração do feromônio sexual	59
4.2.4	Análises químicas	60
4.2.4.1	CG/EM e CG/DIC	60
4.2.4.2	Sínteses	61
4.2.5	Análises eletroantegráficas	61
4.2.6	Teste de atratividade em campo.....	62
4.3	RESULTADOS	63
4.3.1	Teste de atratividade sexual	63
4.3.2	Identificação do feromônio sexual de <i>Anthistarcha binocularis</i>	64
4.3.3	Análises Eletroantegráficas (CG-EAD).....	69
4.3.4	Teste de atratividade em campo.....	70
4.4	DISCUSSÃO	72
4.5	CONCLUSÃO	74
	REFERÊNCIAS	75
5	COMPORTAMENTO SEXUAL E IDENTIFICAÇÃO DO FEROMÔNIO DA BROCA-DAS-CASTANHAS <i>Anacampsis phytomiella</i> BUSK, 1914	78
5.1	INTRODUÇÃO	79
5.2	MATERIAL E MÉTODOS	81
5.2.1	Coleta e manutenção dos insetos	81
5.2.2	Comportamento de acasalamento	82
5.2.3	Identificação das sensilas presentes nas antenas de machos de <i>Anacampsis phytomiella</i>	82
5.2.4	Extração do feromônio sexual	83
5.2.5	Análises eletroantegráficas (CG-EAD).....	83
5.2.6	Análises químicas, CG/EM e CG/DIC	84
5.3	RESULTADOS	84
5.3.1	Comportamento de acasalamento	84
5.3.2	Identificação das sensilas presentes nas antenas de machos de <i>Anacampsis phytomiella</i>	86
5.3.3	Análises químicas dos extratos sexuais de <i>Anacampsis phytomiella</i>	88
5.3.4	Análises eletroantegráficas (CG-EAD).....	89
5.4	DISCUSSÃO	91
5.5	CONCLUSÃO	93
	REFERÊNCIAS	94
	APÊNDICES	97
	ANEXO	98

1 INTRODUÇÃO GERAL

De acordo com dados da FAO (2018), 198 países produzem castanha de caju, dentre os quais sobressaem os países asiáticos e africanos como, Vietnã, Índia, Nigéria e Costa do Marfim que foram os principais produtores mundiais de castanha-de-caju em 2016, com 70,6% da produção global do produto. Esta cultura é expressiva no Nordeste brasileiro com uma área plantada de cerca de 660 mil ha. Na safra 2017 o Brasil teve uma produção de 134.580 mil toneladas de castanha-de-caju, liderada pelos estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte, que juntos produziram 122 mil toneladas (IBGE, 2018).

A cajucultura é um importante negócio agrícola no Nordeste brasileiro e tem como principal produto a amêndoa da castanha de caju (ACC), sendo esta, uma das mais comercializadas no mercado mundial de nozes comestíveis (CAVALCANTE JÚNIOR, 2013). Além da ACC, o cajueiro tem como outros produtos de importância econômica como o líquido da casca da castanha (LCC) e o pedúnculo (pseudofruto comestível) (CONAB, 2017).

Os países produtores de caju enfrentam o desafio de controlar os danos causados por mais de 190 espécies de insetos que interferem na sua produção. A perda significativa de rendimento resulta de danos na folhagem e nos frutos, levando a morte das brotações florais e ao abortamento precoce de frutos jovens (DENDENA; CORSI, 2014).

Dentre as principais pragas que atacam o cajueiro no Brasil destacam-se a broca-das-pontas, *Anthistarcha binocularis* Meyrick, 1929 (Lepidoptera: Gelechiidae), que inviabiliza a frutificação de ramos florais, pois o dano causado é devido ao impedimento da passagem de seiva para inflorescência ocasionando sua morte e não frutificação do ramo e, a traça-da-castanha, *Anacampis phytomiella* Busck, 1914 (Lepidoptera: Gelechiidae), que se alimenta da amêndoa da castanha de caju inviabilizando sua comercialização. Essas espécies podem ser consideradas pragas-chave da cultura do caju, por prejudicarem economicamente a produção e comercialização como consequência dos danos diretos e indiretos causados à cultura (MESQUITA; BRAGA SOBRINHO, 2013).

São poucas as estratégias disponíveis aos produtores de caju para o controle de broca-das-pontas e broca-das-castanhas. Para *A. phytomiella* não há nenhum registro de produto fitossanitário junto ao Ministério da Agricultura, já para *A. binocularis* tem-se um produto inseticida Deltametrina pertencente ao grupo químico dos piretroides, produto com alta toxicidade ao homem e ao meio ambiente (AGROFIT, 2019).

Por terem hábitos alimentares endofíticos e o cajueiro ser uma planta perene, existe a dificuldade de atingir esses insetos com produtos que necessitem de pulverizações. Dentre os

métodos de controle que podem ser empregados junto ao Manejo Integrado de Pragas (MIP) do cajueiro, tem-se o controle comportamental de pragas através do uso de feromônios que pode ser uma estratégia promissora para o monitoramento e controle dessas pragas.

Como também o comportamento sexual em mariposas nos direciona a entender quais os sinais e de que forma é estabelecida a comunicação entre machos e fêmeas da espécie. A comunicação sexual em lepidópteros envolve uso de sinais visuais, acústicos e olfativos. Em mariposas noturnas, há a sinalização química, através da produção de feromônios de fêmeas, sendo crucial para detecção e localização de parceiros (DELLE-VEDOVE et al., 2014).

A utilização de substâncias químicas intraespecíficas para modificação de comportamento e ações de insetos pragas em cultivos agrícolas é uma ferramenta ecológica para controle ou monitoramento destes insetos. Pela especificidade de ação, o uso de feromônio não agride o ambiente, nem insetos polinizadores e não causa toxicidade a seres humanos. No Brasil 103 espécies de insetos já foram objeto de estudo na pesquisa com feromônios. No mercado brasileiro, existem 47 produtos de feromônios comercializados para o controle de 25 insetos pragas (GOULART et al., 2015).

Grande parte das pesquisas envolvendo feromônios sexuais no mundo são de lepidópteros principalmente de insetos que possuam alguma importância econômica. E, em sua maioria, são resultados de misturas de compostos ativos em diferentes proporções (LEY, VICKERS, 2008).

A família Gelechiidae, que engloba *A. binocularis* e *A. phytomiella*, possui mais de 4.500 espécies distribuídas em 500 gêneros (HODGES, 1999). De acordo com El-Sayed (2018), feromônios sexuais já foram descritos em mais de 70 espécies de 40 gêneros dessa família e caracterizam-se geralmente como acetatos mono ou poli-insaturados com 10 a 18 átomos de carbono.

Em função da pouca informação disponível sobre a biologia destas pragas, de métodos de controle ineficientes, e visando entender os hábitos comportamentais de atividade atrativa sexual, o objetivo deste trabalho foi descrever e caracterizar o ciclo de vida e as injúrias causadas por *A. binocularis*, analisar o comportamento sexual e identificar a composição do feromônio sexual de fêmeas de *A. binocularis* e *A. phytomiella*.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aspectos gerais da cajucultura

De acordo com a FAO (2018), 198 países produzem castanha de caju, sendo Vietnã, Nigéria, Índia e Costa do Marfim foram os maiores produtores mundiais de castanha-de-caju em 2016, com 70,6% da produção global do produto. Estima-se que a cajucultura mundial ocupe uma área de 3,39 milhões de hectares, com uma produção de 3,1 milhões de toneladas por ano.

O cajueiro, *Anacardium occidentale* L., é a única espécie do gênero amplamente distribuída em todo o território brasileiro e tem como centro de origem a região amazônica de acordo com Santos-Serejo et al. (2009). Foi na região nordeste que encontrou as melhores condições de adaptabilidade e é onde se encontra a maior diversidade da espécie cultivada, apresentando a maior produção por área, tornando assim a cultura do caju uma atividade agrícola economicamente ativa. A região nordeste é influenciada com variações climáticas constantes, o que confirma a ampla adaptação da espécie em diferentes regiões (SOUSA et al., 2007).

A cultura é expressiva no nordeste brasileiro com uma área plantada de cerca de 660 mil ha, correspondendo a 95% da área total de produção no país. Na safra 2017 o Brasil obteve uma produção de 134.580 mil toneladas de castanha-de-caju, liderada pelos estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte que juntos produziram 122 mil toneladas. Além da região Nordeste, apenas o Pará, na região Norte, tem papel relevante na produção de castanha do país (IBGE, 2018).

O cajueiro tem como principal produto a amêndoa da castanha de caju (ACC), sendo esta, uma das mais comercializadas no mercado mundial de nozes comestíveis. Além da amêndoa, o cajueiro tem como produtos de importância econômica o líquido da casca da castanha (LCC) e o pedúnculo (pseudofruto comestível) (CONAB, 2017).

Existem de 30 a 40 possibilidades industriais com tecnologias já disponíveis para processamento do caju. Além da ACC, também são comercializados o LCC para a indústria química e o pedúnculo com o potencial mais expressivo em opções de comercialização “*in natura*”, e processado, como o suco concentrado e/ou pronto para beber, polpa congelada, geleia, doce, cajuína, bebida alcoólica. Além de poder ser usada como ingrediente para ração animal (CAVALCANTI; BARROS, 2009). Entretanto, estima-se que mais de 90% do pedúnculo é desperdiçado, ou seja, é um subproduto pouco aproveitado comparando-se a

produção de ACC e LCC, que são os produtos mais comercializados da cultura (SOUZA FILHO et al., 2010).

Na segunda metade do século XX no nordeste brasileiro foram implantadas grandes áreas com o cajueiro, sem grande preocupação com práticas sustentáveis, o que culminou em baixa produtividade e qualidade das castanhas e no abandono de pomares. Nessas áreas, praticamente não se aproveitava o pedúnculo como uma fonte importante para a indústria de sucos. As extensas áreas de cultivo com o cajueiro-comum, oriundos de sementes (pé-franco) e com grande variabilidade genética (VIDAL NETO et al., 2013) aliadas ao modelo extrativista adotado pelos produtores permitiram a proliferação de doenças e pragas, e até hoje se constituem fonte de inóculo de fitopatógenos e de pragas.

A partir da década de 1980, a pesquisa disponibilizou materiais clonados de cajueiro com maior eficiência produtiva (PAIVA et al., 2008), destacando-se os denominados de clones de cajueiro-anão (VIDAL NETO et al., 2013). No Ceará, maior produtor nacional de castanha, por exemplo, os clones de cajueiro-anão respondem por aproximadamente 50% da produção, mesmo ocupando apenas 28% da área cultivada com cajueiros (IBGE, 2018). Atualmente, em algumas regiões, com a adoção de novas tecnologias de manejo e o uso de clones de cajueiro-anão, observa-se uma melhoria de qualidade em relação à produtividade de castanha e de pedúnculo, tendo este último valor agregado como produto comercial.

Considerando a arquitetura das plantas de cajueiro-anão e sua elevada produtividade, muitos agricultores têm sido incentivados a erradicar pomares antigos com cajueiro comum e introduzir clones potencialmente mais produtivos que estes. Mesmo com a introdução de clones melhorados, as questões fitossanitárias continuam sendo extremamente significativas para o sistema de produção do cajueiro (CARDOSO et al., 2013). Casos de infecções por patógenos e ataques de pragas têm sido considerados como um grande desafio para a cajucultura, em face dos danos que provocam.

2.2 Insetos associados à cultura do cajueiro

Diversas são as pragas que se utilizam de alguma etapa fenológica do cajueiro para alimentação. Na Tabela 1 têm-se uma lista de insetos pragas de acordo com a parte atacada: ramos ponteiros e inflorescências, frutos e pseudofrutos, folhas, caule e raiz da planta.

Tabela 1 – Principais pragas do cajueiro de acordo com a parte da planta atacada, adaptado de Mesquita; Dias-Pini; Braga Sobrinho (2016).

Parte atacada	Pragas
Ramos ponteiros e inflorescências	Broca-das-pontas, <i>Anthistarcha binocularis</i> Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae)
	Pulgão-das-inflorescências, <i>Aphis gossypii</i> Glover (Hemiptera: Aphididae)
Frutos (castanhas) e pseudofrutos (pedúnculos)	Traça-da-castanha, <i>Anacampsis phytomiella</i> Busck (Lepidoptera: Gelechiidae)
	Percevejos dos frutos: <i>Sphictyrtus chryseis</i> Lichtenstein (Hemiptera: Coreidae) <i>Crinocerus sanctus</i> Fabricius (Hemiptera: Coreidae) <i>Theognis (=Leptoglossus) stigma</i> Herbst, (Hemiptera: Coreidae)
	Moscas das frutas: <i>Anastrepha fraterculus</i> Wiedemann (Diptera: Tephritidae); <i>Anastrepha obliqua</i> Macquart (Diptera: Tephritidae); <i>Neosilba cornuphallus</i> Strikis (Diptera: Lonchaeidae)
Folhas	Tripes-da-cinta-vermelha, <i>Selenothrips rubrocinctus</i> Giard (Thysanoptera: Thripidae); <i>Holopotripes fulvus</i> Morgan (Thysanoptera: Phlaeothripidae)
	Mosca-branca, <i>Aleurodicus cocois</i> (Hemiptera: Aleyrodidae)
	Minador-da-folha, <i>Phyllocnistis sp.</i> (Lepidoptera: Gracillariidae)
Lagartas e outros desfolhadores	Lagarta véu-de-noiva, <i>Thagona postropaea</i> (Lepidoptera: Lymantriidae)
	Lagarta-de-fogo, <i>Megalopyge lanata</i> Stoll - Cramer (Lepidoptera: Megalopygidae)
	Lagarta-saia-justa, <i>Cicinnus callipius</i> Sch. (Lepidoptera: Mimallonidae)
	Besouro-vermelho-do-cajueiro, <i>Crimissa cruralis</i> Stal (Coleoptera: Chrysomelidae)
	Escaravelho ou besouro-dos-ponteiros, <i>Hilarianus sp.</i> (Coleoptera: Scarabaeidae).
	Díptero-das-galhas ou verruga-das-folhas, <i>Stenodiplosis sp.</i> = <i>Contarinia sp.</i> (Diptera: Cecidomyiidae)
Larva-do-broto-terminal, <i>Stenodiplosis sp.</i> = <i>Contarinia sp.</i> (Diptera: Cecidomyiidae)	
Raízes e troncos	Brocas da raiz e tronco do cajueiro, <i>Marshallius bondari</i> Lima, e <i>M. anarcardii</i> Rosado Neto, (Coleoptera: Curculionidae)

Dentre as principais pragas que atacam o cajueiro destaca-se a traça-da-castanha, *A. phytomiella* Busck, 1914 (Lepidoptera: Gelechiidae), que se alimenta da amêndoa da castanha de caju inviabilizando sua comercialização, e a broca-das-pontas, *A. binocularis* Meyrick, 1929 (Lepidoptera: Gelechiidae), que inviabiliza a frutificação de ramos florais, pois o dano causado é devido ao impedimento da passagem de seiva para inflorescência ocasionando sua morte e não frutificação do ramo. Essas espécies podem ser consideradas pragas-chave da cultura do caju, por prejudicarem economicamente a produção e comercialização como consequência dos danos diretos e indiretos causados à cultura (MESQUITA; BRAGA SOBRINHO, 2013).

A traça-da-castanha, *A. phytomiella* foi descrita causando dano a produção de caju pela primeira vez em 1982, no Estado do Ceará (Mesquita et al., 1998). Tem como único hospedeiro o cajueiro, sendo considerada a principal praga dos frutos, uma vez que a lagarta se alimenta da amêndoa, tornando-a imprestável para a comercialização. Antes do período de pré-pupa as lagartas, constroem um pequeno orifício circular na extremidade distal da castanha por onde sairá o adulto. Esta é a principal característica da injúria ocasionada pelo ataque da praga em campo, conhecido como “castanha furada” (Figura 1) (MESQUITA; SILVA; SOBRINHO, 1999; MELO, BLEICHER, 2002).

Outro comportamento alimentar descrito para lagartas de *A. phytomiella* é o broqueamento em ramos ponteiros de brotações novas, antes do período de frutificação do cajueiro (MESQUITA et al., 2008). Porém, não há relatos na literatura sobre o ciclo de vida desta praga. Por esses motivos, este inseto é considerado praga-chave do período de frutificação do cajueiro.

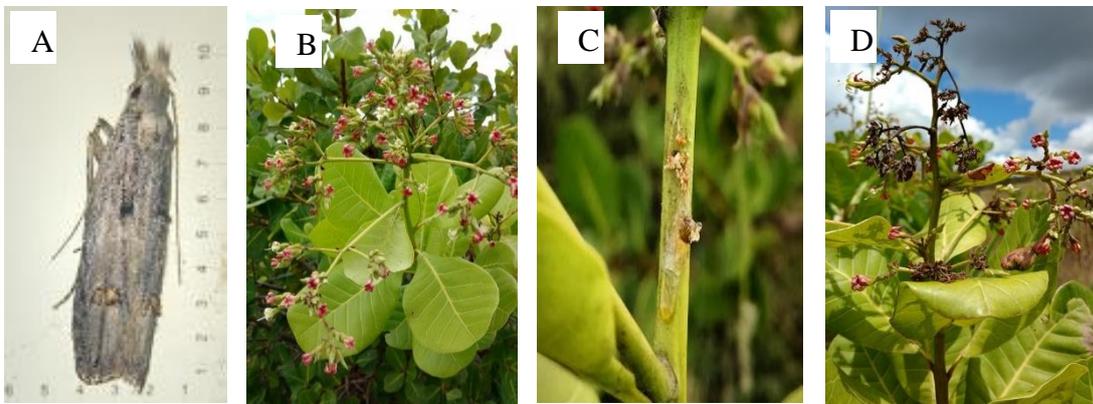
Figura 1 – Broca da castanha, *Ancampsis phytomiella* Busck, 1914 (a*), e castanhas de caju apresentando a injúria de saída feita pela praga (b).



Fonte: Autor (2019).(a*) escala em milímetros (mm).

A broca-das-pontas do cajueiro (BLEICHER; MELO, 1996), atacam as plantas no período de floração, realizando a oviposição na porção terminal das inflorescências. As lagartas recém eclodidas penetram no tecido vegetal e se alimentam da parte lignificada do ramo, impedindo a passagem de água e nutrientes para as estruturas florais. Dessa forma, surgem os danos característicos de ataque dessa praga, que são: murcha seguida de seca das inflorescências e quebra do ramo no local do orifício de saída do inseto adulto, na forma de uma mariposa pequena acinzentada com asas esbranquiçadas (Figura 2) (MESQUITA, 2012).

Figura 2 – Broca-das-pontas, *Anthistarcha binocularis* Meyrick, 1929 (A*), inflorescência sadia (B), orifício de entrada e saída do inseto no ramo floral (C), injúria típica provocada pela praga (D).



Fonte: Autor (2019). (A*) escala em milímetros (mm).

O principal dano em consequências das injúrias causadas por esta praga é a improdutividade do ramo floral atacado, diminuindo assim, a produção.

Em função da fenologia do cajueiro a maior ocorrência de broca-das-pontas no campo vai do início do florescimento, onde ocorre a formação de panículas, até a colheita, estando também presente em todas as fases de formação dos frutos por ainda ocorrer formação de novas inflorescências até o final do ciclo de frutificação. No Ceará, estes períodos de floração e frutificação duram nove meses iniciando em maio e com término em janeiro (MESQUITA et al., 2008).

O único estudo que envolve os aspectos biológicos de *A. binocularis* afirma que o ciclo biológico tem duração de 55,8 dias sendo 35,5 dias na fase de lagarta, 10,7 dias pupa, e 6,5 dias adulto. Segundo este estudo a melhor forma de criação da espécie em laboratório seria utilizando seções de inflorescência trocadas apenas após secar o tecido vegetal que serve para alimentação (BLEICHER et al., 2007). Considerando um longo período de floração, a praga passaria por vários ciclos durante uma safra, aumentando assim o número de indivíduos por hectare.

As pragas citadas são problemas fitossanitários que colaboram para o declínio da produção dos pomares, tanto para a castanha quanto para o pedúnculo. Para muitas das doenças (FREIRE; VIANA, 2001) e pragas do cajueiro (MESQUITA; BRAGA SOBRINHO, 2013) relatadas, à medida que se tornam problema para a cultura, é necessário que se estabeleçam estratégias de controle associadas à pesquisa básica e aplicada. Nos últimos anos, alguns problemas fitossanitários têm exigido maior atenção pelos danos que vêm causando ao cajueiro, ressalta-se que o oídio do cajueiro, *Pseudoidium anacardii* (CARDOSO et al., 2012), a traça-das-castanhas, *A. phytomiella*, e a broca-das-pontas, *A. binocularis*, (MESQUITA; BRAGA SOBRINHO, 2013) têm exigido grandes esforços no desenvolvimento de tecnologias para combatê-los.

2.3 Métodos de controle de *Anthistarcha binocularis* e *Anacampsis phytomiella* na cultura do cajueiro

São poucas as ferramentas disponíveis aos produtores de caju, para o controle da broca-das-pontas e traça-das-castanhas. O controle químico, quando é utilizado, geralmente é realizado por produtos não registrados para as pragas na cultura no Ministério da Agricultura Brasileiro. Este tipo de controle, além de ser perigoso aos seres humanos e meio ambiente, tem o alto custo e sua utilização indiscriminada pode facilitar o surgimento de populações resistentes. A *A. phytomiella* não possui nenhum registro de produto fitossanitário junto ao Ministério da Agricultura, já *A. binocularis* possui o registro do princípio ativo Deltametrina pertencente ao grupo químico dos piretroides, produto com alta toxicidade ao homem e ao meio ambiente (AGROFIT, 2019).

O controle cultural destas pragas é bastante empregado, recomendando a poda das inflorescências com injúrias provocadas por broca das pontas, e coleta de castanhas que apresentem o orifício de saída do inseto adulto. Após estas coletas faz-se a queima para evitar que mesmo após retirado da planta os insetos completem seus ciclos de vida (MELO, 2002). O controle cultural é bastante oneroso pela necessidade de muita mão de obra, tornando seu custo alto.

O controle biológico, foi relatado pela presença de alguns inimigos naturais que controlam a fase de lagarta de *A. binocularis* como *Bracon* sp. (Hymenoptera: Braconidae), *Goniozus* sp. (Hymenoptera: Bethyilidae) e fungos entomopatogênicos do gênero *Acremonium* (MESQUITA, BECKER, BRAGA SOBRINHO et al., 1998; MESQUITA, BRAGA SOBRINHO, 2014; Dos SANTOS et al., 2015). Para *A. phytomiella* foram registradas duas

espécies de parasitoides da família Braconidae, *Bracon* sp. e *Phanerotoma* sp. (DIAS-PINI et al., 2016). A utilização de inimigos naturais tem sido apreciada na busca por uma agricultura sustentável, pois apresenta benefícios como custos mais baixos, diminuição dos impactos ambientais, aumento da segurança alimentar e menor exposição dos trabalhadores rurais a substâncias tóxicas.

Buscando alternativas ao uso de agrotóxicos, a pulverização das castanhas com inseticidas naturais à base de óleos essenciais e hidrolatos mostraram-se eficientes na prevenção do ataque por *A. phytomiella*, com os produtos ©Insetnat e ©Hidronat, que foram aplicados semanalmente, a partir da castanha com 1 cm de comprimento. (MESQUITA et al., 2008).

O controle genético também é um método que pode ser empregado no manejo de pragas da cultura do cajueiro. Em um estudo com mais de 50 acessos de clones de cajueiro com diversos fins agrônômicos, avaliou-se quais desses clones tenham maior preferência para as pragas em estudo, e concluiu-se que o clone BRS 275 apresentou maior resistência à *A. binocularis* e *A. phytomiella* (DIAS-PINI et al., 2018). Em outro trabalho avaliando apenas resistência de clones a broca-das-castanhas foi observado 21 acessos com menor incidência da praga, dentre estes o BRS 226 e CAP 115/5 (DIAS-PINI et al., 2017).

Há necessidade de se disponibilizar outros métodos de controle, já que os métodos envolvendo pulverizações tem poucas chances de ser um controle efetivo devido aos hábitos endofíticos das pragas, dificultando que o produto atinja o alvo a ser controlado. Dentre os métodos de controle que podem ser empregados junto ao Manejo Integrado de Pragas (MIP) do cajueiro, tem-se o controle comportamental de pragas através de feromônios que pode ser uma estratégia promissora para o monitoramento e controle com o uso de armadilhas para captura dos insetos adultos, fase em que os insetos não ficam alojados nos ramos. Para a cultura do cajueiro será mais viável e utilizável pelos produtores como forma de monitoramento e controle da população dessas pragas.

2.4 Controle comportamental utilizando feromônio para a família Gelechiidae

O estudo das interações entre organismos mediadas por substâncias químicas é denominado de Ecologia Química. A comunicação entre animais é realizada através do uso de sinais visuais, acústicos, táteis e/ou químicos. Destes, os sinais químicos são os que, de modo geral, mais expressam importância de comunicação. Esses sinais podem ser percebidos a curta e/ou a longas distâncias, independente do horário do dia e do tipo de habitat. A qualidade da recepção, no entanto, pode variar de acordo com a quantidade e volatilidade das substâncias

liberadas a partir da fonte, da velocidade e turbulência do vento, e da interferência da vegetação a outras barreiras físicas (TASIN et al., 2005).

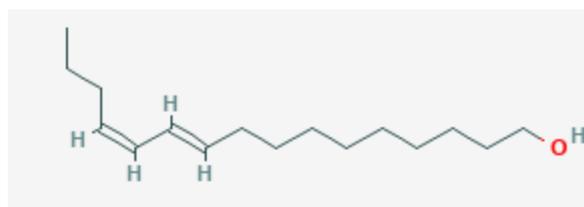
Ainda não há na literatura dados sobre a utilização de semioquímicos no manejo de *A. phytomiella* e *A. binocularis*. No entanto, os feromônios sexuais, compostos responsáveis pela atração química intraespecífica para fins de reprodução, podem ser utilizados em armadilhas como instrumento de detecção e captura de insetos. A utilização de substâncias químicas intraespecíficas para modificação de comportamento e ações de insetos pragas em cultivos agrícolas é uma ferramenta ecológica para controle ou monitoramento. Pela especificidade de ação, o uso de feromônio não agride o ambiente nem insetos polinizadores e não causa toxicidade a seres humanos (GOULART et al., 2015).

A utilização de substâncias químicas intraespecíficas para modificação de comportamento e ações de insetos pragas de cultivos agrícolas vem se tornando uma ferramenta interessante para monitoramento e controle destes insetos em campo, controlando seus níveis populacionais e diminuindo os danos econômicos (PARRA-PEDRAZZOLI, 2006).

Grande parte das pesquisas envolvendo feromônios sexuais no mundo são de insetos lepidópteros principalmente aqueles que possuem alguma importância econômica. Os produtos, em sua maioria, são resultados de misturas de compostos ativos em diferentes proporções (LEY, VICKERS, 2008).

A maioria das mariposas fêmeas produzem feromônios sexuais para atrair machos da mesma espécie. O primeiro feromônio sexual isolado foi de *Bombyx mori* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Bombycidae) e identificado como (E, Z) -10,12- hexadecadienol (E10Z12-16:OH; bombykol) (Figura 3) (BUTENANDT et al., 1959). Desde então, feromônios sexuais de mais de 600 espécies de mariposas foram quimicamente identificadas (ANDO, 2017).

Figura 3 – Estrutura química do feromônio sexual de *Bombyx mori* (E10Z12-16:OH; bombykol) (BUTENANDT et al., 1959).



Fonte: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Bombykol#section=Top>

Dos compostos identificados em lepidópteras a maioria são formados por aldeídos, acetatos e álcoois, como por exemplo, E11-16:Ald e E10 E12-16:Ald, com atividade

eletrofisiológica para *Diaphania glauculalis* Guenée, 1854 (Lepidoptera: Crambidae) (MA et al., 2015). Em outro estudo foi apresentado que a mistura de compostos de Z5,E7-12:OAc, Z5,E7-12:OH, e Z5-12:OAc compreende o feromônio sexual de *Dendrolimus kikuchii* Matsumura (Lepidoptera: Lasiocampidae) (KONG et al., 2011).

A família Gelechiidae, que engloba *A. binocularis* e *A. phytomiella*, possui mais de 4.500 espécies distribuídas em 500 gêneros (HODGES, 1999). De acordo com El-Sayed (2018), feromônios sexuais já foram descritos em mais de 70 espécies de 40 gêneros dessa família e caracterizam-se geralmente como acetatos mono ou poli-insaturados com 10 a 18 átomos de carbono.

Alguns exemplos desses compostos já relatados para insetos da família Gelechiidae são acetato de (Z)-3- dodecenila (Z3-12:Act) e acetato de (Z)-5-tetradecenila (Z5-14:Act) que são componentes do feromônio sexual de *Monochroa divisella* Douglas, 1850, praga chave da cultura de flores da espécie *Iris* spp. (Iridaceae) (TABATA; KUBOTA, 2017). Os compostos Z3-12:OAc e Z5-12:OAc foram identificados como componentes do feromônio sexual da *Scrobipalpa salinella* Zeller, 1847, uma das principais pragas de *Salicornia europaea* L., também conhecida como “sal verde”, uma planta aromática usada como tempero nas saladas (YANG et al., 2011).

Uma das principais pragas das crucíferas, alface, alfafa, brócolis, couve-flor, repolho *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae), que antigamente era classificada como Gelechiidae, apresenta como feromônio a mistura dos compostos E11-16: Ac e Z11-16: OH (RENOU; GUERRERO, 2000).

A literatura não registra até o momento estudos sobre a ecologia comportamental das espécies *A. phytomiella* e *A. binocularis* bem como a composição química do feromônio para essas espécies. A investigação do comportamento de acasalamento e identificação dos compostos químicos envolvidos nesse processo podem contribuir significativamente para a evolução nas técnicas de manejo integrado na cultura do caju.

REFERÊNCIAS

- AGROFIT**: Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários, 2019. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/servicos-e-sistemas/sistemas/agrofit>>. Acesso em: 25 de janeiro 2019.
- ANDO, T. **The list of Lepidopteran sex pheromones and attractants**. Disponível em: <http://lepipheromone.sakura.ne.jp/lepipherolist.html>, 2017. Acessado em: 26 de Abril 2017.
- BLEICHER, E.; MELO, Q. M. S. **Artrópodes associados ao cajueiro no Brasil**. 2ª Ed., Fortaleza: EMBRAPA – CNPAT, 35p., 1996.
- BLEICHER, E. et al. Aspectos da biologia de *Anthistarchs binocularis* Meyrick em inflorescência de cajueiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 37, n. 1, p. 57-59, 2007.
- BUTENANDT A. et al. Über den sexual lockstoff den seidenspinners *Bombyx mori*. Reindarstellung und Konstitution. **Zeitschrift für Naturforschung**, v. 14b, p.283–284, 1959.
- CARDOSO, J. E. et al. Controle Químico do Oídio do Cajueiro. **Embrapa Agroindústria Tropical: Comunicado Técnico**, 196, Fortaleza, Ceará, Brasil, p.4, 2012.
- CARDOSO, J. E. et al. Doenças do cajueiro. In.: ARAÚJO, J. P. P. (Ed.) **Agronegócio caju: práticas e inovações**. Brasília, DF: Embrapa, parte 3, cap. 2, p. 217-238, 2013.
- CAVALCANTI, J. J. V.; BARROS, L. M. Avanços, desafios e novas estratégias para o melhoramento genético do cajueiro no Brasil. In: SIMPÓSIO NORDESTINO DE GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS, 1., 2009, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, p.83-101., 2009.
- CAVALCANTI JUNIOR, A. T. Propagação assexuada do cajueiro. In: ARAÚJO, J. P. P. de. **Agronegócio Caju: práticas e inovações**. Embrapa, 2013, p.242-257.
- CONAB**. Conjuntura mensal – Castanha de Caju. 2017, 5p. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_05_15_18_01_13_castanhadecajuabril.pdf> Acesso em: 15 jul. 2017.
- DELLE-VEDOVE, R. et al. Courtship behavior of the Castniid Palm Borer, *Paysandisia archon*: Potential Roles of Males Scents and Visual Cues in a Day-Flying Month. **Journal of Insect Science**, v. 14, n. 52, p. 1-14, 2014.
- DENDENA, B; CORSI, S. Cashew, from seed to market: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 45, p. 753-772, 2014.
- DIAS-PINI, N. da S. et al. Primeiro registro de *Phanerotoma* sp. parasitando a traça-das-castanhas do cajueiro no Brasil. Fortaleza: **Embrapa Agroindústria Tropical: Comunicado técnico**, 220, p. 4, 2016. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/145299/1/COT16005.pdf>>. Acesso em: 26 jan. 2018.

DIAS-PINI, N. da S. et al. Preferência da traça-da-castanha por genótipos de cajueiro-anão e metodologia de avaliação da infestação em campo. Fortaleza: **Embrapa Agroindústria Tropical: Comunicado técnico**, 137, 20p., 2017. Disponível em:

<<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1071996/preferencia-da-traca-da-castanha-por-genotipos-de-cajueiro-anao-e-metodologia-de-avaliacao-da-infestacao-em-campo>>. Acesso em: 28 nov. 2018.

DIAS-PINI, N. da S. et al. T. Respostas preliminares de progênies de cajueiro-anão à infestação da broca-das-pontas e da traça-da-castanha. Fortaleza: **Embrapa Agroindústria Tropical: Comunicado técnico**, 156, 15p., 2018. Disponível em:

<<https://www.embrapa.br/agroindustria-tropical/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1089432/respostas-preliminares-de-progenies-de-cajueiro-anao-a-infestacao-da-broca-das-pontas-e-da-traca-da-castanha>>. Acesso em: 28 nov. 2018.

Dos SANTOS, J. M. et al. Primeiro registro de *Goniozus* sp. (Hymenoptera: Bethyilidae) parasitando *Anthistarcha binocularis* (Lepidoptera: Gelechiidae) na cultura do caju no Brasil. **Anais**. In: 14^a Simpósio de Controle Biológico, 2015, Teresópolis - RJ.

EL-SAYED, A.M. **The Pherobase**: Database of Pheromones and Semiochemicals. Disponível em :<<http://www.pherobase.com>>, 2018. Acesso em: 28 jul. 2018.

FAO - ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA ALIMENTAÇÃO E AGRICULTURA - (2018). Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em: 10 jan. 2018.

FREIRE, F. C. O.; VIANA, F. M. P. Oídios de fruteiras Tropicais. In: STADNIK, M.J.; RIVERA, M. C. (Ed.). **Oídios**. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, p. 323-334, 2001.

GOULART, H. F. et al. Feromônios: Uma Alternativa Verde para o Manejo Integrado de Pragas. **Revista Virtual Química**, v. 7, n.4, p.1205-1224, 2015.

HODGES, R. W. The Gelechioidea. In: KRISTENSEN, N. P. (ed.). **Handbook of Zoology, Lepidoptera, Moths and Butterflies**. Berlin and New York: Walter de Gruyter, v. 1, p. 131–158, 1999.

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2018. Disponível em: <<http://www.sidra.IBGE.gov.br/bda/tabela>>. Acesso em: 25 de outubro. 2018.

KONG, X-Bo. et al. Identification of Components of the Female Sex Pheromone of the Simao Pine Caterpillar Moth, *Dendrolimus kikuchii* Matsumura. **Journal of Chemical Ecology**, v. 37, p. 412–419, 2011.

LEY, H.; VICKERS, N. Central processing of natural odors mixtures in insects. **Journal of Chemical Ecology**, New Yourk, v.34, n.7, p. 915-927, 2008.

MA, T. et al. Electrophysiological and behavioral responses of *Diaphania glauculalis* males to female sex pheromone. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p.15046–15054, 2015.

MELO, Q.M.S. (Ed.). **Caju: fitossanidade**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical; Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, Frutas do Brasil, v. 26, 2002.

MESQUITA, A. L. M.; BECKER, V. O.; SOBRINHO, R. B. Taxonomic Identification of Lepidopterous Species of Cashew Plant in Brazil. **An. Soc. Entomol. Brasil**, v.27, n.4, p. 655-656, 1998.

MESQUITA, A.L.M.; SILVA, R.G.; SOBRINHO, R.B. Ataque da traça-da-castanha (*Anacamsis cf. phytomiella*) em ramos ponteiros de cajueiro. Fortaleza: **Embrapa Agroindústria Tropical: Comunicado técnico**, 40, 3p., 1999.

MESQUITA, A. L. M. et al. Controle da traça-da-castanha com produtos à base de óleos essenciais e hidrolatos. Fortaleza: **Embrapa Agroindústria Tropical: Comunicado técnico**, 135, 3p., 2008. Disponível em: http://www.cnpat.embrapa.br/cnpat/down/index.php?pub/cot_135.pdf. Acesso em: 13 jul. 2015.

MESQUITA, A. L. M. **Caju: principais pragas**, 2012. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/caju/arvore/CONT000fyra9xch02wx5ok0pvo4k37fj97ni.html>. Acesso em: 03 mai. 2017.

MESQUITA A.L.M.; BRAGA SOBRINHO, R. Pragas e doenças do cajueiro. In: ARAÚJO, J.P.P. (Ed.). **Agronegócio caju: práticas e inovações**, Brasília: Embrapa, p. 195-215, 2013.

MESQUITA A. L. M.; BRAGA SOBRINHO, R. Ocorrência e importância de inimigos naturais de pragas em cajueiro no Estado do Ceará (Brasil). **Essentia**, v. 16, p. 103-110, 2014.

MESQUITA, A. L. M.; DIAS-PINI, N. S.; BRAGA SOBRINHO R. **Sistema de produção do caju: Pragas do cajueiro**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, n. 2, 2016.

PAIVA, J. R. et al. Desempenho de clones de cajueiro-anão precoce no semi-árido do Estado do Piauí. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 39, n. 02, p. 295-300, 2008.

PARRA-PEDRAZZOLLI, A. L. **Isolamento, identificação, síntese e avaliação de campo do feromônio sexual do minador-dos-citros, *Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856 (Lepidoptera: Gracillariidae)**. 2006. 81f. Tese (Doutorado em Ciências: Entomologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

RENOU, M.; GUERRERO, A. Insect parapheromones in olfaction research and semiochemical-based pest control strategies. **Annual Review Entomology**, v.45, p.605-630, 2000.

SOUSA, L. B. et al. Aspectos de biologia floral de cajueiros anão precoce e comum. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, p.882-885, 2007.

SOUZA FILHO, H. M. et al. Barreiras às novas formas de coordenação no agrossistema do caju na região nordeste, Brasil. **Gestão e Produção**, v. 17, n. 2, p. 229-244, 2010.

TABATA, J.; KUBOTA, S. Sex pheromone of the iris gelechiid moth *Monochroa divisella*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 164, p. 113–119, 2017.

TASIN, M. et al. Antenal and behavioral responses of grapevine moth *Lobesia botrana* females to volatiles from grapevine. **Journal Chemical Ecology**, v. 31, n. 77, 2005.

VIDAL NETO, F. C. et al. Melhoramento genético e cultivares de cajueiro. In: ARAÚJO, J. P. P. (Ed.). **Agronegócio caju: práticas e inovações**. Brasília, DF: Embrapa, 2013, parte 7, cap. 2, p.481-508.

YANG, C. Y. et al. Female Sex Pheromone of the Gelechiid Moth *Scrobipalpa salinella* (Zeller). **Journal Chemical Ecology**, v. 37, p. 1216–1221, 2011.

3 ASPECTOS BIOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS DE *Anthistarcha binocularis* MEYRICK, 1929 (LEPIDOPTERA: GELECHIIDAE) EM INFLORESCÊNCIA DE CAJUEIRO ANÃO PRECOCE

3.1 INTRODUÇÃO

O cajueiro, *Anacardium occidentale*, é uma espécie nativa da costa norte do Brasil adaptada a um amplo espectro ecológico. Por seu interesse comercial ganhou força na produção por países asiáticos, africanos, e sul americanos como por exemplo, Vietnã, Índia, Nigéria, Costa do Marfim, Peru e Brasil (DELGADO; COUTURIER, 2014). Atualmente, 198 países produzem castanha de caju no mundo segundo dados do Faostat (2018).

Gelechiidae é uma das principais famílias de micromariposas, os adultos são facilmente reconhecidos pela forma da asa posterior, com a margem terminal bordada (ou franjada), abaixo do ápice terminal, são insetos delgados e pequenos (3 - 12 mm de comprimento, algumas espécies tropicais podem chegar a 18 mm). A grande maioria tem hábito noturno, de coloração marrom, cinza ou preta, mas algumas são coloridas. As larvas costumam formar abrigos internos em brotações de árvores e arbustos, mas muitos são minadores de folhas, pelo menos em estádios iniciais, hastes ou brocas de raiz. Existem mais de 4.500 espécies descritas em mais de 500 gêneros. São mais diversas em áreas de zonas temperadas, incluindo desertos e outros habitats sazonalmente áridos (RESH; CARDÉ, 2009).

Várias são pragas agrícolas importantes relatadas para esta família, incluindo a lagarta rosada do algodão *Pectinophora gossypiella* (Saund., 1844) (ROMANO; PAPA, 2015), uma ameaça para os cultivadores de algodão em todo o mundo; a traça dos grãos *Sitotroga cerealella* (Oliv., 1819) (CARVALHO et al., 2017), praga generalista que se alimenta de grãos armazenados; a mariposa dos tubérculos de batata - *Phthorimaea operculella* (Zeller, 1873) (PRATISSOLI, 2003); e muitas outras pragas minadoras.

A broca-das-pontas, *Anthistarcha binocularis* Meyrich, 1929 (Lepidoptera: Gelechiidae) é uma micromariposa considerada uma das principais pragas do cajueiro, tem preferência de se alimentar no período de floração do caju, realizando a oviposição na porção terminal das inflorescências. As lagartas, recém eclodidas, penetram no tecido vegetal e alimentam-se da parte lignificada do ramo, impedindo a passagem de água e nutrientes para as inflorescências (MESQUITA; BRAGA SOBRINHO, 2013). Dessa forma, surgem os danos característicos de ataque dessa praga, que são: murcha, seca, e morte das inflorescências, e, por conseguinte a não frutificação, podendo também ocorrer a quebra do ramo floral no local do orifício de saída do inseto adulto, que é uma mariposa pequena acinzentada, com asas esbranquiçadas (MESQUITA et al., 2011). Sua presença em áreas de cultivo de caju está diretamente relacionada a danos econômicos na produção dos frutos.

Por ter hábito alimentar endofítico e o cajueiro ser uma planta perene, existe a dificuldade de criação desse inseto em laboratório, pois a manipulação das inflorescências causa estresses nas lagartas que algumas vezes cessam sua alimentação, ou aceleram processos metabólicos para pupar rapidamente, podendo ocorrer deformações e a morte do inseto. Um estudo em laboratório da biologia, utilizando-se de duas metodologias para a criação de *A. binocularis*, com troca das secções de inflorescência a cada três dias e outra usando inflorescências inteiras até seu secamento. Sendo assim, foi observado que trocando as inflorescências o período de lagarta, pupa e adultos foram menores (50,9 dias), quando comparados com o período sem troca de inflorescência (55,8 dias) (BLEICHER et al., 2007).

Em função da fenologia do cajueiro a maior ocorrência de broca das pontas no campo vai do início do florescimento, onde ocorre a formação de panículas, até a colheita, estando também presente em todas as fases de formação dos frutos por ainda ocorrer formação de novas inflorescências até o final do ciclo de frutificação. Em condições de cultivo não irrigado, o período de floração e frutificação dura de 5 a 6 meses, em áreas irrigadas a floração ocorre o ano inteiro, aumentando o período de incidência da praga (MESQUITA et al., 2008). Não há relatos de como ocorre o comportamento reprodutivo dessa praga.

Na maioria das espécies de lepidópteros, o comportamento de atratividade sexual do macho e fêmea sexualmente maduros se dá pela troca de sinais a longas distâncias, sendo caracterizado pelo vôo do macho em direção ao feromônio produzido e liberado pela fêmea. Enquanto, a curto alcance a troca de sinais constitui a corte (RINGO, 1996; CARDÉ; MINKS, 1995).

Antenas de machos têm um grande número de sensilas que contêm neurônios receptores olfativos específicos para componentes dos feromônios sexuais feminino (SCHLAMP et al, 2006). Entender esses mecanismos de chamamento, cortejo e corte, além de favorecer um maior conhecimento sobre o inseto praga, favorecerá a adequação de métodos para o monitoramento e controle com o uso de feromônio.

Informações sobre parâmetros biológicos de pragas são fundamentais para o planejamento de monitoramento e controle. Em função da pouca informação disponível sobre a biologia desta praga e visando entender os hábitos comportamentais de atividade atrativa sexual para estudo do feromônio, objetivou-se neste trabalho caracterizar, as injúrias causadas pela praga na planta, os parâmetros biológicos de duração dos estágios imaturos e adultos, descrever sua atividade comportamental reprodutiva e identificar as sensilas presentes nas antenas de machos de *A. binocularis*.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Obtenção dos insetos e inflorescências

Os insetos na fase de lagarta e pupa foram coletados na Fazenda Daniel, localizada no município de Boca da Mata, Alagoas (9 ° 39'39,3 "S 36 ° 11'52,7" W). A área é constituída de 10 hectares com clones de cajueiro anão precoce de 10 anos de plantio, em condições de sequeiro, na sua maioria o clone CCP 76. A criação dos insetos foi realizada no Laboratório de Pesquisas em Recursos Naturais (LPqRN), do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas.

Foram realizadas coletas de março a outubro de 2015, e de abril a junho de 2016, para obtenção dos materiais de manutenção da criação em laboratório. A área de plantio fica localizada na Zona da Mata do estado de Alagoas e, por possuir fragmentos de Mata Atlântica, apresenta características de clima úmido e vários períodos de precipitações ao longo do ano, favorecendo o florescimento durante a maior parte do ano, e conseqüentemente maior período de incidência da praga no campo. As inflorescências sadias para alimentação das lagartas eram coletadas do campo, transportadas em caixas térmicas sob resfriamento, no laboratório limpas e cortadas em fragmentos de 10 cm, dispostas em tubos com lagarta. A pesquisa foi desenvolvida no LPqRN sobre registro no SISGEN e CGEN (n.º 010428/2012-7).

3.2.2 Caracterização das injúrias

Durante o período de coleta das inflorescências para criação dos insetos, foi realizado a avaliação das injúrias, caracterizadas pela descrição das partes das plantas que os insetos costumam se alimentar, a visualização dessas injúrias para identificação da presença da praga na área e as modificações na morfologia da parte atacada da planta.

3.2.3 Parâmetros biológicos de *Anthistarcha binocularis* em laboratório

3.2.3.1 Aspectos biológicos, e descrições morfológicas e morfométricas

Período de incubação

Para avaliação dos parâmetros biológicos de *A. binocularis* foram coletadas em campo 150 lagartas, mantidas até a obtenção dos adultos, sendo estes separados em casais e

aconicionados em câmaras feitas com tubos de PVC (10cm de diâmetro x 20cm de altura), forradas com papel toalha para deposição dos ovos e, assim dar início a criação totalmente em condições de laboratório. Antes da eclosão, os ovos foram colocados próximos das inflorescências, para que logo após a eclosão, as lagartas penetrassem no ramo com mais facilidade.

O estudo da morfologia externa dos ovos foi realizado através de observações e mensurações com auxílio de lupa estereoscópica, e microscópio eletrônico de varredura (Laboratório de Microscopia da Coordenação de Química do Instituto Federal de Alagoas - IFAL), foram considerados 20 ovos para estas avaliações, cada um uma repetição.

Fase larval

No início do desenvolvimento as lagartas eram mantidas em pequenos fragmentos de inflorescência, um buquê de um a três botões florais, e com a murcha do buquê, as lagartas eram transferidas para ramos maiores de até 10cm, acondicionadas em tubos de vidro (10cm de altura x 2,5cm de diâmetro) e tampados com filme PVC (Figura 4). Foram colocados uma lagarta por ramo em cada tubo, sendo substituídos sempre que eram observados a murcha dos mesmos. Para troca de alimento seguiu-se o sugerido por Bleicher e colaboradores (2007), após seca do ramo para evitar estresse alimentar das lagartas.

As lagartas foram caracterizadas morfologicamente, no último instar, com a utilização de lupas estereoscópicas e registros fotográficos. As avaliações foram realizadas durante o período de lagarta de 80 exemplares, cada lagarta uma repetição, alimentadas com ramos florais extraídos das plantas e com o mínimo de manuseio para não ocasionar estresse durante esses períodos.

Figura 4 – Fase larval de *Anthistarcha binocularis* em inflorescência de caju criadas em laboratório.



Fonte: Autor (2019).

Fase de pupa

Os ramos foram checados diariamente, quando as lagartas iniciavam o período pré pupa e logo após a pupação, estas eram fotografadas e caracterizadas morfológicamente com a utilização de câmera fotográfica acoplada a um microscópio estereoscópico para facilitar nas mensurações (Figura 5). As pupas foram acondicionadas em tubos de vidro de (10cm de altura x 2,5 cm de diâmetro), etiquetados com data do início do período pupal e sexo do inseto, pupas fêmeas a localização da abertura genital encontra-se no oitavo segmento abdominal e nos machos, observam-se duas gônadas no nono segmento.

Para fins de caracterizar a existência ou não de dimorfismo sexual, após sexadas as pupas foram avaliadas quanto ao peso (mg), comprimento (mm) e duração (dias).

Os pesos das pupas de insetos que tiveram criação totalmente em laboratório foram comparados com o peso das pupas coletadas diretamente no campo. Foram consideradas 40 pupas de cada gênero (macho e fêmea) e para cada local.

Figura 5 – Pupa de *Anthistarcha binocularis* em ramo de inflorescência de cajueiro, com criação em laboratório, e indicação do orifício de saída do inseto adulto.



Fonte: Autor (2019).

Fase adulta

Atingindo a fase adulta os insetos foram mantidos em tubos de vidro de 10cm de altura e 2,5cm de diâmetro, individualizados e com registro a data de emergência. Durante este período, os insetos foram alimentados através de um algodão embebido com solução de sacarose (10%) trocado a cada dois dias. A sala de bioensaio recebeu iluminação de 3,5 W/m², durante as 12h de fotofase e durante as 12h da escotofase, o sistema de iluminação era desligado

automaticamente. As condições climáticas tiveram variações entre $25 \pm 2^\circ\text{C}$ de temperatura e umidade relativa de $80 \pm 10\%$.

À medida que a fêmea começou a postura os papéis eram trocados diariamente e, os ovos contabilizados até o final desse período. Assim, foi possível quantificar o número de ovos depositados por fêmea. Foi avaliado a fecundidade de oito fêmeas de *A. binoculares*. A determinação da longevidade dos indivíduos adultos de cada sexo seguiu a metodologia utilizada por Freitas et al. (2007), com adaptações, observados individualizados e contabilizado período de emergência e morte dos adultos.

3.2.4 Análise dos resultados

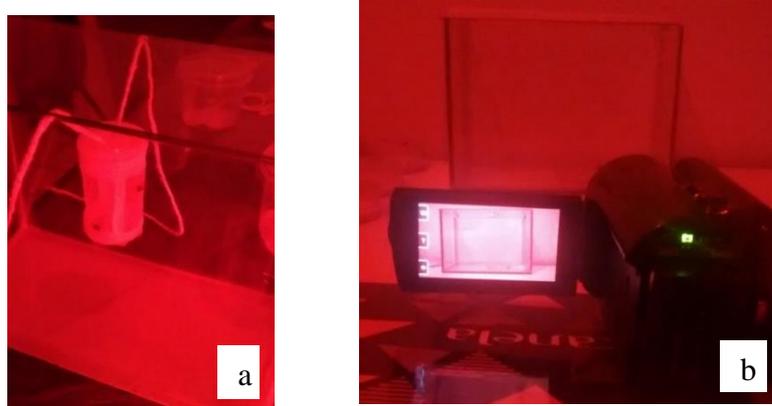
As variáveis peso, comprimento e duração da fase pupal, longevidade e oviposição dos adultos foi em delinemaneto inteiramente casualizado, cujos resultados foram submetidos a análise de variância, contando cada pupa como uma repetição, e havendo diferença significativa entre as médias ao nível de 5% de probabilidade, essas foram comparadas pelo teste de Tukey. Foi utilizado o software SISVAR versão 5.6 (FERREIRA, 2011).

3.2.5 Comportamento sexual de *Anthistarcha binocularis* em laboratório

Para identificar o período do dia com maior probabilidade de acasalamento, bem como o comportamento de chamamento, pré-cópula e cópula, bioensaios comportamentais foram realizados.

Inicialmente, foi realizado bioensaio de atratividade para confirmar a atração de machos por fêmeas, sendo colocado um casal por vez na câmara de bioensaio, onde as fêmeas permaneceram presas a uma gaiola confeccionada com tecido voil. Quando apresentavam comportamento de chamamento se fazia a liberação do inseto macho na arena, seu comportamento foi observado durante dez minutos e, ao término retirava-se o casal analisado e iniciava nova observação com novo casal de insetos. As observações foram realizadas durante o período de chamamento das fêmeas de *A. binoculares* (Figura 6 a). Foram feitas 20 repetições, considerando a fêmea como inseto liberador de voláteis atrativos quando o macho permanecia na gaiola por mais de um minuto ou fazia tentativas de cópula no equipamento.

Figura 6 – (a) Gaiola utilizada para bioensaio de atratividade, (b) Câmara utilizada para observação do comportamento sexual de *Anthistarcha binocularis* em laboratório.



Fonte: Autor (2019).

Após analisados os resultados do teste de atratividade, grupos contendo casais virgens de mesma idade foram acondicionados no interior de câmaras de bioensaios (20cm comprimento x 10cm largura x 15cm altura), e observados diariamente durante o período de fotofase e escotofase, desde o primeiro até o último dia de vida do estágio adulto (Figura 6 b). Durante este período, os insetos foram alimentados através de um algodão embebido com solução de sacarose (10%) trocado a cada dois dias. O fotoperíodo foi de 10 horas, com iluminação de 3,5 W/m², e 14h da escotofase, uma lâmpada vermelha de 15W foi empregada para facilitar as observações. As condições climáticas da sala de bioensaio tiveram variação de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ de temperatura e umidade relativa de $80 \pm 10\%$.

À medida que as fêmeas iniciavam comportamento de liberação de feromônio e chamamento dos machos, fez-se o registro do início ao término das etapas de cortejo, chamamento, pré-cópula e cópula, este último contado desde o início (união de genitálias) até o término (desacoplamento de genitálias) e registro da idade cronológica para atividade de comportamento sexual de machos e fêmeas, de acordo com a longevidade dos insetos. Foram realizadas 8 repetições.

3.2.6 Identificação das sensilas presentes nas antenas de machos de *A. binocularis*

As antenas foram removidas de machos de 1 dia de idade e imediatamente imersas em solução de glutaraldeído a 2% em tampão de fosfato (0,1M pH 7) por um período de dois minutos, posteriormente foram imersas por trinta segundos para desidratação sucessivamente em uma série de soluções de etanol (50, 70, 80, 90 e 99%). Foram colocadas em suportes de

alumínio sobre fita adesiva elétrica de sulfeto de carbono e metalizadas com ouro a 10mA durante oito minutos, utilizando um metalizador modelo QUORUM Q150R ES. As antenas foram observadas usando um microscópio de varredura a 15 kV. Foram utilizadas 2 antenas para análises, com a observação da superfície ventral, na qual estão presentes as sensilas. Foi utilizado um aumento de x500 a x1000 para caracterizar as sensilas (BAWIN, 2017).

As imagens foram feitas no Laboratório de Microscopia da Coordenação de Química do IFAL, utilizando equipamento de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), modelo TESCAN VEGA 3. Para cada tipo de sensilas presentes nas antenas de machos foram realizadas medições de comprimento das sensilas e largura basal, de 10 sensilas do mesmo tipo, e seus dados calculados por média, desvio padrão da média (DP) e erro padrão da média (EP).

3.2 RESULTADOS

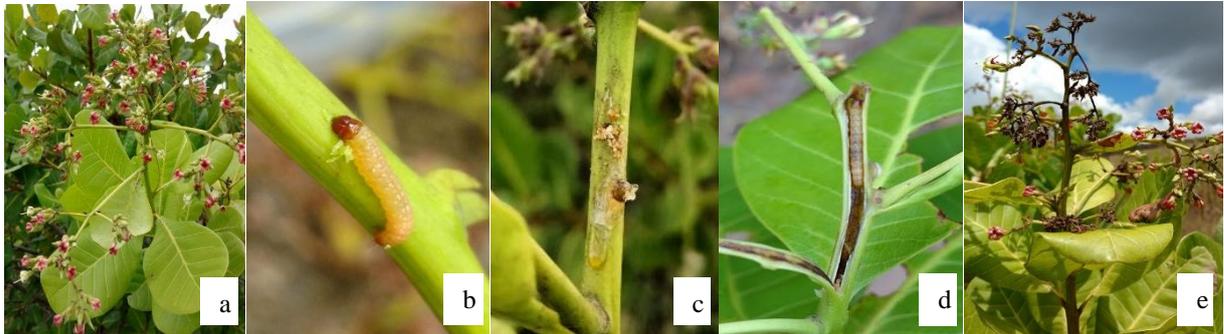
3.3.1 Caracterização das injúrias

As injúrias causadas pela praga no desenvolvimento dos ramos florais foram: seca de partes dos botões ou toda a inflorescência e seca do ramo floral e posterior morte dos mesmos. Essas injúrias foram provocadas pela interrupção na passagem de seiva para os ramos florais, pois a lagartaa ao se alimentar dos tecidos lignificados dos ramos, ocasionam interrupção do fluxo nos tecidos vasculares, influenciando diretamente na redução da produtividade de fruto por planta (Figura 7).

Também foi possível observar que a praga tem preferência por tecidos jovens da planta, em brotações, como uma estratégia da praga para se manter na área durante todo o ano, já que a floração do caju não acontece durante o ano inteiro.

A observação das injúrias é de fácil visualização: nas folhas próximas ao ramo ficam os orifícios de entrada da praga caracterizados por resquícios de excrementos fecais liberados pelas lagartas, normalmente de coloração amarelada devido a cor da parte interna dos ramos. Outro tipo de injúria pode ser observado quando os pedúnculos florais secam, algumas até com quebra do ramo ou parte do ramo floral.

Figura 7 – Injúrias em ramos florais de caju anão precoce causadas por broca das pontas. a) ramo sadio; b) lagarta perfurando ramo; c) orifício causado pelo inseto no ramo; d) lagarta dentro do ramo; e) ramo floral totalmente seco.



Fonte: Autor (2019).

3.3.2 Parâmetros biológicos de *Anthistarcha binocularis* em laboratório

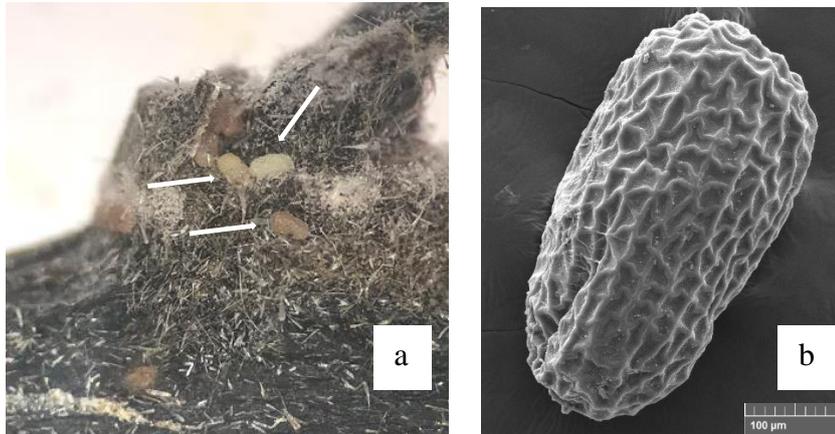
De forma geral, foi observado que as fêmeas tinham preferência para oviposição próximo dos botões florais e as lagartas assim que eclodiam, iniciavam sua alimentação nas proximidades de onde ocorreu a oviposição, por apresentar parede celular mais nova e de fácil mastigação. Após a penetração nos ramos florais, as lagartas alimentavam-se da parte lignificada, no sentido decrescente (do botão floral aos ramos). Uma vez que o inseto conseguia penetrar na planta, só era possível a observação da presença do mesmo através do orifício de saída, caracterizando também o início do período de pupa, já que o inseto o fazia para facilitar a saída do adulto após emergência. Toda a área consumida pelo inseto mediu cerca de 10 a 15 cm.

3.3.3 Aspectos biológicos e descrições morfológicas e morfométricas

Período de incubação

O ovo de *A. binocularis* caracterizou-se pela forma ovalada, composto por membrana enrugada, de coloração branco amarelada e com o passar dos dias o embrião fica mais escuro, medindo de 410,51 μm de comprimento e 213,6 μm de largura e o período de incubação tem duração de 3 dias (Figura 8).

Figura 8 – Morfologia do ovo de *Anthistarcha binocularis* Meyrick, 1929, em ramos de inflorescência (a) e caracterização da morfologia externa do ovo por microscopia eletrônica de varredura (b).



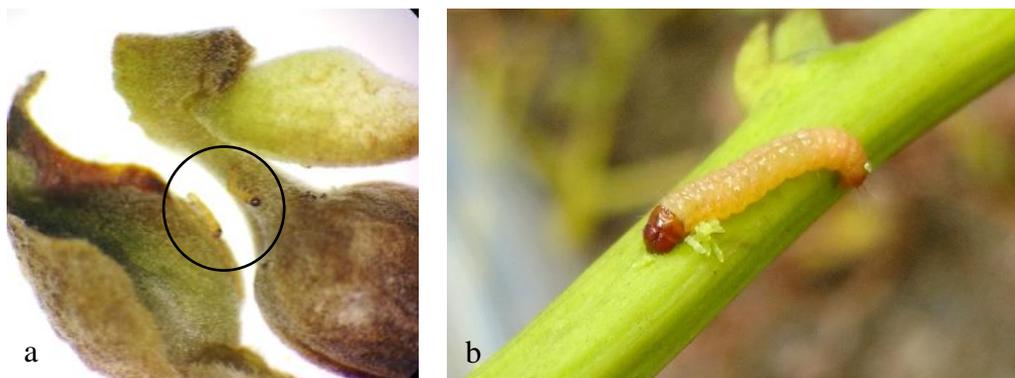
Fonte: Autor (2019).

Fase larval

As lagartas são de coloração amarelada com cápsula cefálica de cor castanho escuro e na fase de pré-pupa medem 1,5cm de comprimento ao final da fase larval, período característico de pré pupa (Figura 9). Observou-se que das 80 lagartas avaliadas, a fase larval apresenta em média duração de 33 dias.

O hábito endofítico das lagartas dificulta a avaliação dos parâmetros biológicos, pois com o manuseio ao abrir os ramos para retirada das lagartas causam estresse, fazendo com que as lagartas cessem a alimentação, se transformem em pupa antecipadamente, com grande possibilidade de serem inviáveis ou com má formação. Dessa forma, preferiu-se por fazer poucos manuseios durante essa fase, trocando o alimento apenas quando o ramo iniciava o processo de murcha.

Figura 9 – Diferentes estádios de desenvolvimento de lagartas de *Anthistarcha binocularis* Meyrick, 1929. (a) lagarta de primeiro ínstar em botões florais; (b) lagarta de último ínstar em ramo floral.



Fonte: Autor (2019).

Fase Pupal

As pupas apresentam coloração castanho claro, sendo o dimorfismo sexual, evidenciado pelas diferenças nos últimos segmentos do abdome. nas pupas fêmeas a localização da abertura genital encontra-se no oitavo segmento abdominal e nos machos, observam-se duas gônadas no nono segmento. (Figura 10).

Figura 10 – Pupas de *Anthistarcha binocularis* Meyrick, 1929, com representação das características utilizadas para diferenciar machos e fêmeas. (a) indicação para estrutura de diferenciação morfológica e (b) ampliação em vista frontal.



Fonte: Autor (2019).

Nas avaliações morfométricas entre machos e fêmeas obtidos do campo e insetos criados em laboratório, observou-se que: os insetos vindos do campo possuem peso de pupa maior que os insetos de laboratório; houve diferença significativa entre os pesos de pupas machos nas duas formas avaliadas. As fêmeas são maiores que os machos nas condições avaliadas, essa característica pode ser utilizada juntamente com outras características já apresentadas na morfologia da pupa para sexagem dos insetos, nessa variável, a diferença do peso de macho e fêmea nas duas condições não foi significativo (Tabela 2).

A fase de pupa de *A. binocularis* dura em média 7,51 dias para machos e 6,35 dias para fêmeas de acordo com os parâmetros utilizados para criação em laboratório. Não foi considerada a duração de pupas advindas do campo, pelo fato de não conhecer a idade destas, não tendo como contabilizar o total de dias nestas condições.

Tabela 2 – Médias de peso, comprimento, largura, duração do período de pupa de *Anthistarcha binocularis* Meyrick, 1929, em clone de caju anão precoce.

	Peso (mg)	Comprimento (mm)	Duração (Dias)
Macho Campo	13,97 a	7,98 b	0,00
Macho Laboratório	12,65 b	8,10 b	7,51 a
Fêmea Campo	14,21 a	9,06 a	0,00
Fêmea Laboratório	13,62 ab	9,02 a	6,35 b
Média	13,61 *	8,54 **	3,46 **
C.V. (%)	16,74	3,87	17,87

Médias nas colunas seguidas da mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). *significativo sendo $P \leq 0,05$, ** significativo sendo $P \leq 0,01$, NS não significativo.

Fase Adulta

De acordo com as observações comportamentais a cópula ocorreu no segundo dia de vida do adulto, e o período de oviposição ocorreu no terceiro e quarto dia após a emergência das fêmeas. Foi registrado uma fecundidade média de $118,75 \pm 9,55$ ovos por fêmea durante toda a fase adulta.

Foi observado que não houve diferença significativa em relação a longevidade de machos e fêmeas advindos do campo, coletados em fase de pupa do campo e observados até o final da fase adulta, com insetos criados totalmente em laboratório, o período médio de vida dos adultos foi de 6,37 dias (DMS: 0,30; DP: 0,08).

Dessa maneira, todas as fases do ciclo de vida analisadas em laboratório com alimento natural, trocado após seu murramento, durou em média 51 dias.

Os insetos adultos medem aproximadamente 1 cm de comprimento, possuem asas anteriores do tipo membranosa com coloração acinzentada com pontuações pretas, sendo dois pares de pontuações bem proeminentes, e asas posteriores franjadas com coloração acinzentada (Figura 11).

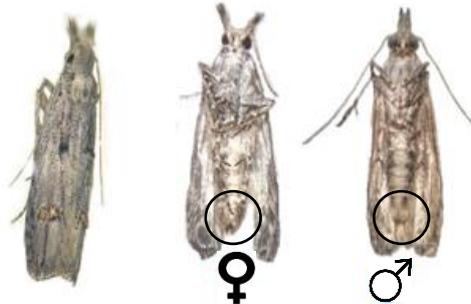
O dimorfismo sexual foi observado por machos apresentarem abdome de coloração branca no centro e manchas escuras nas extremidades e hairpencil na região distal do abdome de coloração branca e normalmente são menores e mais delgados. As fêmeas possuem abdome de coloração cinza com pontuações pretas, mais largo e curto, com pelos na porção distal do abdome cinza escuro (Figura 12). Essas características podem ser usadas para diferenciação morfológica entre os gêneros na fase adulta.

Figura 11 – Características morfológicas da asa anterior de cor cinza com pontuações pretas, e asa posterior com borda franjada de *Anthistarcha binocularis* Meyrick, 1929 (Lepidoptera: Gelechiidae).



Fonte: Autor (2019).

Figura 12 – Características morfológicas e dimorfismo sexual, com ênfase as na modificação morfológica entre fêmeas e machos adultos na porção final do abdome de *Anthistarcha binocularis* Meyrick, 1929 (Lepidoptera: Gelechiidae).



Fonte: Autor (2019).

3.3.4 Comportamento sexual de *Anthistarcha binocularis* em laboratório

Com fotoperíodo (10:L/14:E) observou-se que durante a fotofase os insetos permaneceram parados na maior parte do tempo, as poucas movimentações apenas para buscar locais mais escuros, como os cantos da arena. Demonstrando desta forma, preferência pelo período noturno para hábitos alimentares e reprodutivos.

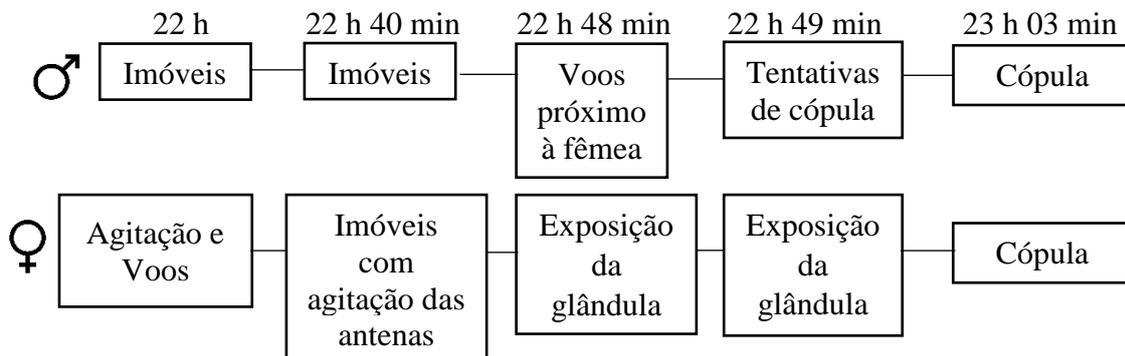
Na primeira hora da escotofase (18h) se deu o início da movimentação dos insetos na arena, realizando caminhadas e vôos de reconhecimento do ambiente e iniciaram também a alimentação da solução de sacarose embebida em mel, permanecendo parados alguns segundos sobre a mesma. Esses comportamentos se repetiram até a quarta hora da escotofase.

Durante a quarta hora a fêmea (22 h) iniciava uma maior agitação, fazendo vôos e caminhadas buscando sempre tocar o macho, esse comportamento durou em média 40 minutos, enquanto isso o macho também se mostrou agitado com a perseguição iniciada pela fêmea. Próximo à quinta hora, a fêmea diminuiu a movimentação, permanecendo até mesmo parada, com muita agitação das antenas, fazendo uma leve abertura nas asas, deixando exposta a porção

final do abdome, a distensão pleural e a exposição da glândula sexual por aproximadamente 8 minutos. Por ser um microlepidóptero é difícil a observação do alongamento do abdome para exposição da glândula sexual, como é comum em outras espécies dessa ordem.

Nesse momento o macho iniciava um período de maior agitação das asas, com caminhada e voos em direção à fêmea, esses vôos na sua grande maioria ocorreram em formas circulares, próximo e ao redor de onde a fêmea se encontrava, bem como toques na fêmea durante cerca de 5 minutos até o início das tentativas de acasalamento. Houve uma continuação dos movimentos circulares, agora com tentativas de cópula, onde o macho tentou tocar com o abdome na porção final do abdome da fêmea por repetidas vezes durante 1 a 3 minutos, até que o acasalamento fosse alcançado, cerca de 15 minutos passados da quinta hora da escotofase (23 h), como demonstrado na figura 13, detalhando os eventos para machos em fêmeas e os tempos que aconteciam.

Figura 13 – Esquema demonstrativo do comportamento sexual de *A. binocularis* durante a escotofase, período de maior atividade.



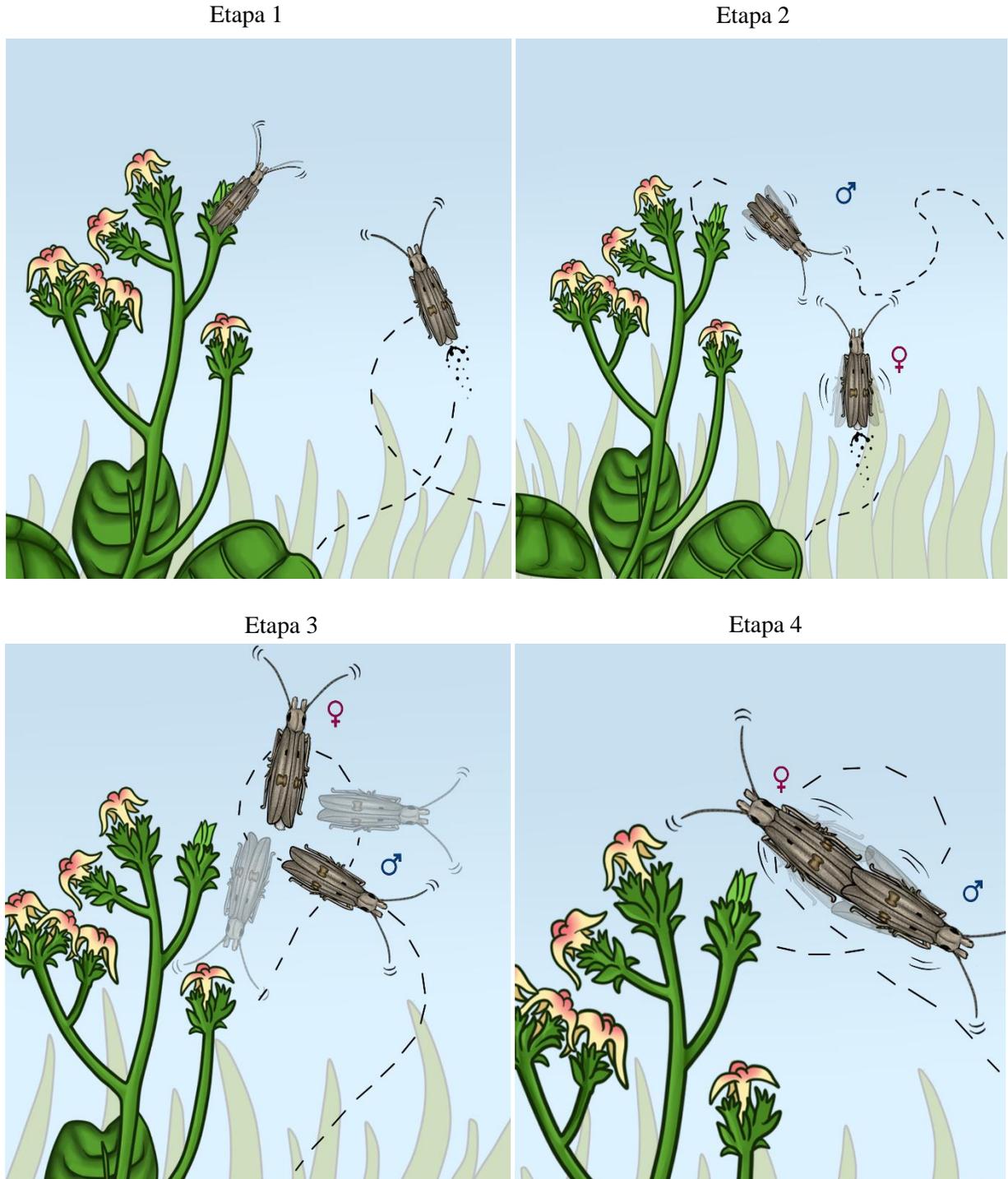
Fonte: Autor (2019).

O tempo de cópula variou de 2:30 à 3:46 horas. Foi observado que a cópula acontecia uma vez por dia durante três dias após a formação dos casais na arena e que a fêmea iniciou postura dos ovos após o segundo dia de acasalamento.

Após a cópula e durante as seis horas seguintes restantes da escotofase os insetos se posicionaram em lados opostos na arena, permaneceram parados e com muita agitação das antenas.

Com base nos dados observados e pelas filmagens foi possível confeccionar um etograma das atividades do comportamento sexual (Figura 14).

Figura 14 – Etograma representativo do comportamento sexual de *Anthistarcha binocularis* Meyrick, 1929 em condições de laboratório. Etapa 1: Exposição da glândula feromonal pela fêmea e reconhecimento de sinais olfativos pelos machos; Etapa 2: Vôo do macho em direção à fêmea; Etapa 3: Tentativas de cópula; Etapa 4: Cópula.



Fonte: Autor (2019).

Arte: Lavirnia Maria Dantas Castro

De acordo com as observações realizadas, durante a quarta e quinta hora da escotofase ocorre o comportamento sexual de *A. binocularis*. Dessa forma, nesse período existe uma possibilidade maior de que a fêmea esteja liberando compostos voláteis para atração do macho para a cópula, sendo este o momento ideal para acontecer a coleta de voláteis para estudos da composição feromonal dessa espécie. Um esquema simplificado das ações de macho e fêmea durante o período de maior atividade do comportamento sexual, representado em horas da escotofase, está demonstrado a seguir.

3.3.5 Identificação das sensilas presentes nas antenas de machos de *A. binocularis*

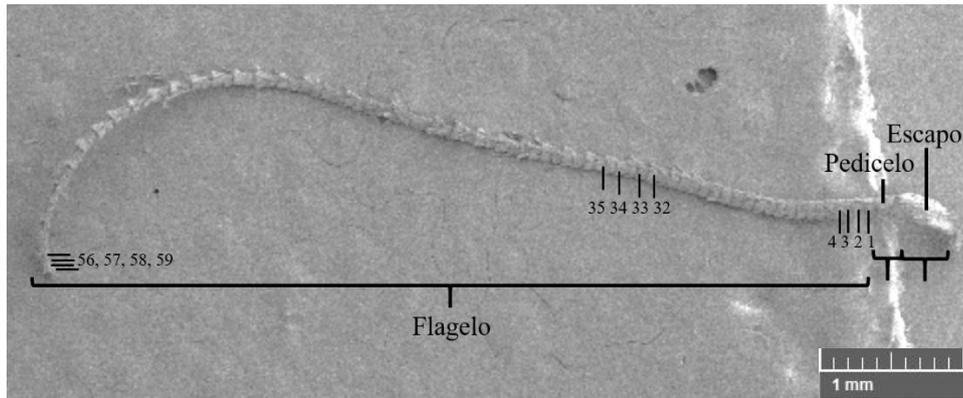
As antenas de machos de *A. binocularis* tenham em média $4,97 \pm 0,01$ milímetros de comprimento, $0,33 \pm 0,01$ mm o escapo, $0,11 \pm 0,0$ mm o pedicelo e $4,53 \pm 0,0$ mm o flagelo, este apresentando 23 flagelômeros curtos na base, 32 largos com dupla camada de escamas em cada flagelômero e 4 curtos no ápice da antena, contabilizados um total de 59 flagelômeros, sendo observadas a presença de sensilas em todo o flagelo principalmente na região ventral (Figura 15).

Foi observado a presença de sensilas dos tipos tricoide (Tc), coelocônica (Co), auricífica (Au), esquamiforme (Sq) e caética (Ct), em antenas de *A. binocularis* (Figura 17). As sensilas tricoides foram encontradas em dois tipos e chamadas de Tc I, as que apresentaram maior comprimento e Tc II as de menores comprimentos. O mesmo aconteceu para sensilas caéticas e foram denominadas neste trabalho como Ct I e Ct II (Tabela 3).

Tabela 3 – Média e erro padrão da média (EP) do comprimento e largura basal das sensilas presente nas antenas de machos de *Anthistarcha binocularis* Meyrick, 1929 (Lepidoptera: Gelechiidae).

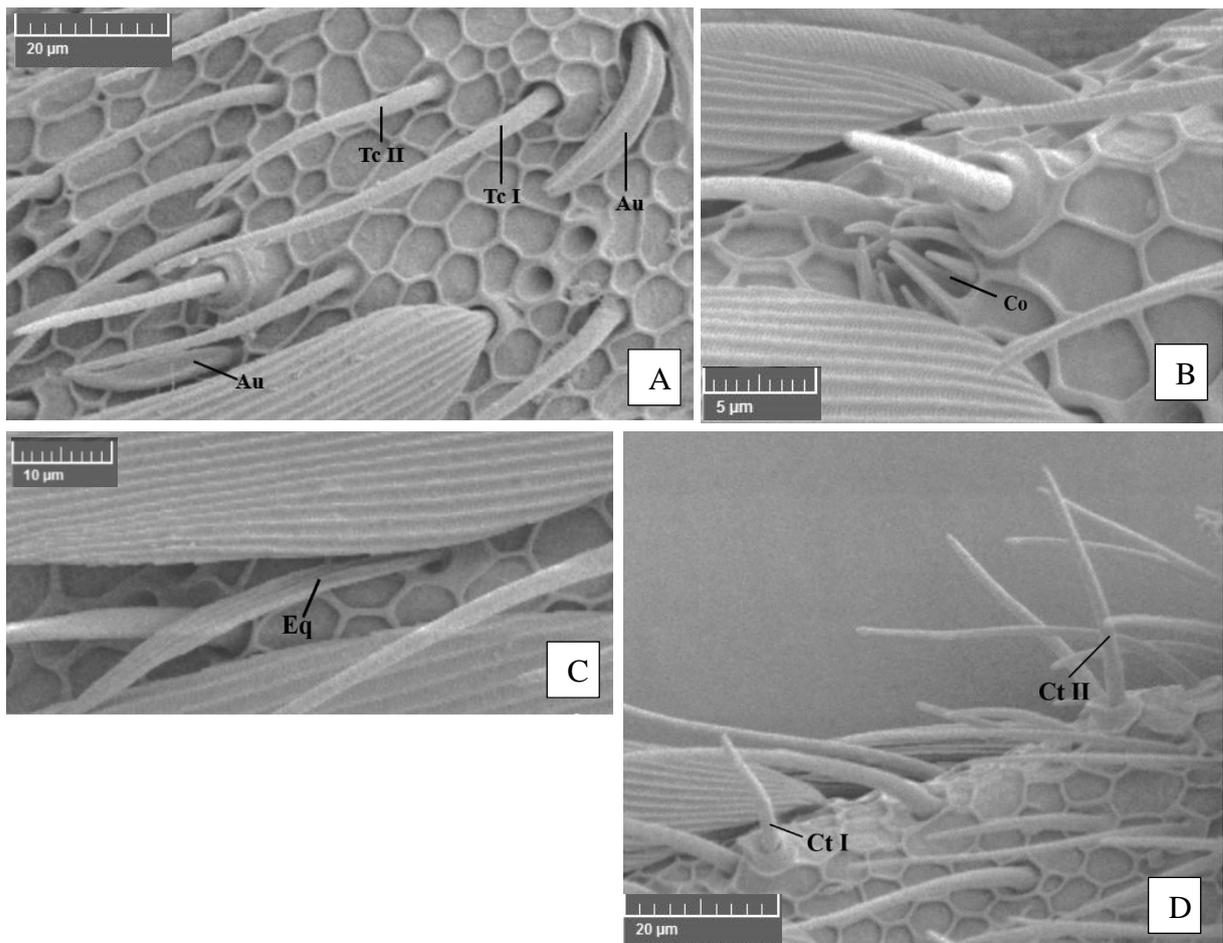
	Comprimento (μm)	Largura basal (μm)
Tricoide (Tc I)	$22,0 \pm 0,60$	$3,3 \pm 0,07$
Tricoide (Tc II)	$29,6 \pm 0,42$	$3 \pm 0,09$
Auricífica	$12,8 \pm 0,22$	$2,6 \pm 0,15$
Coelocônica	$3,7 \pm 0,11$	$5,6 \pm 0,22$
Esquamiforme	$21,3 \pm 0,44$	$1,91 \pm 0,05$
Caética (Ct I)	$30,5 \pm 0,38$	$2,9 \pm 0,10$
Caética (Ct II)	$14,7 \pm 0,70$	$3,4 \pm 0,26$

Figura 15 – Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da antena de *Anthistarcha binocularis*.



Fonte: Autor (2019).

Figura 16 – Microscopia eletrônica de varredura (MEV) de sensilas dos tipos tricoide (Tc I, Tc II), auricúlica (Au) (A); coelocônica (Co) (B); esquamiforme (Sq) (C) e caética (Ct I e Ct II) (D) em *Anthistarcha binocularis* Meyrick, 1929 (Lepidoptera: Gelechiidae).



Fonte: Autor (2019).

3.4 DISCUSSÃO

Informações acerca de métodos de proteção de cultivo de caju ainda são escassas na literatura. Com o aumento de áreas plantadas e da demanda por produtos derivados da cultura, as pesquisas sobre os métodos e manejos de produção agrícola vem aumentando, contudo, a maior parte das pesquisas publicadas sobre o tema são com relação as propriedades nutricionais e industriais da cultura (DAS; ARORA, 2017).

Com o objetivo de atualizar e tornar relevante as informações sobre métodos de sistemas de cultivo de caju Figueirêdo et al. (2016), em estudo de caso avaliando dois sistemas de cultivos e suas implicações no impacto ambiental, observaram que sistemas que priorizam todos os tratos culturais como o uso de fertilizantes, e produtos fitossanitários, aumentaram os rendimentos por área colhida de caju, mas tiveram alto impacto ambiental e que os principais influenciadores da produtividade, no entanto, foram os fatores climáticos e disponibilidade hídrica. Dessa forma, com o crescimento das áreas de cultivo de caju, o conhecimento sobre os insetos pragas da cultura e seus hábitos facilita na escolha de métodos com menor impacto ambiental ao agrossistema.

Em 1929, Bondar identifica e caracteriza pela primeira vez infestações de *A. binocularis* em plantações de cajueiro na Bahia, ele descreve as injúrias como sendo causadas por uma pequena lagarta que fura os rebentos novos e principalmente os pedúnculos das inflorescências, causando murcha e morte da inflorescência e até mesmo nas folhas anteriores a inflorescência e, o inseto como pequenos lepidópteros de cor acinzentada.

O hábito endofítico para alimentação no estágio de lagarta, dificulta estudos acerca da biologia da praga. Em trabalho avaliando dois métodos de criação, o primeiro com troca de ramos a cada dois dias e o segundo apenas quando o ramo estivesse seco, observou-se alta mortalidade na fase larval, tanto pela abertura do ramo para verificações como para troca dos mesmos (BLEICHER et al., 2007). No presente trabalho, essas características também foram observadas nos experimentos de criação da praga, e seguimos o indicado pelo autor como melhor forma de criação com alimento natural.

Ainda segundo os mesmos autores a criação com troca de ramos a cada dois dias proporcionou uma duração média de 33,7; 10,7 e 6,5 dias para lagarta, pupa e adulto respectivamente, e para ramos trocados após estarem secos de 35,5; 14,0 e 6,3 dias. Os valores médios da duração dos estágios de lagarta semelhante em relação ao reproduzido nesse trabalho, no entanto, os valores para a média de dias de pupas são divergentes já que nas condições de realização dessa pesquisa foi observada uma média de 6,93 dias para esse estágio.

A família Gelechiidae possui uma diversidade muito grande entre os ciclos biológicos dos indivíduos, como por exemplo, a traça-do-tomateiro, *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917), uma das espécies mais pesquisadas do gênero desta família, apresenta em média oviposição de 205 ovos, e duração de 13; 8 e 26 dias para as fases de lagarta, pupa e adulto, respectivamente (BORGONI; CARVALHO, 2006). Valores estes que diferem dos obtidos nesse trabalho, como exemplo, o período larval de 33 dias para *A. binocularis* e apenas 13 para *T. absoluta*.

Para traça-da-espiga-do-milho, *Dichomeris famulata* (Meyrick, 1917), um microlepidóptero da referida família, observou-se que o período de desenvolvimento das fases de ovo (4 dias) e pupa (8 dias), assemelham-se aos resultados de *A. binocularis*, já para o período larval foi inferior ao da broca-das-pontas (21 dias) e longevidade de 37 para fêmeas e 44 para machos (MARQUES et al., 2011).

As características morfológicas dos adultos de *T. absoluta* e *D. famulata* de forma geral são semelhantes às de *A. binocularis*, com asas anteriores de coloração acinzentadas com pontuações pretas, esta última característica é comum de ser encontrada em espécies dessa família, e as asas posteriores franjadas. Algumas tonalidades dessas pontuações em preto podem tornar-se em formatos de manchas nas asas como é o caso de *Caryocolum peregrinella* Herrich-Schaffer, 1854 que tem as asas em coloração de manchas pretas e cinzas diferenciando das demais desse gênero (HECKFORD, 2012).

O comportamento sexual de *A. binocularis* assemelha-se ao observado por Hickel e colaboradores (1991) em *T. absoluta*, cuja características de início do comportamento feitas pelas fêmeas e o comportamento do macho parado e as tentativas de cópulas com entradas e reentradas circulares à fêmea, são exemplos das semelhanças desses hábitos. Os autores também observaram que ocorreram 6,5 acasalamentos durante todo o estágio adulto da fêmea, considerando que este período dura em média 22,5 dias, poucos acasalamentos, comparando com *A. binocularis*, que tem uma média de três acasalamentos e apenas sete dias de longevidade.

Neste trabalho o acasalamento aconteceu 24h após a emergência dos adultos, não sendo observado dificuldades para que ocorresse a cópula, bem como também não foi percebido em nenhuma das repetições a rejeição da fêmea ao macho. Para *P. gossypiella*, foi observado que as fêmeas que tiveram dificuldade de vôo, ou que não praticaram vôos durante o primeiro dia após a emergência tiveram número de cópulas e fecundidade reduzidas (WU et al., 2013).

Na maioria das espécies relatadas de Lepidoptera, o principal sistema utilizado para encontro do macho e fêmea sexualmente maduros é caracterizado pelo vôo do macho em direção a fêmea, que está produzindo e liberando feromônio, sendo estes a troca de sinais a

longo alcance, a curto alcance a troca de sinais constitui a corte (RINGO, 1996; CARDÉ; MINKS, 1995).

Após o acasalamento algumas fêmeas pode-se tornar menos receptivas devido a liberação de um peptídeo produzido pelas glândulas acessórias dos machos durante a cópula, esse efeito aumenta quando as fêmeas são expostas a cópula com os mesmos machos, quando há um retardo no momento de cópula pelo macho, havendo menor produção de espermatozoides, e quando o macho já realizou acasalamento prévios, pela diminuição da produção e transferência dos espermatozoides (Mc NEIL; DELISLE; CUSSON, 1997).

Nesse experimento manteve-se o mesmo casal até o final do seu ciclo, o que pode ter influência no número de oviposição por fêmeas de acordo com o descrito na literatura. Outro trabalho sugere que fêmeas em poliandria, acasalamentos com vários machos, tiveram maiores sucessos reprodutivos e de oviposição, e as chances são aumentadas quando são machos virgens (LEE; ALBAJES; EIZAGUIRREF, 2014).

O cortejo e a cópula de mariposas são comportamentos importantes para caracterização dos eventos de localização, liberação e recepção de feromônios sexuais que regulam os comportamentos de acasalamento (ROTHSCHILD, 1981). Antenas de machos têm um grande número de sensilas que contêm neurônios receptores olfativos específicos para componentes dos feromônios sexuais feminino (SCHLAMP et al, 2006).

Geralmente as sensilas com poros distribuídos sobre as paredes cuticulares estão envolvidas na quimiorrecepção. Nesse estudo, cinco diferentes tipos de sensilas foram identificadas nas antenas de *A. binocularis*. As sensilas tricoide, coelocônica e auricílica têm poros nas paredes cuticulares, sugerindo que podem estar associadas ao olfato da mariposa, as mesmas sensilas foram encontradas na *Sitotroga cerealella* Oliver, 1789 (Lepidoptera: Gelechiidae) (MA et al, 2017).

Muitos estudos demonstram que as sensilas tricoides Tr I e Tr II com poros bem desenvolvidos em suas paredes cuticulares contêm receptores olfativos que detectam os feromônios sexuais (KEIL, 1989; DOLZER, FISCHER, STENGL, 2003). Para a sensila coelocônica também foram observados dois subtipos, estas paredes duplas e a sensibilidade multiporosa poderia ser exclusivamente olfativa (SHIELDS, HILDEBRAND, 1999) é atribuída a elas a possibilidade de higrorrecepção e termorrecepção (ALTNER et al, 1983) e na percepção de CO₂ (STANGE, STOWE, 1999).

As sensilas auricílicas tem sido descritas como receptoras de voláteis de plantas e de feromônios sexuais de baixa concentração (ANDERSON, HALLBERG, SUBCHEV, 2000; EBBINGHAUS et al, 1997). A função das sensilas esquamiforme não está bem documentada,

por sua estrutura de parede não porosa, indica uma função não olfatória, e podem ter função mecanorreceptores (MARK, PARSON, HOLWELL, 2018), talvez envolvidos na percepção de movimentos aéreos. Sensilas caéticas estão sendo relatadas com funções de recepção mecânica e química devido a sua base flexível e abertura terminal (SCHNEIDER, 1964), podendo desempenhar um papel na orientação do comportamento de oviposição de fêmeas (BAWIN et al., 2017).

Este é o primeiro trabalho realizado com comportamento sexual de *A. binocularis*, importante para estudos posteriores da identificação do feromônio sexual da espécie e utilização dessas informações para trabalhos futuros com ecologia química dessa praga, bem como na utilização de semioquímicos para controle comportamental da praga na cultura do caju.

O conhecimento acerca de características morfológicas e do ciclo biológico de *A. binocularis* fornece informações da biologia básica que podem auxiliar na identificação e ocorrência da espécie e suas injúrias no campo.

As informações sobre os hábitos e o comportamento reprodutivo de *A. binocularis* podem ser empregadas para ajustar os atuais programas de manejo da praga na cultura do cajueiro anão precoce, especialmente no Nordeste brasileiro, como por exemplo, o momento correto para aplicação de produtos fitossanitários ou servir de base para pesquisas que utilizam controle comportamental.

3.5 CONCLUSÃO

A descrição dos dados morfológicos e morfométricos permite diferenciar machos e fêmeas nos estágios de pupas e adulto. As injúrias causadas por *A. binocularis*, pela seca da inflorescência e morte das brotações, facilitam a localização da praga no campo. A praga tem hábitos reprodutivos noturno, e os machos apresentam as sensilas tricoide, auricífica e coelocônica, receptivas a feromônio.

REFERÊNCIAS

- ALTNER, H. et al. Poreless sensilla with inflexible sockets. **Cell Tissue Research**, v. 234, p. 279–307, 1983.
- ANDERSON, P.; HALLBERG, E.; SUBCHEV, M. Morphology of antennal sensilla auricillica and their detection of plant volatiles in the Herald moth, *Scoliopteryx libatrix* L. (Lepidoptera: Noctuidae). **Arthropod Structure and Development**, v. 29, p. 33–41, 2000.
- BAWIN, T. et al. Structure and Distribution of the Sensilla on the Antennae of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Micron**, v. 96, p. 16–28, 2017.
- BLEICHER, E. et al. Aspectos da biologia de *Anthistarcha binoculari* Meyrick, 1929 em inflorescência de cajueiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 37, n. 1, p. 57-59, 2007.
- BOGORNÍ, P. C.; CARVALHO, G. S. Biologia de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) em diferentes cultivares de *Lycopersicon esculentum* Mill. **Bioikos**, v.20, n.2, p. 49-61, 2006.
- BONDAR, G. A broca das pontas dos cajueiros. **Correio Agrícola da Bahia**, v.7, n.11, p. 297-298, 1929.
- CARDÉ, R.T.; MINKS, A. K. Control of moth pests by mating disruption: successes and constraints. **Annual Review Entomology**, v.40, p. 559 – 585, 1995.
- CARVALHO, R. L. L. et al. Controle alternativo de *Sitotroga cerealella* em sementes de milho armazenadas. **Biodiversidade**, v.16, n.1, p. 101-111, 2017.
- DAS, I.; ARORA, A. Post-harvest processing technology for cashew apple A review. **Journal of Food Engineering**, v.194, p. 87 - 98, 2017.
- DELGADO, C; COUTURIER, G. Principaux insectes nuisibles à l'anacardier en Amazonie peruvienne. Données préliminaires. **Fruits**, vol. 69, n.4, p. 293-302, 2014.
- DOLZER, J.; FISCHER, K.; STENGL, M. Adaptation in pheromone-sensitive trichoid sensilla of the hawkmoth *Manduca sexta*. **Journal of Experimental Biology**, v. 206, p. 1575–1588, 2003.
- EBBINGHAUS, D. et al. Detection of major and minor sex pheromone components by the male codling moth *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae). **Journal Insect Physiology**, v. 44, p. 49–58, 1997.
- FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Key statistics of food and agriculture external trade, 2018. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/342/default.aspx>> Acesso em: 15 jul. 2018.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

FIGUEIRÊDO, M. C. B. et al. Environmental assessment of tropical perennial crops: the case of the Brazilian cashew. **Journal of Cleaner Production**, v. 112, p. 131-140, 2016.

HECKFORD, R. J. *Caryocolum peregrinella* (Herrich-Schäffer, 1854) new to Spain and notes on the biology (Lepidoptera: Gelechiidae). **SHILAP Revista Lepidoptera**, v.40, n. 159, p. 311-314, 2012.

HICKEL, E. R. et al. Comportamento de acasalamento de *Scrobipalpula absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 26, n.6, p. 827-835, 1991.

KEIL, T. A. Fine structure of the pheromone-sensitive sensilla on the antenna of the hawkmoth, *Manduca sexta*. **Tissue Cell**, v. 21, p. 139–151, 1989.

LEE, M. S.; ALBAJES, R.; EIZAGUIRRE, M. Mating behaviour of female *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae): polyandry in creases reproductive output. **Pest Science**, v. 87, p. 429–439, 2014.

MA, M. et al. Ultrastructure of sensilla of antennae and ovipositor of *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae) and location of female sex pheromone gland. **Science Report**, v. 7, n. 40637, 12 p., 2017.

MARK, C. J.; PARSON, S.; HOLWELL, G. I. Antennal morphology and micro-sensory architecture of the New Zealand magpie moth, *Nyctemera annulata* (Lepidoptera: Erebidiae): diversity, distribution and dimorphism. **Austral Entomology**, v. 57, p. 303-323, 2018.

MARQUES, L. H. S. F. et al. Biologia de *Dichomeris famulata* Meyrick, 1914 (Lepidoptera: Gelechiidae) em milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.41, n.1, p.108-112, 2011.

MCNEIL, J. N.; DELISLE, J.; CUSSON, M. Regulation of pheromone production in Lepidoptera: the need for an ecological perspective. p. 31-41. In: R. T. Cardé; A. K. Minks (eds), **Insect pheromone research: new directions**. New York, Chapman Hall, 684p. 1997.

MESQUITA, A. L. M. M. et al. Controle da traça-da-castanha com produtos à base de óleos essenciais e hidrolatos. **Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical**, 2008. 3p. (Embrapa Agroindústria Tropical, Comunicado técnico, 135) Disponível em: <http://www.cnpat.embrapa.br/cnpat/down/index.php?pub/cot_135.pdf> Acesso em: 13 jul. 2015.

MESQUITA, A. L. M. et al. Reação de clones de cajueiro-anão-precoce ao ataque da broca-das-pontas. **Essentia**, v. 12, p. 43-49, 2011.

MESQUITA, A.L.M.; BRAGA SOBRINHO, R. Pragas e doenças do cajueiro. In: ARAÚJO, J.P.P. (Ed.). **Agronegócio caju: práticas e inovações**, Brasília: Embrapa, p. 195-215, 2013.

PRATISSOLI, D. et al. Aspectos biológicos da Traça-da-Batatinha *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Ciência Rural**, v. 33, n. 6, p. 1153-1155, 2003.

RESH, V. H.; CARDÉ, R. T. **Encyclopedia of insects**. Edit: Academic Press, second edition, 2009, p.576.

RINGO, J. Sexual receptivity in insects. **Annual Review Entomology**, v.41, p. 473 – 494, 1996.

ROMANO, D.; PAPA, G. Ocorrência de lepidópteros-praga na cultura do algodoeiro transgênico (BT) e convencional cultivado no sistema adensado e não-adensado com e sem aplicação de inseticidas. **Cultura Agrônômica**, v.24, n.4, p.281-292, 2015.

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., Plenum, p. 207–228, 1981.

SCHLAMP, K. K. et al. Diel periodicity of sexual communication in *Anarsia lineatella* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Canadian Entomologist**, v. 138, p. 384–389, 2006.

SCHNEIDER, D. Insect antennae. **Annual Review Entomology**, v. 9, p. 103–122, 1964.

SHIELDS, V. D. C.; HILDEBRAND, J. G. Fine structure of antennal sensilla of the female sphinx moth, *Manduca sexta* (Lepidoptera: Sphingidae). I. Trichoid and basiconic sensilla. **Canadian Journal Zoology**, v. 77, p. 290–301, 1999.

STANGE, G.; STOWE, S. Carbon-dioxide sensing structures in terrestrial arthropods. **Microscopy Research and Technique**, v. 47, p. 416–427, 1999.

WU, H-H. et al. Emergence, Mating and Oviposition Behavior of the Chinese Population in pinkbollworm, *Pectinophora gossypiella* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Journal of Integrative Agriculture**, v. 12, n. 4, p. 653-662, 2013.

**4 IDENTIFICAÇÃO DO FEROMÔNIO SEXUAL DE FÊMEAS DE BROCA DAS
PONTAS DO CAJUEIRO *Anthistarcha binocularis* MEYRICK, 1929**

4.1 INTRODUÇÃO

A cajucultura tem como principal produto a amêndoa da castanha de caju (ACC), sendo esta, uma das mais comercializadas no mercado mundial de nozes comestíveis (CAVALCANTI JÚNIOR, 2013). Além da ACC, o cajueiro tem como outros produtos de importância econômica o líquido da casca da castanha (LCC) e o pedúnculo (pseudofruto comestível) (CONAB, 2017).

De acordo com a FAO (2018), 198 países produzem castanha de caju, dentre os quais sobressaem os países asiáticos e africanos como, Vietnã, Nigéria, Índia e Costa do Marfim que foram os principais produtores mundiais de castanha-de-caju em 2016, com 70,6% da produção global do produto. Esta cultura é expressiva no Nordeste brasileiro com uma área plantada de cerca de 660 mil há. Na safra 2017 o Brasil teve uma produção de 134.580 mil toneladas de castanha-de-caju, liderada pelos estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte, que juntos produziram 122 mil toneladas (IBGE, 2018). O Brasil desempenhou um papel de liderança no cenário global do comércio do caju, mas a produção vem declinando desde 2005, não atingindo os níveis de produção global em grande parte devido a problemas hídricos e fitossanitários (VIDAL, 2017).

Os países produtores de caju enfrentam o desafio de controlar os danos causados por mais de 190 espécies de insetos que interferem na produção de caju. A perda significativa de rendimento resulta de danos na folhagem e nos frutos, levando a morte das brotações florais e ao abortamento precoce de frutos jovens (DENDENA; CORSI, 2014). No Brasil, *Anthistarcha binocularis* Meyrick, 1929, é uma traça da família Gelechiidae que causa injúrias às plantas de cajueiro no período de floração, realizando a oviposição na porção terminal das inflorescências. As lagartas recém eclodidas penetram no tecido vegetal e alimentam-se da parte lignificada do ramo, impedindo a passagem de nutrientes para as estruturas florais. Dessa forma, surgem as injúrias característicos de ataque dessa praga, que são: murcha seguida de seca das inflorescências e quebra do ramo no local do orifício de saída do inseto adulto, na forma de uma mariposa pequena acinzentada com asas esbranquiçadas (MESQUITA et al., 2011).

Em função da fenologia do cajueiro a maior ocorrência de broca-das-pontas no campo vai do início do florescimento, quando ocorre a formação de panículas, até a colheita, estando também presente em todas as fases reprodutivas da cultura, e em brotações de novos ramos. As lagartas têm preferência alimentar por tecidos novos para perfurar e entrar na parte lignificada do ramo, onde há passagem de nutrientes (MESQUITA; BRAGA SOBRINHO, 2013).

Os problemas fitossanitários, também concorrem para o declínio da produção dos pomares, tanto para a castanha quanto para o pedúnculo. Para muitas das pragas relatadas, à

medida que se tornam problema para a cultura, é necessário que se estabeleçam estratégias de controle (MESQUITA; BRAGA SOBRINHO, 2013). A detecção, monitoramento e controle precoces de *A. binocularis* são importantes para minimizar os danos às plantas. Atualmente, o piretróide deltametrina, classificado como altamente tóxico, é o único agente químico disponível para o controle de *A. binocularis* no país (AGROFIT, 2019). Além disso, os inseticidas que atuam por contato têm limitações de controle, pois as larvas de *A. binocularis* não são atingidas devido a seus hábitos alimentares endofíticos.

Técnicas de controle que atuam na fase adulta como ruptura de acasalamento ou armadilhagem em massa com armadilhas de feromônio espécie-específica têm sido uma ferramenta útil para monitoramento e controle em muitas espécies de Lepidoptera (WITZGALL; KIRSCH; CORK, 2010). Como por exemplo, E11-16:Ald e E12-16:Ald para *Diaphania glauculalis* Guenée, 1854 (Lepidoptera: Crambidae) (MA et al., 2015), e Z5,E7-12:OAc, Z5,E7-12:OH, and Z5-12:OAc para o feromônio sexual de *Dendrolimus kikuchii* Matsumura (Lepidoptera: Lasiocampidae) (KONG et al. 2011). De acordo com El-Sayed (2018), feromônios sexuais já foram descritos em mais de 70 espécies de 40 gêneros dessa família e caracterizam-se geralmente como acetatos mono ou poli-insaturados com 10 a 18 átomos de carbono.

Não há na literatura dados sobre a utilização de semioquímicos no manejo de *A. binocularis* em cajueiros. A utilização de substâncias químicas intraespecíficas para modificação de comportamento e ações de insetos pragas em cultivos agrícolas é uma ferramenta ecológica para controle ou monitoramento destes insetos. Pela especificidade de ação, o uso de feromônio não interfere na ecologia ambiental, insetos polinizadores e não é tóxico a seres humanos, e pode ser integrado ao Manejo Integrado de Pragas (GOULART et al., 2015). Então, desenvolver métodos para monitorar a dinâmica populacional de *A. binocularis* ajudará os produtores de castanha de caju a escolher o momento correto de suas aplicações.

Por possuírem hábitos alimentares endofíticos, o controle da broca-das-pontas e traça-da-castanha na fase de lagarta é dificultado devido as pulverizações não atingirem o alvo a ser controlado. Dessa forma um método que proporcione a redução da população na fase adulta, fase em que os insetos não ficam alojados nos ramos, será mais viável e útil para os produtores como forma de monitoramento e controle da população das pragas. Esse é o primeiro estudo sobre a ecologia química de *A. binocularis*. A investigação do comportamento de cômte, acasalamento, extração, isolamento e identificação dos compostos químicos envolvidos nesse processo podem contribuir significativamente para a evolução das técnicas de manejo integrado

na cultura do caju tão necessárias pois esta cultura esta em expansão e com método de controle baseado unicamente no uso de inseticida, desenvolver uma técnica e viabiliza-la para grandes áreas como a do caju é importante sob aspectos econômicos, sociais e ambientais.

O objetivo do estudo foi identificar os principais componentes do feromônio sexual de *A. binocularis* e confirmar sua atividade biológica de atratividade em campo.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Coleta e criação dos Insetos

As larvas de *A. binocularis* foram coletadas em plantio de cajueiro anão precoce da variedade CCP 76 na cidade de Boca da Mata, Alagoas, Brasil (9 ° 39'39,3 "S 36 ° 11'52,7" W) entre março e maio, e entre setembro e novembro de 2015/16, e na cidade de Picos, Piauí, Brasil (07°04'37" S 41° 28'01"W) no mês de Julho de 2016. No Laboratório de Pesquisas Químicas em Recursos Naturais (LPqRN), do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, as larvas foram transferidas individualmente para recipientes de vidro (10,0 cm de altura x 2,0 cm de diâmetro) e criadas em inflorescências de caju colhidas no campo até a fase de pupa, em sala a 25 ± 2 ° C, $80 \pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 10 h e escotofase de 14h.

As pupas foram classificadas por sexo e os adultos emergentes foram então mantidos nos mesmos recipientes de vidro e alimentados com solução aquosa de sacarose a 10%. A pesquisa foi desenvolvida no LPqRN sobre registro no SISGEN e CGEN (n.º 010428/2012-7).

4.2.2 Teste de atratividade sexual

Para fins de identificação e confirmação de qual gênero fazia o chamamento para cópula, foram feitos bioensaios de atratividade sexual. Utilizou-se câmaras de vidro (20x10x15 cm), com uma arena (5x 2,5 cm) confeccionada em tecido voil, esta foi suspensa no alto da câmara. Os insetos individualizados em tubos eram testados, 24h após a emergência, próximos e após a quinta hora da escotofase, horário em que se observou maior atividade de comportamento sexual da espécie.

As fêmeas e machos foram colocados individualmente suspensos dentro da arena, em seguida o inseto do sexo oposto foi liberado na câmara, para facilitar as avaliações visto que o tempo de chamamento era curto, foram confeccionadas mais de uma arena e as fêmeas foram

colocadas nelas antes do horário de chamamento, e quando era observado o início do chamamento montava-se o bioensaio (Figura 17).

Foi delimitado o tempo de 10 minutos por casal, num total de 15 repetições para machos e fêmeas, e inferido que o macho ao tentar cópulas na arena onde a fêmea se encontrava havia atratividade sexual pelos voláteis emitidos pela fêmea, e o contrário para ensaios com machos na arena e fêmeas na câmara. Foram usados um casal por vez e nenhum dos insetos foram utilizados mais de uma vez. Esse experimento foi registrado em fotos e vídeos para comprovação dos dados. Utilizou-se as mesmas condições climáticas da sala de criação para realização do experimento, com o emprego de lâmpada vermelha para facilitar as observações, 15 casais foram observados.

Figura 17 - Arena utilizada para observações de atratividade sexual de *Anthistarcha binocularis*.



Fonte: Autor, 2019.

4.2.3 Extração do feromônio sexual

Quando as fêmeas no momento de chamamento, dexavam expostas a glândula de feromônio sexual na porção final do abdom, e eram paralisados por resfriamento, por resfriamento em freezer a -20°C , para excisão da glândula sexual, geralmente da quarta para quinta hora da escotofase. A glândula após a excisão foi colocada em vial com hexano bidestilado (grau HPLC) e deixado por 30 minutos, logo após o sobrenadante removido, colocado em outro vial e acondicionado em freezer a -20°C até a cromatografia e análises de eletroantenografia.

Foram utilizadas fêmeas de 24h após a emergência para extração das glândulas, sendo utilizado 15uL por glândula para extração dos compostos, em extratos separados de 4 a 7 glândulas, num total de 80 glândulas amostradas por ano, em 2015 e 2016.

4.2.4 Análises químicas

A identificação dos compostos foi realizada através de análises individuais dos seus espectros de massas e comparação com os dados adquiridos pelo software do CG/EM, comparação com bancos de dados divulgados como pherobase e nist, com o Índice de Kovats calculado para cada composto e com a literatura. Para cálculo de IK foi usado padrão de n-alcenos de C7-C30 no mesmo método de análise para os extratos, e para a normalização de áreas dos compostos na amostra, utilizando tetradecano como padrão interno para quantificação.

As reações de acetilação foram feitas a partir do método de Yadav; Reddy (2000). A síntese dos compostos foi realizada para confirmar as estruturas propostas. A figura 18 é uma representação dos processos de identificação de feromônio sexual em mariposas.

4.2.4.1 CG/EM e CG/DIC

Extratos da glândula de feromônio foram analisados em um cromatógrafo a gás com interface para um detector de massa (CG/EM) (Shimadzu QB 2010 Ultra), equipado com uma coluna NST-1 (30m x 0.25mm x 0.25 μ m) operando em modo de ionização por impacto a 70 eV, com um faixa de varredura de 35 a 500 m / z. Foram injetadas 1 μ L das amostras no modo splitless e operadas sob fluxo de hélio de 1,37 mL / min. A temperatura do forno foi mantida a 50°C por 5 min, e então elevada em uma rampa de 8°C / min até 250°C, na qual ponto foi mantido por mais 5 min. A temperatura da fonte de íons permaneceu a 250 ° C e a interface a 220 ° C. As bibliotecas de espectros de massas NIST08 e WILEY229 foram usadas para identificações iniciais de compostos de feromônio, que foram subsequentemente comparados pelos tempos de retenção e dos espectros de massa com amostras sintéticas. Uma série de n-alcenos (C7– C30) foi usada para determinar Índices de Kováts (IK).

Um extrato de 4 glândulas sexual das fêmeas foi derivado a 40°C durante 15 horas em uma mistura de dissulfeto de dimetila (DMDS) (50 μ L) e solução de iodo em THF (60 mg / ml, 5 μ L) (INOMATA et al., 2000). Os derivados de dimetildissulfeto assim obtidos foram analisados por CG/EM com os mesmos parâmetros cromatográficos acima mencionados.

Uma solução em hexano de tetradecano (3 mg / L) foi usada como padrão interno para quantificar os compostos do feromônio através de análises por Cromatografia Gasosa com Detecção de Ionização por Chamas CG/DIC (Shimadzu 2010) equipado com uma coluna NST-

5 (30m x 0.25mm x 0.25 μ m). Foram utilizados os mesmos parâmetros cromatográficos mencionados para CG/EM.

4.2.4.2 Sínteses

Todos os reagentes utilizados para derivatização de DMDS e para as sínteses de (*E*)-dodec-1-en-1-ol, (*Z*)-dodec-6-en-1-ol e seus acetatos correspondentes foram adquiridos da Sigma-Aldrich. Os solventes utilizados para análises de cromatografia e preparação de extractos de glândulas foram de grau de HPLC (Sigma-Aldrich), enquanto os solventes utilizados para sínteses foram P. A. (Vetec). As sínteses foram realizadas no Laboratório de Síntese Química (LPqRN) do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas (BARCELLOS FRANÇA, 2018).

4.2.5 Análises eletroantenográficas

Os compostos ativos foram determinados inicialmente por eletroantenografia. As antenas foram retiradas de machos vivos com 2 dias de idade e fixadas em eletrodos de Ag utilizando gel condutor. Foram utilizadas 20 antenas de 20 insetos, uma por vez.

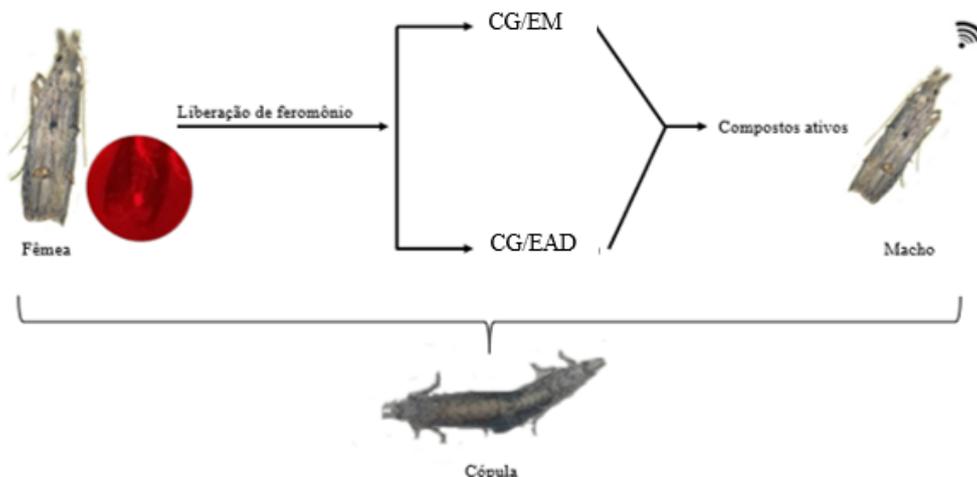
Um cromatografo a gás da marca Shimadzu CG-2010, equipado com uma coluna RTX-5 (30m x 0,25 mm x 0,25 μ m) operando no modo splitless, tendo o hidrogênio como gás de arraste (2,80 mL / min) acoplado à um eletroantenograma, CG-EAD, foi usado para análises. O efluente da coluna foi dividido, na proporção de 1: 1, entre o detector de ionização de chama (DIC) e o EAD. A temperatura do forno foi mantida a 50 ° C durante 5 min, seguida de elevação a 8 ° C / min a 240 ° C, mantida durante 10 min. As antenas de machos de 2 dias de idade foram removidas e colocadas imediatamente entre dois eletrodos de prata. A conexão elétrica foi obtida usando gel condutor. Os eletrodos foram conectados através de uma caixa de interface a uma placa de interface de aquisição de sinais (IDAC-4; Syntech, Holanda) conectada a um computador.

As respostas EAD e os sinais DIC do CG foram gravados simultaneamente usando o software AutoSpike (Syntech, Holanda). As gravações foram feitas em um fluxo contínuo de ar umidificado com um Controlador Stimulus CS-55 (Syntech, Inc., Hilversum, Holanda). Antenas de machos de *A. binocularis* foram testadas usando extratos glandulares de fêmeas co-específicas (N = 20). Apenas aqueles compostos que provocaram respostas em pelo menos 10 antenas testadas foram considerados eletrofisiologicamente ativos.

Respostas eletroantonométricas de antenas de machos de 2 dias de idade foram investigadas com os seguintes tratamentos: (1) controle com hexano; (2) Z6-12: OH; (3) Z6-12: OAc; (4) E6-12: OH e (5) E6-12: OAc. De cada composto foi colocado 0,5 µg em uma tira de papel de filtro dentro de uma pipeta de vidro, e as gravações de EAG foram obtidas de 3 antenas para cada tratamento, perfazendo um total de 15 machos. A magnitude de cada resposta antenal foi medida usando Syntech EAGPro 2.0.2 (Syntech, Holanda). O estímulo foi gerado com um controlador Syntech CS-55 com duração de pulso de 0,5 s. Os dados foram analisados pela análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey ($\alpha = 0,05$), utilizando o software SISVAR 5.6.19 (FERREIRA, 2011). Cada solução foi testada uma vez e esperado um minuto para despolarização da antena para prosseguir o experimento.

Análises individuais dos extratos deu-se, através do cálculo de IK, e comparação com extratos já injetados e analisados no CG/DIC e CG/EM (Figura 18).

Figura 18 - Representação simplificada de processos para identificação do feromônio sexual de *Anthistarcha binocularis* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae).



Fonte: Autor, 2019.

4.2.6 Teste de atratividade em campo

Teste de campo foi realizado de 22 de julho a 27 de julho de 2018 em Amarante, Piauí, Brasil (06°14'28 "S 42°51'17" W), início do período de floração, com armadilhas delta (20 cm de comprimento × 20 cm de largura) e dispensadores (pequenos septos de borracha cinza, 8 mm diam). Duas misturas binárias de compostos feromônicos (Z6-12: OH / Z6-12: OAc e E6-12: OH / E6-12: OAc) em duas doses (100 µg e 250 µg) foram preparadas em hexano e um

tratamento controle utilizando apenas hexano. As soluções foram pipetadas na ranhura do dispensador e foram completamente infiltradas para uso imediato.

Cada isca foi colocada no centro de uma armadilha tipo Delta, e as armadilhas foram penduradas nas plantas a 2,0-3,0 m acima do solo, em intervalos de 50 m nos pomares de caju. Cinco repetições foram arranjadas em um delineamento de blocos inteiramente casualizados para cada tratamento. Fizemos análises de variância (ANOVA) para o modelo linear generalizado (GLM) em relação aos efeitos do tipo de mistura (E6-12: OH / E6-12: OAc, Z6-12: OH / Z6-12: OAc, e o controle com Hexane), dose de mistura (100 e 250 μg) e a interação entre eles no número de mariposas machos capturadas. Além disso, o teste z para cada combinação de tratamentos foi realizado. O modelo assume uma distribuição de probabilidade de Poisson ($\alpha = 0,05$). O software utilizado foi R 3.5.0 (R CORE TEAM, 2018) para análises e Past 3.20 (HAMMER et al., 2001) para gráficos.

4.3 RESULTADOS

4.3.1 Teste de atratividade sexual

No experimento de atratividade sexual, foi observado que em todos os casais avaliados os machos apresentaram comportamento de tentativas de cópula (Figura 19), ao tentar tocar a fêmea com o órgão copulatório sucessivas vezes. O macho tocava sucessivas vezes a parede de tela onde a fêmea estava confinada. Foi possível também observar comportamento como, caminhadas em círculos no chão da arena abaixo da gaiola, voos agitados e caminhadas com giros ao redor do seu próprio corpo. Este comportamento é característico de comportamento de cópula e assim podemos propor que existem compostos produzidos e liberados pela fêmea para atração do macho para cópula.

Figura 19 - Confirmação de atratividade sexual de machos por feromônio produzido e liberado por fêmea de *Anthistarcha binocularis*, Meyrick, 1929 em teste experimental em laboratório.



Fonte: Autor, 2019.

4.3.2 Identificação do feromônio sexual de *Anthistarcha binocularis*

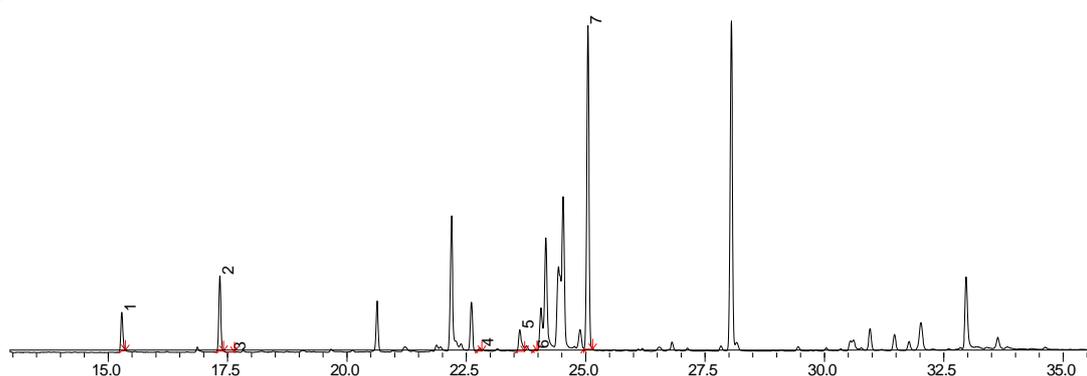
Os compostos obtidos dos extratos de glândulas sexuais de fêmeas coletadas nos estados de Alagoas e Piauí, analisados em CG/EM, foram acetatos, álcoois e ésteres, de 9 a 22 carbonos saturados e insaturados. Foram identificados como prováveis componentes do feromônio de broca das pontas 7 compostos, dentre estes dois apresentaram atividade eletroantegráfica e 5 compostos não apresentaram (Tabela 4, Figura 20). Estes compostos foram identificados por espectrometria de massas através da análise do espectro, análises do Índice de Kovats, comparação com padrão sintético (Figura 21,22) e comparação com dados nas bases Pherobase e Nist.

Tabela 4 - Composição química dos compostos saturados, presentes no extrato da glândula sexual de *Anthistarcha binocularis* Meyrick, 1929 coletadas nos estados de Alagoas e Piauí.

Composto	T.R./I.K. ¹ Amostra	T.R./I.K. ¹ Padrão	MW ²	Fórmulas
3 Acetato de dodecanila	17.586 / 1593	17.591 / 1592	228	C ₁₄ H ₂₈ O ₂
4 Acetato de hexadecanila	22.779 / 1992	22.782 / 1992	284	C ₁₈ H ₃₆ O ₂
5 Octadecanol	23.616 / 2064	23.616 / 2064	270	C ₁₈ H ₃₈ O
6 Acetato de heptadecanila	23.934 / 2092	23.935 / 2092	298	C ₁₉ H ₃₈ O ₂
7 Acetato de octadecanila	25.044 / 2192	25.044 / 2192	312	C ₂₀ H ₄₀ O ₂

¹ T.R./I.K. – Tempo de Retenção/Índice de Kovats; ² MW – Massa do composto

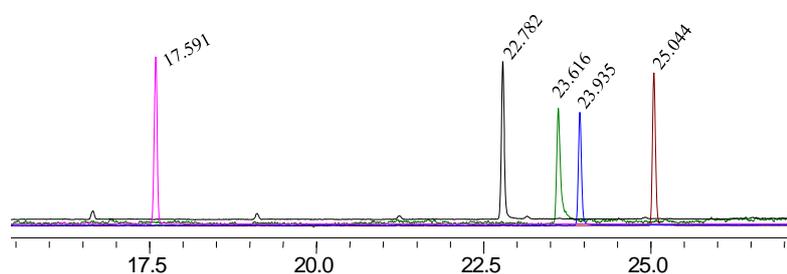
Figura 20 - Cromatograma de íons totais do extrato da glândula sexual de *Anthistarcha binocularis* Meyrick, 1929.



*A numeração representa a ordem dos compostos apresentada na Tabela 4.

Fonte: Autor, 2019.

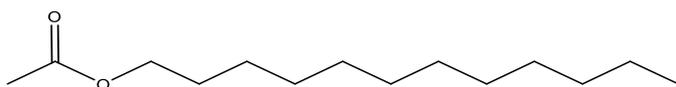
Figura 21 - Cromatogramas dos padrões sintéticos¹ dos compostos não ativos em eletroantenografia presentes no extrato de *Anthistarcha binocularis* Meyrick, 1929 com tempos de retenção.



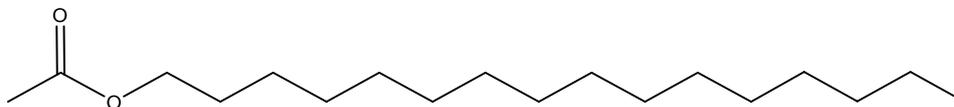
¹ Linha rosa - Acetato de dodecanila; Linha preta – Acetato de hexadecanila; Linha verde – Octadecanol; Linha azul – Acetato heptadecanila; Linha Marrom – Acetato de octadecanila.

Figura 22 - Estrutura molecular dos compostos saturados presentes no extrato de glândula de *Anthistarcha binocularis* Meyrick, 1929.

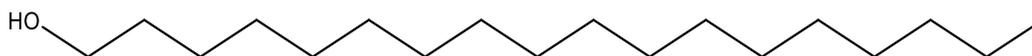
Acetato de dodecanila



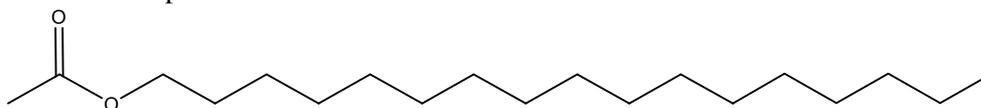
Acetato de hexadecanila



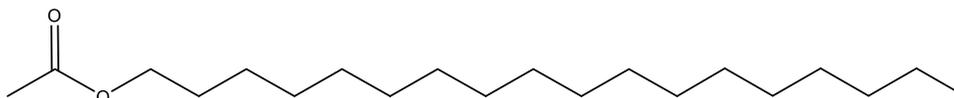
Octadecanol



Acetato de heptadecanila



Acetato de octadecanila



A análise dos extratos das glândulas sexuais femininas revelou ainda a presença de outros dois compostos, um álcool e um acetato, com cadeias insaturadas.

A análise do espectro de massa do composto 1 (Tabela 4, Figura 23) sugeriu tratar-se de um álcool monoinsaturado com uma cadeia de 12 átomos de carbonos. O espectro de massa apresentou um pequeno íon correspondente ao fragmento resultante do desidratado m/z 166 (5%) e pico base a m/z 67 (100%), e outros íons abundantes com m/z 109 (14), 95 (41%) e 81 (53%), típico de íons fragmentos de hidrocarbonetos. A reação com DMDS indicou que a dupla ligação está localizada no carbono 6 devido aos íons diagnósticos de m/z 131 (97%) e 147 (48%) (Figura 24).

Figura 23 - Derivatização de compostos insaturados presentes na glândula sexual de *Anthistarcha binocularis* Meyrick, 1929 e espectro de massas do 6-dodecenol derivatizado.

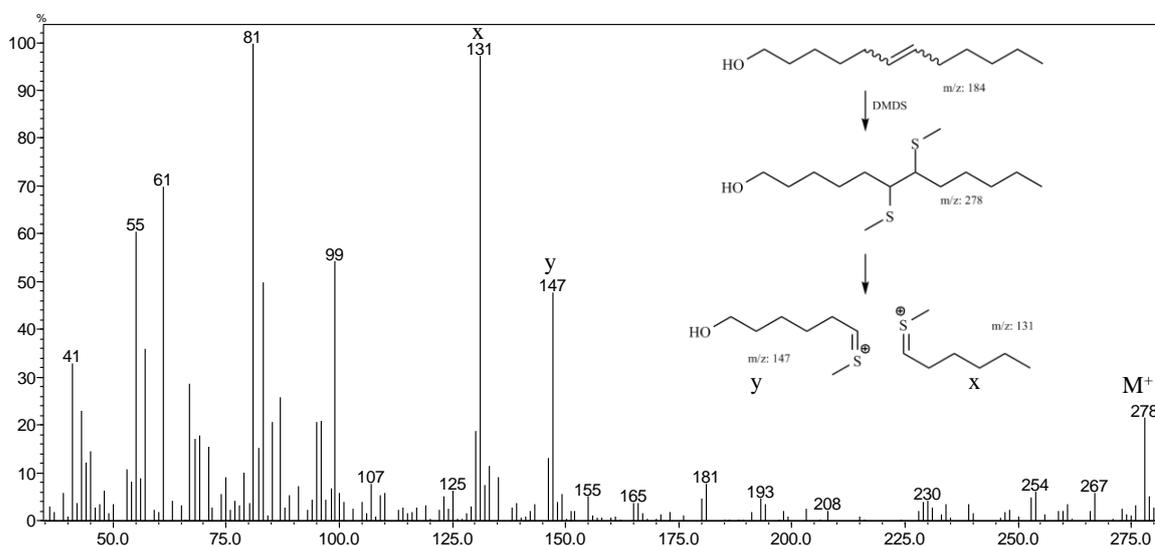
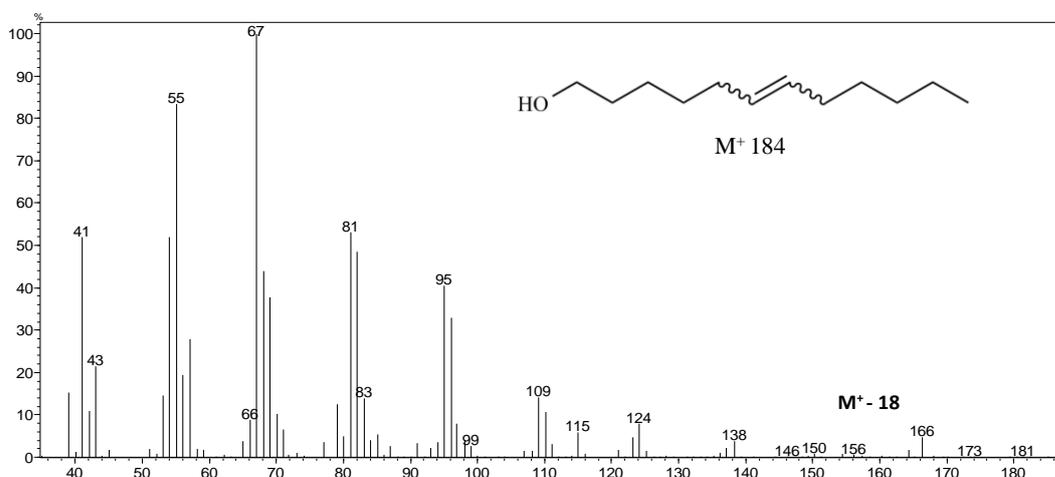


Figura 24 - Espectro de massas e estrutura molecular do 6-dodecenol.



O espectro de massa do composto 2 (Figura 25) exibiu um padrão de fragmentação semelhante ao composto 1, com o mesmo peso molecular indicando a mesma cadeia carbônica. No entanto, o íon fragmento de maior m/z 166 (15%) e o íon fragmento m/z 61 (5%) indicam um acetato. O aduto DMDS apresentou os íons diagnósticos m/z 131 (87%) e m/z 189 (13%) que indicam a dupla ligação na mesma posição 6 (Figura 26). As comparações de KI do composto 2 permitiram atribuir a configuração da ligação dupla e assim para o composto 2 fica proposto a estrutura acetato de 6-dodecenila.

Figura 25 - Derivatização de compostos insaturados presentes na glândula sexual de *Anthistarcha binocularis* Meyrick, 1929 e espectro de massas do acetato de 6-dodecenila derivativizado.

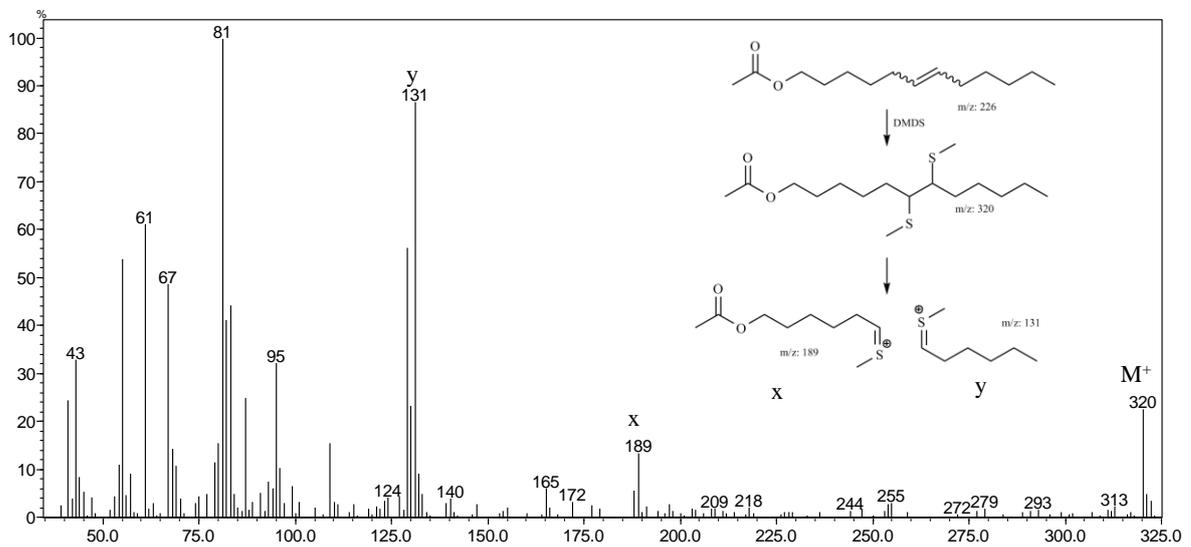
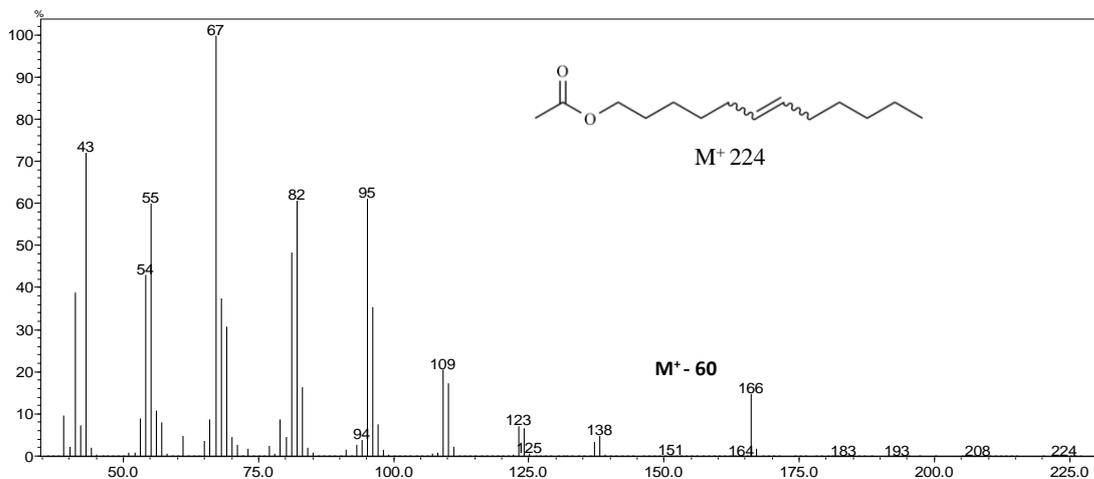


Figura 26 - Espectro de massas e estrutura molecular do acetato de 6-dodecenila.



Com base nos resultados dos dados de CG/EM, fica proposta as estruturas 6-12: OH e 6-12: OAc e confirmamos as posições de ligação dupla de ambos os compostos analisando os espectros de massa de seus adutos de DMDS. Esses compostos foram sintetizados e os valores dos índices de Kovats dos compostos sintéticos foram semelhantes aos valores do índice de Kovats dos compostos naturais, confirmando assim a presença dos isômeros *E* e *Z* (Figura 27, Tabela 5).

Figura 27 - Cromatogramas dos padrões sintéticos¹ dos compostos (1) Z6-12: OH, (2) Z6-12: OAc, (1) E6-12: OH, (2) E6-12: OAc e extrato da glândula de *Anthistarcha binocularis* Meyrick, 1929.

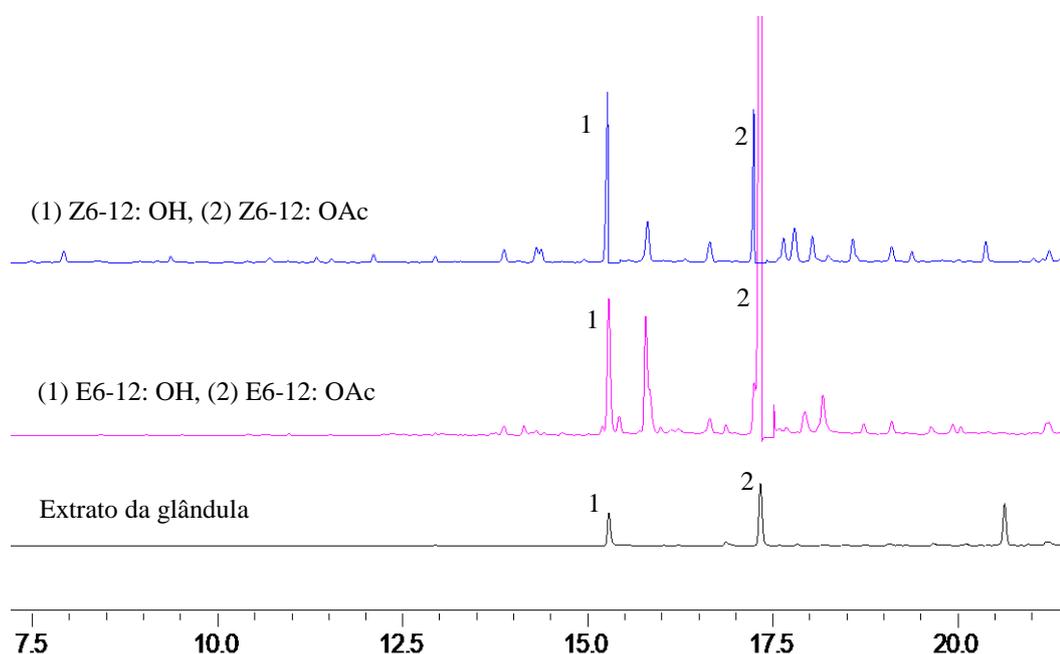


Tabela 5 – Características químicas dos compostos (1) Z6-12: OH, (2) Z6-12: OAc, (1) E6-12: OH, (2) E6-12: OAc, presentes no extrato da glândula sexual de *Anthistarcha binocularis* Meyrick, 1929 coletadas nos estados de Alagoas e Piauí.

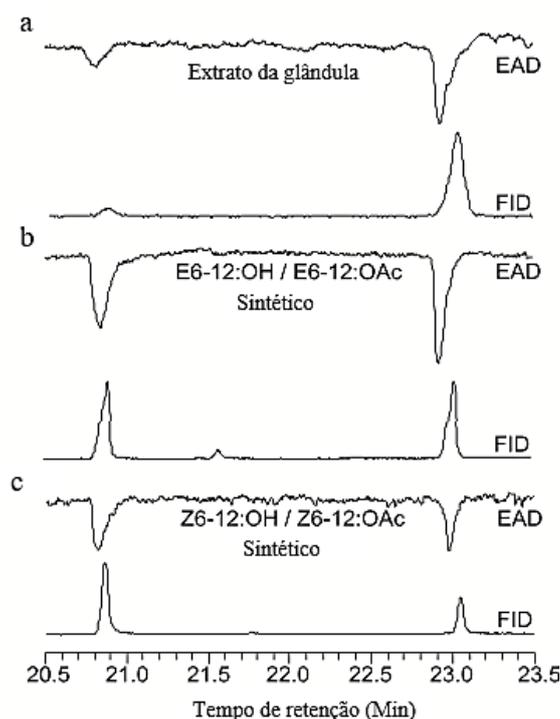
Composto	T.R./I.K. ¹ Amostra	T.R./I.K. ¹ Padrão	MW ²	Fórmulas
1 (<i>E</i>)-6-Dodecenol	15.283 / 1440	15.282 / 1440	184	C ₁₂ H ₂₄ O
2 Acetato de (<i>E</i>)-6-dodecenila	17.335 / 1575	17.339 / 1576	226	C ₁₄ H ₂₆ O ₂
1 (<i>Z</i>)-6-Dodecenol		15.264 / 1439	184	C ₁₂ H ₂₄ O
2 Acetato de (<i>Z</i>)-6-dodecenila		17.245 / 1569	226	C ₁₄ H ₂₆ O ₂

¹ T.R./I.K. – Tempo de Retenção/Índice de Kovats; ² MW – Massa do composto

4.3.3 Análises Eletroantenográficas (CG-EAD)

A análise dos extratos naturais de glândulas de *A. binocularis* confirmou que todos os machos estudados apresentaram respostas eletroantenográficas (CG/EAD) a 2 compostos, identificados como 6-12:OH e o 6-12:Act. A síntese para comprovação da estrutura permitiu bioensaios com os isômeros (*E* e *Z*) dos álcoois e acetatos (Figura 28), A proporção entre estes compostos foi de 1:72 com concentrações de 5,5 ng / fêmea e 397,7 ng / fêmea, respectivamente. A análise com extrato de fêmea com antenas de fêmea não forneceu nenhuma resposta no CG – EAD.

Figura 28 - Respostas eletroantenográficas da antena de machos de *Anthistarcha binocularis* quando expostas a extratos de glândulas de feromônio de fêmeas (a) e misturas químicas sintéticas de componentes de feromônio (b, c). GC – EAD equipado com capilar coluna Rtx-5 (FID).

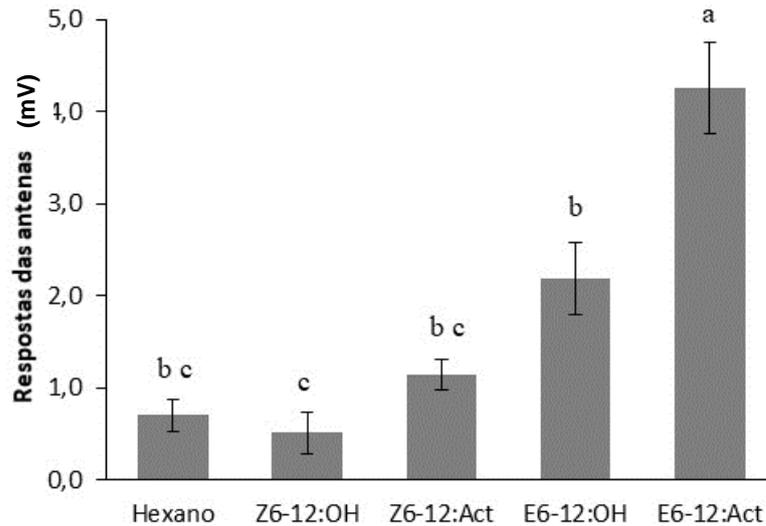


Identificados os compostos bioativos a machos da espécie, foi realizado “puffs” com as moléculas de configuração *E* e *Z* para real confirmação da configuração da molécula ativa.

As duas configurações de ligação dupla nos álcoois sintéticos e acetatos (Z6-12: OH, Z6-12: OAc, E6-12: OH e E6-12: OAc) provocaram uma resposta diferença de potencial eletroantenográfico na antena de machos de um *A. binocularis* (Figura 29). O composto E6-12: OAc provocou a maior atividade, a concentração de 0,5 µg, apresentou a maior resposta quando comparado aos outros componentes sintéticos. Além disso, a resposta obtida para E6-12: OH também foi significativamente diferente daquela de Z6-12: OH. Estas observações sugerem que

os compostos E6-12: OH e E6-12: OAc são muito provavelmente os componentes de feromônio de *A. binocularis*.

Figura 29 - Respostas eletroantagônicas médias (EAG) (\pm EP) de antenas de machos de *Anthistarcha binocularis* a álcool e acetato sintético em ambas as configurações de ligação dupla (0,5 μ g EO) e hexano como controle. Médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes (teste de Tukey, $P < 0,05$).



4.3.4 Teste de atratividade em campo

Embora os compostos com configuração (*Z*) também indiquem respostas eletrofisiológicas, apenas os isômeros (*E*) foram capazes de atrair espécimes machos de *A. binocularis*. A mistura e a dose influenciaram significativamente o número de traças, uma vez que os valores de *p* para essas variáveis foram inferiores a 0,05. Por outro lado, a interação entre mistura e dose não foi significativa (valor de $P > 0,05$). A Figura 30 demonstra como apenas um tipo de mistura foi capaz de capturar a traça. O teste *z* mostra que apenas no tratamento E6-12: OH / E6-12: OAc a dose afetou a quantidade de borboletas capturadas.

A Figura 31 demonstra o aumento no número médio de traças capturadas em função do aumento na dosagem da mistura EOH / EOAc, a mistura apresentou um aumento significativo nos insetos atrativos ao coletor a 250 μ g, 27 no total coletado, em relação à dose de 100 μ g, 9 inseto no total coletado (GLM, $F = 2,85$, $p = 0,004$). Para entender melhor o resultado em relação às doses, precisamos fazer uma análise post-hoc (Tabela 6). Embora os compostos com configuração (*Z*) também indiquem respostas eletrofisiológicas, apenas os isômeros (*E*) foram capazes de atrair espécimes masculinos de *A. binocularis*. Estes dados corroboraram os

resultados prévios da análise GC / MS e confirmaram que E6-12: OH e E6-12: OAc compreendem a atratividade dos compostos presentes na mistura de feromônio sexual de *A. binocularis*.

Figura 30 - Número de mariposas machos capturadas usando três misturas diferentes. As barras mostram os valores médios, enquanto os Traços mostram o erro padrão.

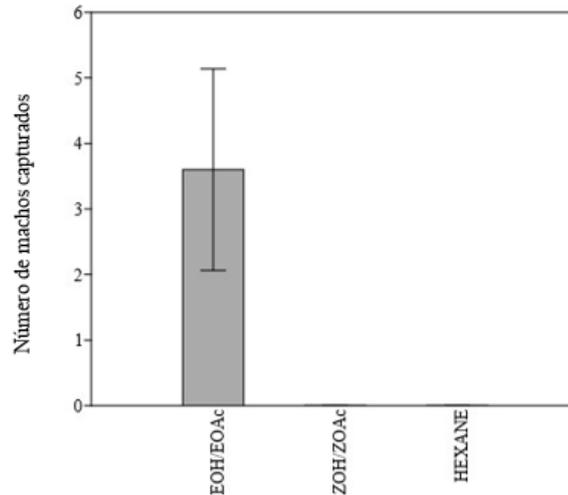
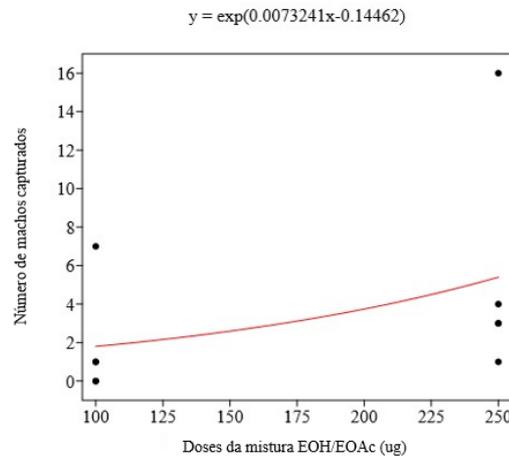


Tabela 6 - Teste Z post-hoc para o modelo linear generalizado (glm) referente aos efeitos do tipo de mistura (EOH / EOAc, ZOH / ZOAc e o controle com hexano) e dose de mistura (100 e 250 μ g) no número de traças masculinas capturadas. O modelo assume uma distribuição de probabilidade de Poisson.

Variáveis	Estimate	Std.Error	Z-value	P-value
Mistura:EOH/EOAc	-0.145	0.57	-0.254	0.79977 ^{ns}
Mistura:ZOH/ZOAc	-19.2	7567.0	-0.003	0.99798 ^{ns}
Mistura:Hexane	-19.2	7567.0	-0.003	0.99798 ^{ns}
Dose:EOH/EOAc	0.00732	0.0025	2.854	0.00431*
Dose:ZOH/ZOAc	-0.00732	39.75	0	0.99985 ^{ns}
Dose:Hexane	-0.00732	39.75	0	0.99985 ^{ns}

*significativo sendo $P \leq 0,05$, ** significativo sendo $P \leq 0,01$, NS não significativo.

Figura 31 - Modelo linear generalizado (GLM) mostrando o aumento de capturas de traças masculinas com o aumento da dosagem da mistura EOH / EOAc. O modelo assume uma distribuição de probabilidade de Poisson.



4.4 DISCUSSÃO

A atividade sexual de produção e liberação de feromônio por fêmeas para atrair machos é comum em lepidópteros de maneira geral, especialmente em mariposas, esse comportamento pode ser observado em diferentes famílias, por exemplo, *Ectomyeliosis ceratomiae* Zeller, 1839 (Lepidoptera: Pyralidae) (SOUFBAF et al., 2013), *Spodoptera exigua* Hubner, 1808 (Lepidoptera: Noctuidae) (ACÍN et al., 2010) e *Mompha divisella* Herrich-Schäffer, 1854 (TABATA; KUBOTA, 2017).

Os componentes do feromônio sexual em Lepidoptera podem ser categorizados por suas estruturas químicas e vias biossintéticas. Assim, tem sido reconhecido que compostos do tipo I compreendem álcoois graxos, acetatos ou álcoois com esqueletos de 10 a 18 carbonos e são biossintetizados de novo na glândula feromônica (ANDO; INOMATA; YAMAMOTO, 2004; LÖFSTEDT; WAHLBERG; MILLAR, 2016). As diferenças de composição ocorrem principalmente nas configurações isoméricas e posições das insaturações na cadeia carbônica.

Os feromônios sexuais que foram previamente descritos em 14 espécies da família Gelechiidae consistia de estruturas do tipo I, principalmente acetatos, com um único relato de um álcool primário, E5-10: OH, em *Anarsia lineatella* (ANDO, 2018).

Álcoois e acetatos monoinsaturados de doze átomos de carbonos são relatados como feromônio de mariposas apresentando diferentes posições da insaturação. No feromônio sexual de *S. salinella* foi identificado as posições Z3-12:OAct e Z5-12:OAct (TABATA; KUBOTA, 2017), para *M. divisella* observou-se o acetato de (Z)-3- dodecenila (Z3-12:Act) (YANG et al.,

2011), essa posição com dupla ligação no início da cadeia carbônica são casos raros em ferôminos de lepidópteros. Compostos mono insaturados de 12 carbonos (acetatos de dodecenila, dodecenóis e dodecenais) constitui a classe mais comum em feromônios de mariposa, classificados como feromônios tipo I de lepidópteros (ANDO, 2018; EL-SAYED, 2018).

Como já visto, álcoois e acetatos de 12 carbonos com uma insaturação são comuns em feromônio de mariposas, ocorrendo especificidade por alterações de configurações estruturais e, posição das duplas ligações, mas também há casos de duas ou mais insaturações na mesma molécula como é o caso do feromônio de *Dendrolimus kikuchii* Matsumura 1927 (Lepidoptera: Lasiocampidae), que apresenta uma configuração *Z* e outra *E* para estes grupos de compostos que são acetato de (*Z5,E7*) dodecadienila (*Z5,E7*-12:OAc), (*5Z,7E*) dodecadienol (*Z5,E7*-12:OH), e acetato de (*5Z*) dodecenila (*Z5*-12:OAc) (KONG et al., 2011).

Composto similar as configurações moleculares identificadas nesse trabalho foram descritas por Roelofs e colaboradores (1975), eles descreveram acetato de (*E*)-5-dodecenila (*E5*-10:OAc; 87%) e (*E*)-5-dodecenol (*E5*-10:OH;13%), feromônio sexual de *Anarsia lineatella*. *Euzophera pyriella* Yang, 1994 (Lepidoptera: Pyralididae) tem na sua composição feromonal o acetato de dodecenila com insaturação e configuração (*Z*) na posição 8 (MA et al., 2014).

Para espécies dentro desta família, ligações duplas com configuração (*E*) não eram incomuns, uma vez que 10: OAc e E5-10: OH foram identificados como componentes de feromônios sexuais em *A. lineatella* (ROELOFS, 1975), E7-10: OAc em *Aproaerema anthyllidella* (ARN, 1997), E11-16: OAc em *Helcystogramma triannulella* (HIRANO; MURAMOTO; HORIIKE, 1976), E4-13: OAc em *Keiferia lycopersicella* (CHARLTON et al., 1991), E3-13: OAc em *Scrobipalpa heliopa* (BAKER et al., 1985), E3-12: OAc em *Scrobipalpa ocellatella*, (RENOU et al., 1980), E3-14: OAc em *Symmetrischema tangolias* (GRIEPINK et al., 1995) e E3-12: OAc em *Tecia solanivora* (NESBITT et al., 1985). Com base nos resultados do CG/EM e os dados de campo, identificamos E6-12: OH e E6-12: OAc, duas estruturas tipo I, como o sexo mistura feromonal de *A. binocularis*.

Ando, Inomata e Yamamoto (2004) analisaram todos os componentes de feromônio tipo I relatados na época e apontaram o *gap* estrutural em compostos monoinsaturados nas posições 4 e 6. Além disso, eles previram a existência de tais compostos com base na atratividade de algumas espécies para E4-12: OAc e Z6-14: OAc.

De fato, E6-12: OH foi previamente relatado como um atrativo para *Dendrolimus superans sibiricus* em Lasiocampidae por Klun et al. (2000). Por outro lado, E6-12: OAc não

havia sido descrito como um componente de feromônio, nem havia sido relatado como um atrativo. Outros compostos, incluindo E6-14: OAc e Z6-14: OAc, foram relatados como atrativos para *Yponomeuta rorellus* (LÖFSTEDT et al., 1990) enquanto que E6-16: Ac foi encontrado nos extratos da glândula de feromônio de *Antheraea pernyi*; no entanto, nenhuma bioatividade foi relatada para o último composto (BESTMANN et al., 1987).

Até onde sabemos, este é o primeiro relato de um feromônio monoenil tipo I com insaturação na posição 6 em Lepidoptera. Como o *A. binocularis* é considerada uma das principais pragas do *Anacardium occidentale* no Brasil (BERRY; SARGENT, 2011), armadilhas com iscas de feromônio sexual podem ser usadas em práticas integradas de manejo de pragas para controlar a espécie.

De acordo com o exposto as moléculas identificadas nesse trabalho como componentes do feromônio sexual de *A. binocularis* estão em correlação aos dados já publicados para lepidópteras de maneira geral, bem como para família Gelechiidae.

4.5 CONCLUSÃO

O feromônio sexual de *A. binocularis* é a mistura do álcool (*E*)-6-dodecenol e do derivado acetato de (*E*)-6-dodecenila, com atratividade biológica comprovada em campo. Os compostos poderão ser utilizados para monitorar infestações de *A. binocularis*.

REFERÊNCIAS

- ACÍN, P. et al. Sex pheromone of the Spanish population of the beet armyworm *Spodoptera exigua*. **Journal Chemical Ecology**, v. 36, p. 778–786, 2010.
- AGROFIT**: Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários, 2019. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/servicos-e-sistemas/sistemas/agrofit>>. Acesso em: 25 de janeiro 2019.
- ANDO, T.; INOMATA, S.; YAMAMOTO, M. Lepidopteran sex pheromones. **Topics in Current Chemical**, v. 239, p. 51–96, 2004.
- ANDO, T. **The list of Lepidopteran sex pheromones and attractants**. Disponível em: <<http://lepipheromone.sakura.ne.jp/lepipherolist.html>, 2018>. Acessado em: 26 de abril 2018.
- ARN, H. List of sex pheromones of Lepidoptera and related attractants, supplement 1992-1996. In: Technology transfer in mating disruption. **IOBC/WPRS Bull**, v. 20, p. 257–293, 1997.
- BAKER, R. et al. Sex pheromone of tobacco stem borer, *Scrobipalpa heliopa* Lower (Lepidoptera: Gelechiidae), **Journal Chemical Ecology**, v. 11, p. 989–998, 1985.
- BARCELLOS FRANÇA, P. H. B. Síntese orgânica aplicada à ecologia química e à química medicinal. 2018. 173 f. Tese (Doutorado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas, Instituto de Química e Biotecnologia, Maceió, 2018.
- BERRY, A. D.; SARGENT, S. A. Cashew apple and nut (*Anacardium occidentale* L.). In: Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits. Volume 2: Açaí to citrus, ed. by Yahia E, **Elsevier Science Publishers**, p. 414–423, 2011.
- BESTMANN, H-J. et al. Identification of three sex pheromone components of the female saturniid moth *Antheraea pernyi* (Lepidoptera: Saturniidae). **Zeitschrift für Naturforschung**, v. 42c, p. 631–636, 1987.
- CAVALCANTI JUNIOR, A. T. Propagação assexuada do cajueiro. In: ARAÚJO, J. P. P. de. **Agronegócio Caju: práticas e inovações**. Embrapa, p.242-257, 2013.
- CHARLTON, R. E. Identification of sex pheromone of tomato pinworm, *Keiferia lycopersicella* (Wals.), **Journal Chemical Ecology**, v.17, p. 175–183, 1991.
- CONAB. Conjuntura mensal – Castanha de Caju. 2017, 5p. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_05_15_18_01_13_castanhadecajuabril.pdf. Acesso em: 15 jul. 2017.
- DENDENA, B.; CORSI, S. Cashew, from seed to market: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 34, p. 753–772, 2014.
- EL-SAYED, A.M. **The Pherobase**: Database of Pheromones and Semiochemicals. Disponível em: <<http://www.pherobase.com>>, 2018. Acesso em: 28 jul. 2018.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Key statistics of food and agriculture external trade. 2018. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/342/default.aspx>> Acesso em: 15 jul. 2018.

GOULART, H. F. et al. Feromônios: Uma Alternativa Verde para o Manejo Integrado de Pragas. **Revista Virtual Química**, v. 7, n.4, p.1205-1224, 2015.

GRIEPINK, F.C. et al. Isolation and identification of sex pheromone of *Symmetrischema tangolias* Gyen (Lepidoptera:Gelechiidae). **Journal Chemical Ecology**, v. 21, p. 2003–2013, 1995.

HIRANO, C.; MURAMOTO, H.; HORIIKE, M. Sex pheromone produced by female sweet potato leaf folder moth, **Naturwissenschaften**, v. 63, p. 439–439, 1976.

IBGE. Produção Agrícola, 2018. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/prevsaf/default.asp?t=4&z=t&o=26&u1=1&u2=1&u3=1&u4=1>. Acesso em: 15 jul. 2018.

INOMATA, S. I. et al. Identification of sex pheromones of *Anadevidia peponis* and *Macdunnoughia confusa* and field tests of their role in reproductive isolation of closely related plusiinae moths. **Journal Chemical Ecology**, v. 26, p. 443–454, 2000.

LÖFSTEDT, C. et al. Behavioural and electrophysiological activity of unsaturated analogues of the pheromone tetradecyl acetate in the small ermine moth *Yponomeuta rorellus*. **Physiology Entomology**, v. 15, p. 47–54, 1990.

LÖFSTEDT, C.; WAHLBERG, N.; MILLAR, J. Evolutionary patterns of pheromone diversity in Lepidoptera. In: **Pheromone Communication in Moths: Evolution, behavior, and application**, ed. by Allison JD and Cardé RT, University of California Press, Oakland, p. 43–88, 2016.

KONG, X. B. et al. Identification of Components of the Female Sex Pheromone of the Simao Pine Caterpillar Moth, *Dendrolimus kikuchii* Matsumura. **Journal of Chemical Ecology**, v. 37, p. 412–419, 2011.

KLUN, J. A. et al. A sex attractant for the siberian moth *Dendrolimus superans sibiricus* (Lepidoptera: Lasiocampidae), **Journal Entomology Science**, v. 35, p. 158–166, 2000.

MA, T. et al. (Z,E)-9,12-tetradecadien-1-ol: a major sex pheromone component of *Euzophera pyriella* (Lepidoptera: Pyralididae) in xinjiang, china. **Florida Entomologist**, v. 97, n. 2, p. 496-503, 2014.

MA, T. et al. Electrophysiological and behavioral responses of *Diaphania glauculalis* males to female sex pheromone. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p.15046–15054, 2015.

MESQUITA, A. L. M. et al. Reação de clones de cajueiro-anão-precoce ao ataque da broca-das-pontas. **Essentia** (Sobral/CE), v. 12, p. 43-49, 2011.

- MESQUITA A.L.M.; BRAGA SOBRINHO, R. Pragas e doenças do cajueiro. In: ARAÚJO, J.P.P. (Ed.). **Agronegócio caju: práticas e inovações**, Brasília: Embrapa, p. 195-215, 2013.
- NESBITT, B.F. et al. Identification of components of the female sex pheromone of the potato tuber moth, *Scrobipalpa solanivora*. **Entomologia Experimentalis Applicata**, v. 38, p. 81–85, 1985.
- RENOU, P. M. et al. (*E*)-3-dodecenyl acetate, main component of the sex pheromone of the sugar beet moth, *Scrobipalpa ocellatella* Boyd. (Lepidoptera, Gelechiidae). **Zeitschrift für Angewandte Entomologie**, v. 90, p. 275-289, 1980.
- ROELOFS, W. et al. Sex pheromone of the peach twig borer moth (*Anarsia lineatella*). **Environmental Entomology**, v. 4, p. 580–582, 1975.
- SOUFBAF, M. et al. Calling behavior of the female carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera: Pyralidae) under cycling and constant temperatures in laboratory. **Journal Crop Protection**, v. 2, p. 219-228, 2013.
- TABATA, J.; KUBOTA, S. Sex pheromone of the iris gelechiid moth *Monochroa divisella*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 164, p. 113–119, 2017.
- VIDAL, M.F. Cajucultura nordestina continua em declínio. Cad Setorial **ETENE**, v. 2, p. 1–11, 2017.
- WITZGALL, P.; KIRSCH, P.; CORK, A. Sex Pheromones and their impact on pest management. **Journal Chemical Ecology**, v. 36, p. 80–100, 2010.
- YADAV, J. S.; REDDY, E. J. Synthesis of (3*E*, 5*Z*)-3,5-Dodecadienylacetate, the Sex Pheromone of *Phtheochroa cranaodes* (Lepidoptera :Tortricidae). **Bioscience Biotechnology Biochemical**, v. 64, p. 1726-1728, 2000.
- YANG, C. Y. et al. Female Sex Pheromone of the Gelechiid Moth *Scrobipalpa salinella* (Zeller). **Journal of Chemical Ecology**, v.37, p.1216–1221, 2011.

**5 COMPORTAMENTO SEXUAL E IDENTIFICAÇÃO DO FEROMÔNIO DA
BROCA-DAS-CASTANHAS *Anacampsis phytomiella* BUSK, 1914**

5.1 INTRODUÇÃO

De acordo com a FAO (2018), 198 países produzem castanha de caju, Vietnã, Nigéria, Índia e Costa do Marfim foram os maiores produtores mundiais de castanha-de-caju em 2016, com 70,6 % da produção global do produto. Estima-se que a cajucultura ocupe uma área de 3,39 milhões de hectares, com uma produção de 3,1 milhões de toneladas por ano. O cajueiro, *Anacardium occidentale* L., é a única espécie do gênero *Anacardium* de distribuição ampla em todo o território brasileiro e tem como centro de origem a região amazônica de acordo com Santos-Serejo et al. (2009).

A cultura é expressiva no Nordeste brasileiro com uma área plantada de cerca de 660 mil ha, representando 95% do total produzido no país. Na safra 2017 o Brasil teve uma produção de 134.580 mil toneladas de castanha-de-caju, liderada pelos estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte, que juntos produziram 122 mil toneladas. Além da região Nordeste, apenas o Pará, na região Norte, tem representação significativa na produção de castanha do país (IBGE, 2018).

Das pragas que causam danos econômicos a cultura do cajueiro, a traça da castanha, *Anacampis phytomiella* Busck, 1914 (Lepidoptera: Gelechiidae) se destaca por se alimentar da amêndoa da castanha de caju inviabilizando sua comercialização. É considerada praga-chave da cultura do caju, pelas injúrias causadas e por prejudicar economicamente a produção e comercialização como consequência em danos diretos no rendimento por área (MESQUITA; BRAGA SOBRINHO, 2013).

A *A. phytomiella* foi descrita causando danos na produção de caju pela primeira vez em 1982, no Estado do Ceará. A traça-da-castanha tem como único hospedeiro o cajueiro, uma vez que a lagarta se alimenta da amêndoa, tornando-a imprestável para a comercialização. Antes do período de pré-pupa as lagartas, constroem um pequeno orifício circular na extremidade distal da castanha por onde sairá o adulto. Este é a principal injúria do ataque da praga para ser reconhecida no campo, é denominado de “castanha furada” (MESQUITA; SILVA; SOBRINHO, 1999; MELO, BLEICHER, 2002; DIAS-PINI et al., 2017). Outro comportamento alimentar é o broqueamento em ramos ponteiros de brotações novas, antes do período de frutificação do cajueiro (MESQUITA et al., 2008). Não há relatos na literatura sobre o ciclo de vida desta praga. Por esses motivos, este inseto é considerado praga chave do período de frutificação do cajueiro.

Não existe nenhum produto fitossanitário registrado para *A. phytomiella* no Brasil (AGROFIT, 2019). O comportamento sexual em lepidópteros nos permite entender quais os

sinais e de que forma é estabelecida a comunicação entre machos e fêmeas da espécie. A comunicação sexual em lepidópteros envolve uso de sinais visuais, acústicos e olfativos. Em mariposas noturnas, há sinalização química, especialmente a produção de feromônios por fêmeas, crucial para detecção e localização de parceiros para a cópula (DELLE-VEDOVE et al., 2014; ANDO, 2018).

O cortejo e a cópula de mariposas são comportamentos importantes para caracterização dos eventos de localização, liberação e recepção de feromônios sexuais que regulam os comportamentos de acasalamento (ROTHSCHILD, 1981). As fêmeas de mariposas emitem compostos voláteis que são detectados pelos machos à distância, esses compostos direcionam a localização de fêmeas sexualmente receptivas. Antenas de machos têm um grande número de sensilas que contêm neurônios receptores olfativos específicos para componentes dos feromônios sexuais feminino (SCHLAMP et al, 2006).

Em diversas famílias de lepidópteros a maior parte da sinalização química é realizada por substâncias com as funções químicas composta por, álcool, aldeídos e acetatos, e podemos tomar como exemplos: a mistura de (*E*)-11-hexadecenal and (*E,E*)-10,12-hexadecadienal para *Diaphania glauculalis* Guenée, 1854 (Lepidoptera: Crambidae) (MA et al., 2015); mistura de compostos de *Z5,E7-12:OAc*, *Z5,E7-12:OH*, e *Z5-12:OAc* de *Dendrolimus kikuchii* Matsumura (Lepidoptera: Lasiocampidae) (KONG et al., 2011).

A família Gelechiidae também segue a linha dos compostos encontrados de forma geral para lepidópteros, por exemplo: acetato de (*Z*)-3- dodecenila (*Z3-12:Act*) e acetato de (*Z*)-5-tetradecenila (*Z5-14:Act*) para de *Monochroa divisella* Douglas, 1850 (TABATA; KUBOTA, 2017); a mistura dos compostos *Z3-12:OAc* e *Z5-12:OAc* para *Scrobipalpa salinella* Zeller, 1847 (YANG et al., 2011); e a mistura dos compostos *E11-16: Ac* e *Z11-16: OH* para *Plutella xylostella* L., inseto que pertencia a família Gelechiidae e foi reclassificado para família Plutellidae (RENOU; GUERRERO, 2000).

A utilização de substâncias químicas intraespecíficas para modificação de comportamento e ações de insetos pragas em cultivos agrícolas é uma ferramenta ecológica para controle ou monitoramento destes insetos. Pela especificidade de ação, o uso de feromônio não agride o ambiente, insetos polinizadores e não causa toxicidade a seres humanos (GOULART et al., 2015).

Na sua fase de lagarta, o inseto encontra-se em um ambiente protegido (dentro da castanha), característica que torna mais difícil atingir o alvo a ser controlado por qualquer pulverização na cultura. A utilização de feromônio sintético seria uma técnica de controle eficaz para captura dessa praga na fase adulta. Existe um grande interesse na identificação do

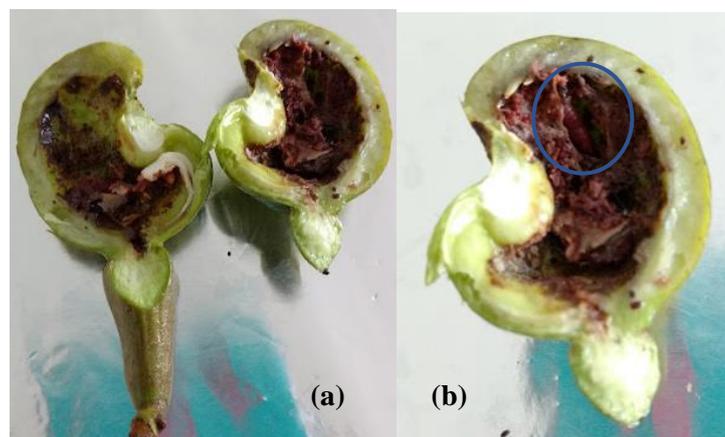
feromônio sexual de *A. phytomiella*, para realizar um melhor monitoramento e controle da praga, até o momento não há relatos da composição do feromônio sexual produzido por fêmeas desta espécie, e o presente trabalho teve como objetivo descrever o comportamento sexual de *A. phytomiella*, identificar as sensilas presentes nas antenas de machos, bem como identificar o feromônio produzido e liberado pela fêmea para atração do macho.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Coleta e manutenção dos insetos

As larvas e pupas de *A. phytomiella* foram coletadas em plantio de caju precoce, variedade CCP 76, na cidade de Boca da Mata, Alagoas, Brasil ($9^{\circ} 39'39,3''\text{S}$ $36^{\circ} 11'52,7''\text{W}$) entre abril e junho, e entre outubro e dezembro de 2015/16. No Laboratório de Pesquisas Químicas em Recursos Naturais (LPqRN), do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas. As castanhas com a presença das larvas e pupas foram separadas, e observadas até que as larvas passassem para o estágio de pupas (Figura 32), as quais foram transferidas individualmente para recipientes de vidro (10,0 cm de altura x 2,0 cm de diâmetro). A pesquisa foi desenvolvida no LPqRN sobre registro no SISGEN e CGEN (n.º 010428/2012-7).

Figura 32 – Castanhas de caju com injúria causada por *Anacampsis phytomiella* Busck (1914) (a) e ampliação da imagem com a presença da lagarta (b).



Fonte: Autor (2019).

Em seguida, as pupas foram separadas por sexo, pelo dimorfismo caracterizando-se por diferenças morfológicas na porção terminal do abdome, nas pupas fêmeas a localização da

abertura genital encontra-se no oitavo segmento abdominal e nos machos, observam-se duas gônadas no nono segmento. Os adultos foram mantidos em solução de sacarose a 10%.

A sala de criação recebeu iluminação de 3,5 W/m², com fotoperíodo de 12 horas. Com o sistema de iluminação automático. As condições climáticas, com ambiente controlado, foram 25 ± 2 ° C de temperatura e 80 ± 10 % de umidade relativa.

5.2.2 Comportamento de acasalamento

Após a emergência os adultos, foram individualizados em tubos de vidro (10,0 cm de altura x 2,0 cm de diâmetro), sendo alimentados com solução de sacarose a 10%. Passadas 24h da emergência, um total de quinze casais, separadamente foram colocados em câmaras de vidro (20 x 10 x 15 cm), para observação durante 24h os comportamentos de machos e fêmeas quanto a corte, cortejo e cópula, afim de se determinar os horários de maior atividade sexual dos insetos.

Na sala de observação, utilizou-se de fotoperíodo invertido, e durante o período noturno nas condições ambientais, empregou-se câmera filmadora para as observações, sendo registrado em fotos e vídeos usados como comprovação dos dados. Utilizou-se as mesmas condições climáticas da sala de criação para realização do experimento, com o emprego de lâmpada vermelha durante a escotofase para facilitar as observações.

5.2.3 Identificação das sensilas presentes nas antenas de machos de *Anacampsis phytomiella*

As antenas foram removidas de machos de 1 dia de idade e imediatamente imersas em solução de glutaraldeído a 2% em tampão de fosfato (0,1M pH 7) por um período de dois minutos, posteriormente foram imersas por trinta segundos para desidratação sucessivamente em uma série de soluções de etanol (50, 70, 80, 90 e 99%). Foram colocadas em suportes de alumínio sobre fita adesiva elétrica de sulfato de carbono e metalizadas com ouro a 10mA durante oito minutos, utilizando um metalizador modelo QUORUM Q150R ES. As antenas foram observadas usando um microscópio de varredura a 15 kV. Foram utilizadas 2 antenas para análises, com a observação da superfície ventral, na qual estão presentes as sensilas. Foi utilizado um aumento de x500 a x1000 para caracterizar as sensilas (BAWIN, 2017).

As imagens foram feitas no Laboratório de Microscopia da Coordenação de Química do IFAL, utilizando equipamento de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), modelo TESCAN VEGA 3. Para cada tipo de sensilas presentes nas antenas de machos foram realizadas

medições de comprimento das sensilas e largura basal, de 10 sensilas do mesmo tipo, e seus dados calculados por média, desvio padrão da média (DP) e erro padrão da média (EP).

5.2.4 Extração do feromônio sexual

Quando as fêmeas estavam no momento de chamamento, expondo a glândula de feromônio sexual na porção final do abdome, e nesse período os insetos foram paralisados, por resfriamento em freezer a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, para excisão da glândula sexual. Após a excisão a glândula foi colocada em vial com hexano bidestilado (grau HPLC) e deixado por 30 minutos. Após esse período o sobrenadante removido, colocado em outro vial e acondicionado em freezer a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a cromatografia e análises de eletroantenografia (EAD).

Foram utilizadas fêmeas de 24h após a emergência para extração das glândulas, sendo utilizado 15uL por glândula para extração dos compostos, num total de 50 glândulas amostradas.

5.2.5 Análises eletroantegráficas (CG-EAD)

As antenas foram retiradas de machos vivos com 1 e 2 dias de idade e fixadas em eletrodos de Ag utilizando gel condutor. Foram utilizadas 20 antenas de 20 insetos, uma por vez.

Um Shimadzu GC-2010, equipado com uma coluna RTX-5 (30m x 0,25 mm x 0,25 μm) e um injetor sem divisão com hidrogênio como gás de arraste (2,80 mL / min) foi usado para análises CG-EAD. O efluente da coluna foi dividido, na proporção de 1: 1, entre o detector de ionização de chama (DIC) e o EAD. A temperatura do forno foi mantida a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 5 min, seguida de elevação por $15^{\circ}/\text{min}$ a $300\text{ }^{\circ}\text{C}$, mantida durante 5 min. As antenas de machos de 2 dias de idade foram removidas e colocadas imediatamente entre dois eletrôdos de prata. A conexão elétrica foi obtida usando gel condutor. Os eletrodos foram conectados através de uma caixa de interface a uma placa de interface de aquisição de sinais (IDAC-4; Syntech, Holanda) conectada a um computador.

As respostas EAD e os sinais DIC do GC foram gravados simultaneamente usando o software AutoSpike (Syntech, Holanda). As gravações foram feitas em um fluxo contínuo de ar umidificado com um Controlador Stimulus CS-55 (Syntech, Inc., Hilversum, Holanda). Antenas de machos de *A. binocularis* foram testadas usando extratos glandulares de fêmeas co-

específicas. Apenas aqueles compostos que provocaram respostas em pelo menos 10 antenas testadas foram considerados eletrofisiologicamente ativos.

Análises individuais dos extratos deu-se, através do cálculo de IK, e comparação com extratos já injetados e analisados no CG/DIC e CG/EM.

5.2.6 Análises químicas, CG/EM e CG/DIC

A identificação dos compostos foi realizada através de análises individuais dos espectros de massas, comparação entre os dados adquiridos pelo software do CG/EM, comparado com bancos de dados divulgados como pherobase e nist, comparação do Índice de Kovats calculado para cada composto e comparados com a literatura. Para cálculo de IK foi usado padrão de n-alcanos de C7-C30 no mesmo método de análise para os extratos, e para a normalização de áreas dos compostos na amostra, utilizando tetradecanol como padrão interno para quantificação.

Extratos da glândula de feromônio foram analisados em um cromatógrafo a gás com interface para um detector de massa (CG/EM) (Shimadzu QB 2010 Ultra), equipado com uma coluna NST-5 (30m x 0.25mm x 0.25 μ m) operando em modo de ionização por impacto a 70 eV, com um faixa de varredura de 35 a 500 m / z. 1 μ L das amostras foram injetadas no modo splitless e operadas sob fluxo de hélio de 1,37 mL / min. A temperatura do forno foi mantida a 50°C por 5 min, e então elevada em uma rampa de 8°C / min até 240°C, na qual ponto foi mantido por mais 5 min. A temperatura da fonte de íons permaneceu a 250 ° C e a interface a 220 ° C. As bibliotecas espectrais de massa NIST08 e WILEY229 foram usadas para identificações iniciais de composto cujo tempo de retenção e espectros de massas foram comparadas com os de uma amostra autêntica. Uma série de n-alcanos (C7– C30) foi usada para determinar Índices de Kováts (IK).

5.3 RESULTADOS

5.3.1 Comportamento de acasalamento

As observações confirmaram que as fêmeas são responsáveis por produzir e liberar voláteis com atividade de atração aos machos da espécie *A. phytomiella* para cópula. Foi observado que durante o período de fotofase (dia) os insetos permaneceram parados durante

todo o tempo, sempre nos cantos da arena, locais mais protegidos para o refúgio do inseto que tem hábito noturno.

Durante o período noturno foi observado que ocorreram todas as movimentações das mariposas, tanto para comportamentos alimentares como para reprodutivos. O início das movimentações para reprodução foi próximo às 01:00 h, sétima hora da escotofase, com a agitação da fêmea, caminhando pelas paredes da arena em todas as direções, com duração de \pm 5 min e os machos permaneceram imóveis. Às 01:14 h a fêmea ficou imóvel e o macho realizou caminhamentos próximos as fêmeas, um minuto após isto os dois ficaram parados e distantes um do outro na arena.

Vinte minutos após estes comportamentos, os dois insetos ficaram bastantes agitados na arena, realizaram caminhamentos, voos, movimentos em torno de seu próprio corpo, na tentativa de encontro, com voos buscando se tocarem, tendo a fêmea o movimento de levantar das asas ao se tocarem. Às 01:50 os comportamentos de pré-cópula foram repetidos por alguns movimentos que já vinham acontecendo desde às 01:00h, todos estes foram descritos na Tabela 7.

Tabela 7 - Quadro adaptado da sequência de comportamentos de pré-cópula e cópula de *Anacamptis phytomiella* Busck (1914).

Sexo	Eventos	Hora (Escotofase)	Descrição
F	Caminhamento	01:50 h	Fêmea fazendo caminhamentos e vibrações na arena por \pm 10 min
M-F	Parados	02:00 h	Os insetos permaneceram parados por \pm 1 hora, com agitação das antenas
F	Sinais de chamamento	03:18 h	Fêmea caminhando na arena, parando e abrindo as asas com muita vibração, e expondo o abdome em alguns momentos, com agitação das antenas
F	Chamamento	03:29 h	Fêmea parada com bastante agitação das antenas, leve abertura nas asas e exposição do abdome por \pm 5 min
M	Chamamento	03:29 h	Macho não foi atraído e permaneceu imóvel
M-F	Reconhecimento dos sinais	04:20 h	Os dois apresentaram comportamento de agitação, caminhamentos com vibrações das asas e realizando voos buscando se tocarem
M-F	Tentativa de cópula	04:23 h	O macho tenta por sucessivas vezes tocar o seu órgão copulatório na porção final do abdome da fêmea
M	Tentativa de cópula	04:23 h	Esses movimentos correspondem a estarem de frente um ao outro, ambos levantam as asas, e o macho gira em 180° sobre o próprio corpo e toca o abdome da fêmea, nesse momento acopla órgãos copulatórios
M-F	Cópula	04:24 h	Ocorre o acasalamento dos insetos e estes permanecem parados na parede da arena com agitação das antenas
M-F	Cópula	06:10 h	Tempo em que aconteceu o final da cópula (\pm 1:34 duração)

De acordo com o observado podemos inferir que os movimentos de c orte e pr -cópula ocorre das uma às quatro da noite e que a cópula ocorreu de 24 h às 6 h:10 min da manhã, ou seja a partir da sétima hora da escotofase até a primeira hora da fotofase ocorre o comportamento reprodutivo, e esses momentos de maior atividade sexual das mariposas são propícios para estudos de extra o e isolamento do feromônio sexual da praga.

5.3.2 Identifica o das sensilas presentes nas antenas de machos de *Anacamptis phytomiella*

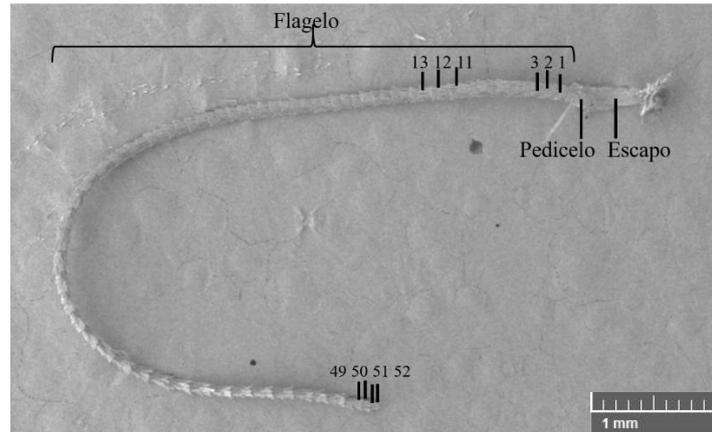
As antenas de machos de *A. phytomiella* apresentaram em média $6,14 \pm 0,01$ milímetros de comprimento, sendo $0,32 \pm 0,01$ mm de escapo, $0,07 \pm 0,01$ mm de pedicelo e $5,74 \pm 0,01$ mm de flagelo. Foram contabilizados uma média de 52 flagelômeros, sendo 10 flagelômeros curtos na base após o pedicelo, 38 flagelômeros alongados com dupla camada de escamas e 4 flagelômeros curtos no ápice da antena, as sensilas foram observadas em todo o flagelo principalmente na região ventral (Figura 33).

Foi observado a presença de sensilas dos tipos tricoide (Tc), coelocônica (Co), esquamiforme (Sq) e ca tica (Ct), nas antenas de *A. phytomiella* (Figura 34). As sensilas tricoides foram encontradas em dois tipos e chamadas de Tc I, as que apresentaram maior comprimento e Tc II as de menores comprimentos. O mesmo aconteceu para sensilas ca ticas e foram denominadas neste trabalho como Ct I e Ct II (Tabela 8).

Tabela 8 – Média e erro padrão da média (EP) do comprimento e largura basal das sensilas presentes nas antenas de machos de *Anacamptis phytomiella* Busck, 1914 (Lepidoptera: Gelechiidae).

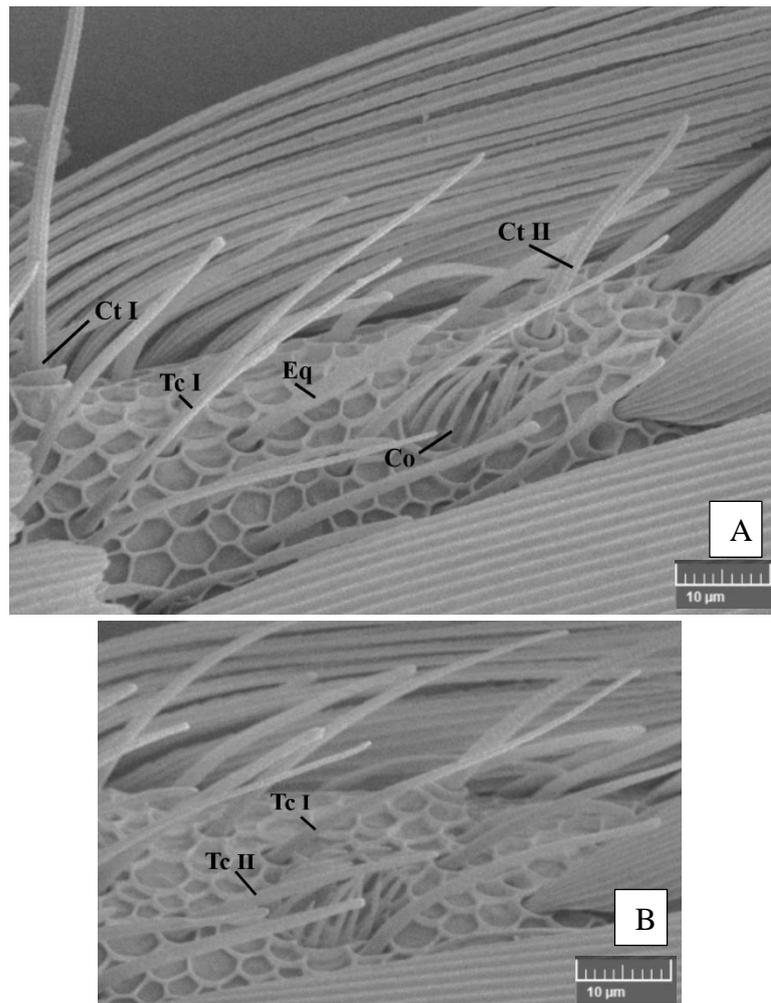
	Comprimento (μm)	Largura basal (μm)
Tricoide (Tc I)	$24,4 \pm 0,8$	$1,8 \pm 0,1$
Tricoide (Tc II)	$29,3 \pm 0,3$	$2,2 \pm 0,1$
Coelocônica	$6,5 \pm 0,2$	$5,1 \pm 0,1$
Esquamiforme	$17,6 \pm 0,5$	$1,9 \pm 0,1$
Ca�tica (Ct I)	$28,8 \pm 0,3$	$3,4 \pm 0,2$
Ca�tica (Ct II)	$19,3 \pm 0,7$	$2,9 \pm 0,1$

Figura 33 – Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da antena de *Anacampsis phytomiella* Busck, 1914 (Lepidoptera: Gelechiidae).



Fonte: Autor (2019).

Figura 34 – Microscopia eletrônica de varredura (MEV) de sensilas dos tipos tricoide (Tc I (A), Tc II (A, B), coelocônica (Co), esquamiforme (Sq) e caética (Ct I e Ct II) (A) presentes nas antenas de *Anacampsis phytomiella* Busck, 1914 (Lepidoptera: Gelechiidae).



Fonte: Autor (2019).

5.3.3 Análises químicas dos extratos sexuais de *Anacamptis phytomiella*

Durante o período de chamamento foi realizada a excisão da glândula sexual da fêmea e esses extratos analisados em CG-DIC e CG-EM que permitiu a identificação de nove compostos presentes na glândula sexual de *A. phytomiella*. A Figura 35 mostra os picos característicos dos compostos identificados no íonograma obtido do extrato das glândulas de fêmeas de *A. phytomiella* (Tabela 8).

Figura 35 – Íonograma do extrato da glândula sexual de fêmeas de *A. phytomiella*, coletadas no município de Boca da Mata, Alagoas.

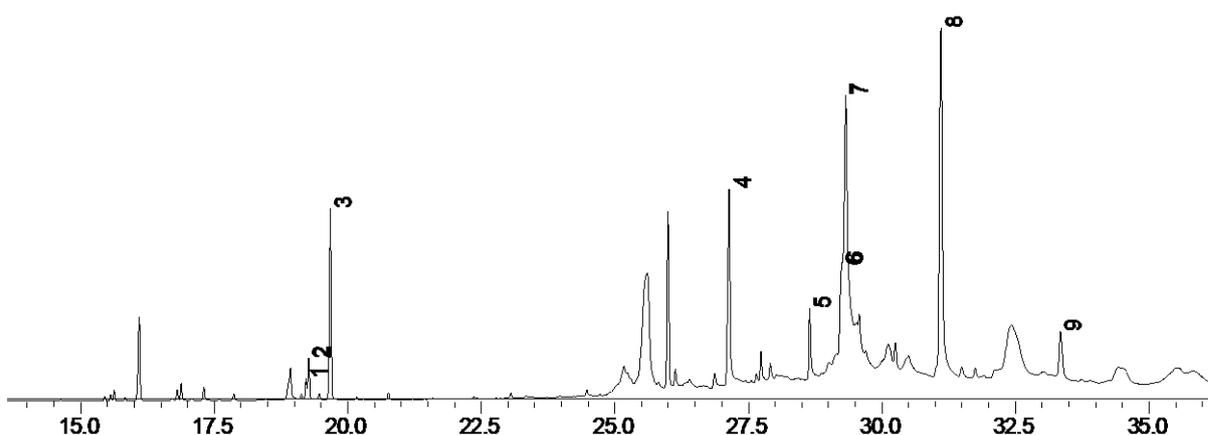


Tabela 9 - Tempo de retenção, Índice de Kovats¹ e nomenclaturas dos compostos presentes nas glândulas sexuais de fêmeas de *A. phytomiella*, de acordo com a Figura 30.

	KI ¹	Tempo de retenção	Compostos indicados pelos valores de KI
1	1401	19.220	Acetado de decila
2	1404	19.265	Acetato de 7-decenila
3	1429	19.675	Acetato de 7,9-decadienila
4	1951	27.140	Acetato de hexadecanol
5	2075	28.645	Octadecanol
6	2122	29.240	Acido 9-octadecenóico
7	2128	29.325	Acido 6-octadecenóico
8	2252	31.100	9-octadecenol
9	2372	33.345	Acetato de Eicosanila

5.3.4 Análises eletroantegráficas (CG-EAD)

Observou-se inicialmente que as antenas de fêmeas não responderam aos extratos de glândula sexual de fêmeas. Foram testadas 20 antenas de 20 insetos uma por vez. As antenas de insetos machos avaliadas responderam positivamente aos extratos de glândulas sexuais de fêmeas de acordo com o CG-EAD apresentado nas Figuras 36, 37.

Figura 36 - Cromatograma gasoso acoplada ao eletroantegráfico da antena de machos de *Anacamptis phytomiella* quando expostas a extratos de glândulas de feromônio de fêmeas.

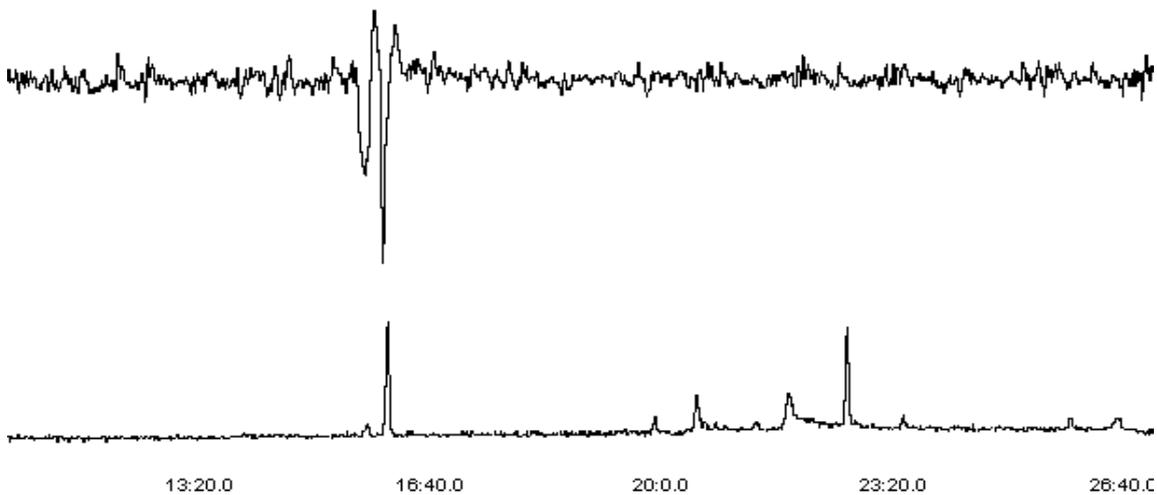
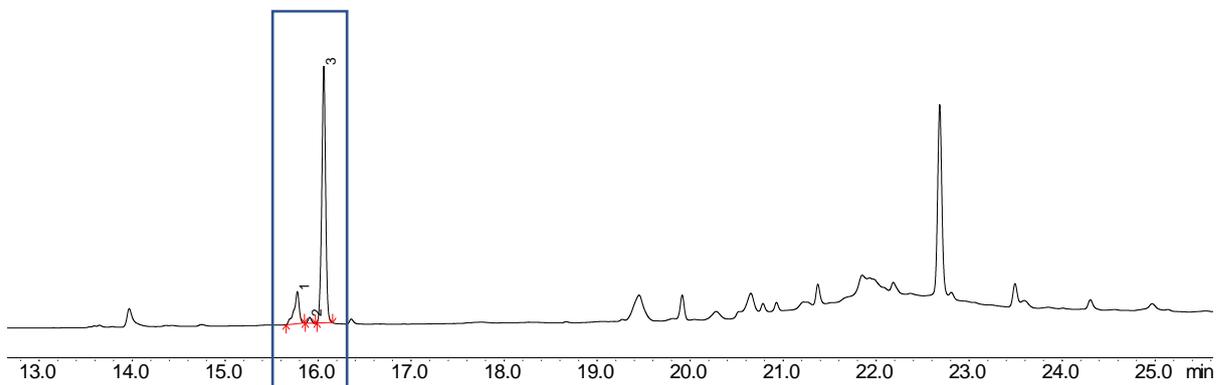


Figura 37 – Cromatograma CG-DIC com método utilizado no CG-EAD para identificar a região dos compostos com resposta de antenas de machos a extrato de glândulas sexuais de fêmeas de *Anacamptis phytomiella*, de acordo com a figura 36.



De acordo com a resposta apresentada no CG-EAD e análise do tempo de retenção dos compostos com atividade eletrofisiológica (Figura 36) foram identificamos três picos, que pelas análises dos espectros de massas dos compostos considerados ativos sugerem acetatos de cadeia saturada e insaturada apresentando de 10 a 12 átomos de carbono (Figura 38, 39).

O espectro de massa do composto 1 (Figura 38), com massa molecular de 200 g/mol, apresentou íon fragmento m/z 140 (6,34 %) correspondente ao íon fragmento $M^+ - 60$, característicos de acetatos, e um pico íon base 43 m/z (100 %). O composto 2 (Figura 38), com massa molecular de 198 g/mol, apresentou íon fragmento m/z 138 (20,41 %) correspondente ao íon fragmento $M^+ - 60$, característicos de acetatos, e um pico íon base 68 m/z (100 %). O composto 3 (Figura 38), com massa molecular de 196 g/mol, apresentou íon fragmento m/z 136 (36,37 %) correspondente ao íon fragmento $M^+ - 60$, característicos de acetatos, e um pico íon base 43 m/z (100 %).

A proposta para o feromônio sexual de *A. phytomiella* são três compostos, identificados como: Acetato de decila, Acetato de 7-decenila e Acetato de 7,9-decadienila (Figura 38, 39). A estereoquímica em torno das duplas ligações não foi determinada.

Figura 38 – Ampliação do perfil cromatográfico de íons totais (CG/EM) na região que apresenta resposta eletroantegráfica em *Anacamopsis phytomiella*, Busck, 1914, de acordo com a figura 36.

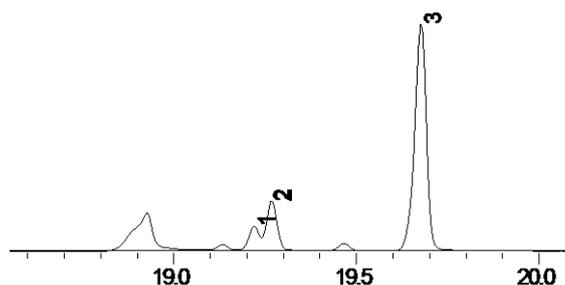
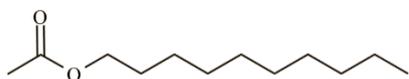
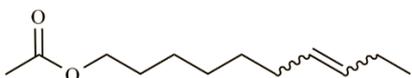


Figura 39 - Estrutura molecular dos compostos eletrofisiologicamente ativos presentes no extrato de glândula de *Anacamopsis phytomiella*, Busck, 1914, de acordo com a ordem da figura 36.

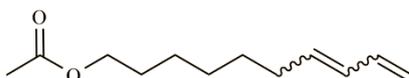
1 - Acetato de decila



2 - Acetato de 7-decenila



3 - Acetato de 7,9-decadienila



5.4 DISCUSSÃO

A maioria das mariposas apresentam hábitos noturnos para alimentação e reprodução, e sugere-se que esse comportamento ocorra por mecanismos de defesa, para diminuir as chances de serem predadas e também por fotosensibilidade (RESH; CARDÉ, 2009). O estudo revelou que *A. phytomiella* tem hábitos totalmente noturnos e que existem sinais químicos que mediam o encontro com machos.

Algumas espécies de lepidópteras apresentam sensibilidade à luz, e essa irritação interfere no comportamento sexual dos insetos, como por exemplo, as mariposas *Zamagiria dixolophella* Dyar (Lepidoptera: Pytalidae) e *Sesamia inferens* Walker (Lepidoptera: Noctuidae), que apresentaram horário de chamamento na segunda e terceira hora da escotofase e esse comportamento iniciado no mesmo dia da emergência do adulto (NAGAYAMA et al., 2004; CASTREJÓN-GOMES, 2010). Para *A. phytomiella* nenhuma das fêmeas apresentou comportamento de chamamento antes de 24h da sua emergência, caso que já não se aplica aos machos, que foram ativos no mesmo dia da sua emergência.

A espécie *A. phytomiella* apresenta também outro comportamento divergente da maioria das mariposas de lepidópteras, tomando como exemplo *Diaphania glauculalis* Guenée (Lepidoptera: Cambidae), *Paysandisia archon* Burmeister (Lepidoptera: Castniidae), *Trichophyesis cretacea* Butler (Lepidoptera: Crambidae) e *Agrotis ypsilon* Rottemberg (Lepidoptera: Noctuidae) no momento de chamamento em que a fêmea expõe sua glândula de liberação do feromônio é comum que haja uma curvatura do abdome que o faça sobressair as asas (MA et al., 2015; DELL-VEDOVE et al., 2014; PENG et al., 2012; XIANG, YANG, LI et al., 2010)

As antenas de machos têm um grande número de sensilas que contêm neurônios receptores olfativos específicos para componentes dos feromônios sexuais feminino (SCHLAMP et al., 2006). Geralmente as sensilas com poros distribuídos sobre as paredes cuticulares estão envolvidas na quimiorrecepção.

Nesse estudo, quatro diferentes tipos de sensilas foram identificadas nas antenas de *A. phytomiella*. As sensilas tricoides e coelocônicas têm poros nas paredes cuticulares, sugerindo que podem estar associadas ao olfato da mariposa, as mesmas sensilas foram encontradas na *Sitotroga cerealella* Olivier, 1789 (Lepidoptera: Gelechiidae) (MA et al., 2017).

Muitos estudos demonstram que as sensilas tricoides Tr I e Tr II com poros bem desenvolvidos em suas paredes cuticulares contêm receptores olfativos que detectam os feromônios sexuais (KEIL, 1989; DOLZER, FISCHER, STENGL, 2003). Para a sensila

coelocônica, estas paredes duplas e a sensibilidade multiporosa poderia ser exclusivamente olfativa (SHIELDS, HILDEBRAND, 1999) que é atribuída a elas a possibilidade de higrorrecepção e termorrecepção (ALTNER et al, 1983) e na percepção de CO₂ (STANGE, STOWE, 1999).

A função das sensilas esquamiforme não está bem documentada, por sua estrutura de parede não porosa, indica uma função não olfativa, e podem ter função mecanorreceptoras (MARK; PARSON; HOLWELL, 2018), talvez envolvidos na percepção de movimentos aéreos. As sensilas caéticas possuem funções de recepção mecânica e química devido a sua base flexível e abertura terminal (SCHNEIDER, 1964). Podendo desempenhar um papel na orientação do comportamento de oviposição de fêmeas (BAWIN et al., 2017).

Compostos dos grupos químicos álcoois, acetatos e aldeídos são comumente descritos em feromônios sexuais de insetos da família Gelechiidae (ANDO, 2017). A espécie *Anacamptis phytomiella* apresentou resposta a três acetatos, de dez a doze átomos de carbono na cadeia com e sem insaturações, essas características são comuns a maioria dos Gelechiidae de acordo com a base de dados El- Sayed (2019). O lepidoptera *Dendrolimus tabulaeformis* Tsai e Liu (Lepidoptera: Lasiocampidae) apresenta atividade biológica a seis compostos aos quais tem similaridade a alguns sugeridos para broca das pontas, acetato de (Z)-5-dodecenila, álcool de (Z)-5-dodecenila, acetato de (5Z,7E)-5,7-dodecadienila, propionato de (5Z,7E)-5,7-dodecadienila, e (5Z,7E)-5,7-dodecadienol (KONG et al., 2012). Nesses compostos nota-se que existe uma molécula de acetato com uma insaturação na posição 5 e essa mesma posição de insaturação é encontrada em moléculas com duas insaturações.

Continuando na linha de compostos com similaridade ao da praga em estudo, encontra-se a mistura feromonal da praga *Anarsia lineatella* Zeller (Lepidoptera: Gelechiidae), Acetato de (E)-5-decenila e (E)-5-decenol, esses compostos apresentam uma insaturação, com dez carbonos na cadeia (SHLAMP et al., 2005). Nos compostos Acetato de (Z)-3-dodecenila e Acetato de (Z)-5-tetradecenila componentes do feromônio sexual de *Monochroa divisella* Douglas (Lepidoptera: Gelechiidae) (TABATA; KUBOTA, 2017), o primeiro composto também está dentro da faixa de similaridade dos compostos propostos para broca das pontas.

A praga *Aproaerema modicella* Deventer (Lepidoptera: Gelechiidae) conhecida como traça da folha do amendoim, ou minadora de folhas do amendoim apresenta como feromônio sexual a mistura de Acetato de (Z) 7,9-decadienila, Acetato de (E)-7-decenila e acetato de (Z)-7-decenila (JYOTHI et al., 2008), esses compostos são os mesmo que estamos propondo para *A. phymiella*, seguindo a proposição de que o composto monoinsaturado na posição 7 possa estar presente também no composto com dupla insaturação, seguindo a mesma linha de

produção do composto pela enzima responsável. A configuração (*Z*) na posição 7 do acetato de decenila é o composto ativo para *Diachrysis stenochrysis* Warren (Lepidoptera: Noctuidae) (INOMATA et al., 2005). O que reafirma que esses compostos são comuns não somente a família Gelechiidae também está presente em outras famílias de lepidópteras.

No trabalho realizado com a praga *Batrachedra amydrauta* Meyrick (Lepidoptera: Batrachedridae) foram analisados compostos acetatos com dez carbonos com cadeia não conjugada, conjugada e monoinsaturados, em uma coluna RTX-5SiMS, e observado os Índices de Kovats 1401 e 1404 para acetato de (*E*)-7-decenila e acetato de (*Z*)-7-decenila e 1435 e 1436 para o acetato de 7(*E*),9-decadienila e acetato de 7(*Z*),9-decadienila (LEVI-ZADA et al., 2011). Os índices de Kovats 1401 e 1404 assemelham-se aos encontrados neste trabalho para os mesmos compostos, para o primeiro nesse trabalho foi proposto o composto Acetato de decila, para o composto de IK 1435 e 1436 neste trabalho foi calculado para o mesmo 1429, estes valores de proximidade do IK também são indicações de que as propostas apresentadas nesse trabalho estão de acordo com o observado na literatura.

5.5 CONCLUSÃO

As mariposas de *A. phytomiella* têm hábitos noturnos para comportamento sexual, e os machos apresentam as sensilas tricoide e coelocônica receptivas a feromônios. E com esse estudo propomos que os componentes do feromônio sexual são produzidos pelas fêmeas de *A. phytomiella*. A análise dos espectros de massas permitiu identifica-los como o acetato de decila, acetato de 7-decenila e acetato de 7,9-decadienila. Para confirmações dos compostos será necessária a síntese e estudos de derivatizações das moléculas.

REFERÊNCIAS

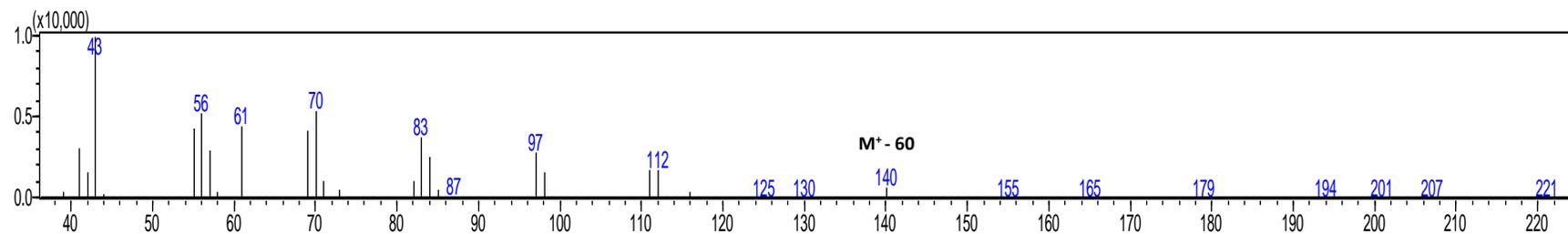
- AGROFIT**: Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários, 2019. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/servicos-e-sistemas/sistemas/agrofit>>. Acesso em: 25 de janeiro. 2019.
- ALTNER, H. et al. Poreless sensilla with inflexible sockets. **Cell Tissue Research**, v. 234, p. 279–307, 1983.
- ANDO, T. **The list of Lepidopteran sex pheromones and attractants**. Disponível em: <<http://lepiphormone.sakura.ne.jp/lepiphormolist.html>> 2017. Acessado em: 26 de abril 2018.
- CASTREJÓN-GÓMEZ, V. R. Evidence of a sex pheromone and daily calling pattern of females of *Zamagiria dixolophella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Florida Entomologist**, vol. 93, n. 2, p. 147-152, 2010.
- BAWIN, T. et al. Structure and Distribution of the Sensilla on the Antennae of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Micron**, v. 96, p. 16–28, 2017.
- DELLE-VEDOVE, R. et al. 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**, v. 14, n. 52, p. :1-14, 2014.
- DIAS-PINI, N. da S. et al. Preferência da traça-da-castanha por genótipos de cajueiro-anão e metodologia de avaliação da infestação em campo. Fortaleza: **Embrapa Agroindústria Tropical: Comunicado técnico**, 137, 20p., 2017. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1071996/preferencia-da-traca-da-castanha-por-genotipos-de-cajueiro-anao-e-metodologia-de-avaliacao-da-infestacao-em-campo>>. Acesso em: 28 nov. 2018.
- DOLZER, J.; FISCHER, K.; STENGL, M. Adaptation in pheromone-sensitive trichoid sensilla of the hawkmoth *Manduca sexta*. **Journal of Experimental Biology**, v. 206, p. 1575–1588, 2003.
- EL-SAYED, A.M. **The Pherobase**: Database of Pheromones and Semiochemicals. Disponível em: <<http://www.pherobase.com>>, 2018. Acesso em: 28 jul. 2018.
- FAOSTAT - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS**. Key statistics of food and agriculture external trade.2018. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/342/default.aspx>> Acesso em: 15 jul. 2018.
- GOULART, H. F. et al. Feromônios: Uma Alternativa Verde para o Manejo Integrado de Pragas. **Revista Virtual Química**, v. 7, n.4, p.1205-1224, 2015.
- IBGE**: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2018. Disponível em: <<http://www.sidra.IBGE.gov.br/bda/tabela>>. Acesso em: 25 de outubro. 2018.
- INOMATA, S. I. et al. Mating communication systems of four plusiinae species distributed in Japan: identification of the sex pheromones and field evaluation. **Journal of Chemical Ecology**, v. 31, n. 6, 2005.

- JYOTHI, K. et al. Electrophysiological responses of both sexes of groundnut leaf miner, *Aproaerema modicella* (Lepidoptera: Gelechiidae) to synthetic female sex pheromone blend. **Current Science**, v. 94, p. 629-633, 2008.
- KEIL, T. A. Fine structure of the pheromone-sensitive sensilla on the antenna of the hawkmoth, *Manduca sexta*. **Tissue Cell**, v. 21, p. 139–151, 1989.
- KONG, X. B. et al. Identification of Components of the Female Sex Pheromone of the Simao Pine Caterpillar Moth, *Dendrolimus kikuchii* Matsumura. **Journal of Chemical Ecology**, v. 37, p. 412–419, 2011.
- KONG, X. B. et al. Identification and behavioral evaluation of sex pheromone components of the chinese pine caterpillar moth, *Dendrolimus tabulaeformis*. **Plos one**, v. 7, n. 3, e33381, 2012.
- LEVI-ZADA, A. et al. Identification of the sex pheromone of the lesser date moth, *Batrachedra amydraula*, using sequential SPME auto-sampling. **Tetrahedron Letters**, v. 52, p. 4550–4553, 2011.
- MA, T. et al. Electrophysiological and behavioral responses of *Diaphania glauculalis* males to female sex pheromone. **Environmental Science Pollution Research**, vol. 22, p. 15046–15054, 2015.
- MA, M. et al. Ultrastructure of sensilla of antennae and ovipositor of *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae) and location of female sex pheromone gland. **Science Report**, v. 7, n. 40637, 2017.
- MARK, C. J.; PARSON, S.; HOLWELL, G. I. Antennal morphology and micro-sensory architecture of the New Zealand magpie moth, *Nyctemera annulata* (Lepidoptera: Erebidae): diversity, distribution and dimorphism. **Austral Entomology**, v. 57, p. 303-323, 2018.
- MESQUITA, A.L.M.; SILVA, R.G.; SOBRINHO, R.B. Ataque da traça-da-castanha (*Anacamsis cf. phytomiella*) em ramos ponteiros de cajueiro. Fortaleza: **Embrapa Agroindústria Tropical: Comunicado técnico**, 40, 3p., 1999.
- MESQUITA, A. L. M. et al. Controle da traça-da-castanha com produtos à base de óleos essenciais e hidrolatos. Fortaleza: **Embrapa Agroindústria Tropical: Comunicado técnico**, 135, 3p., 2008. Disponível em: <http://www.cnpat.embrapa.br/cnpat/down/index.php?pub/cot135.pdf>. Acesso em: 13 jul. 2015.
- MESQUITA A.L.M.; BRAGA SOBRINHO, R. Pragas e doenças do cajueiro. In: ARAÚJO, J.P.P. (Ed.). **Agronegócio caju: práticas e inovações**, Brasília: Embrapa, p. 195-215, 2013.
- NAGAYAMA, A. et al. Emergence and mating behavior of the pink borer, *Sesamia inferens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae). **Applied Entomology Zoology**, v. 39, n.4, p. 625–629, 2004.

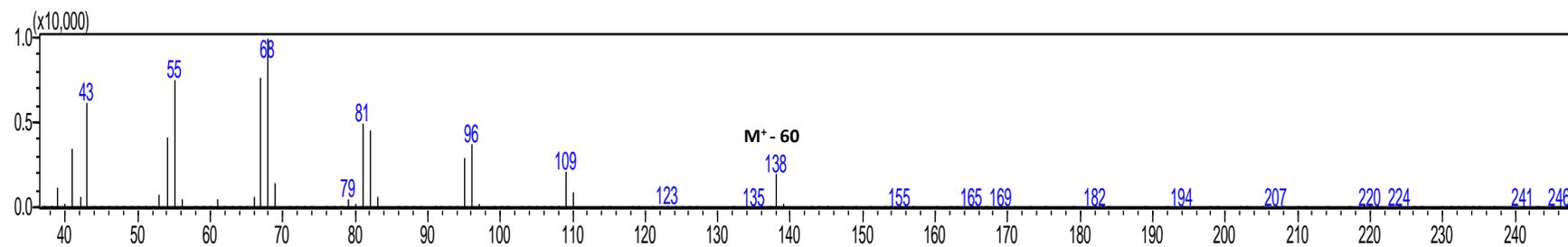
- PENG, C. L. et al. Identification and field bioassay of the sex pheromone of *Trichophyesis cretacea* (Lepidoptera: Crambidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 105, n.5, p. 1566-1572, 2012.
- RENOU, M.; GUERRERO, A. Insect parapheromones in olfaction research and semiochemical-based pest control strategies. **Annual Review Entomology**, v.45, p.605-630, 2000.
- RESH, V. H.; CARDÉ, R. T. **Encyclopedia of insects**. Edit: Academic Press, second edition, 2009, p.576.
- 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., Plenum, p. 207–228, 1981.
- SANTOS-SEREJO, J. A. et al. **Fruticultura tropical: espécies regionais e exóticas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p. 107-132, 2009.
- SCHLAMP, K.K. et al. Pheromone components from body scales of female *Anarsia lineatella* induce contacts by conspecific males. **Journal of Chemical Ecology**, v. 31, N. 12, 2005.
- SCHLAMP, K. K. et al. Diel periodicity of sexual communication in *Anarsia lineatella* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Canadian Entomologist**, v. 138, p. 384–389, 2006.
- SCHNEIDER, D. Insect antennae. **Annual Review Entomology**, v. 9, p. 103–122, 1964.
- SHIELDS, V. D. C.; HILDEBRAND, J. G. Fine structure of antennal sensilla of the female sphinx moth, *Manduca sexta* (Lepidoptera: Sphingidae). I. Trichoid and basiconic sensilla. **Canadian Journal Zoology**, v. 77, p. 290–301, 1999.
- STANGE, G.; STOWE, S. Carbon-dioxide sensing structures in terrestrial arthropods. **Microscopy Research and Technique**, v. 47, p. 416–427, 1999.
- TABATA, J.; KUBOTA, SAKAE. Sex pheromone of the iris gelechiid moth *Monochroa divisella*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 164, p. 113–119, 2017.
- XIANG, Y. Y.; YANG, M. F.; LI, Z. Z. Calling behavior and rhythms of sex pheromone production in the black cutworm moth in China. **Journal Insect Behaviour**, vol. 23, p. 35–44, 2010.
- YANG, C. Y. et al. Female Sex Pheromone of the Gelechiid Moth *Scrobipalpa salinella* (Zeller). **Journal of Chemical Ecology**, v.37, p.1216–1221, 2011.

APÊNDICES

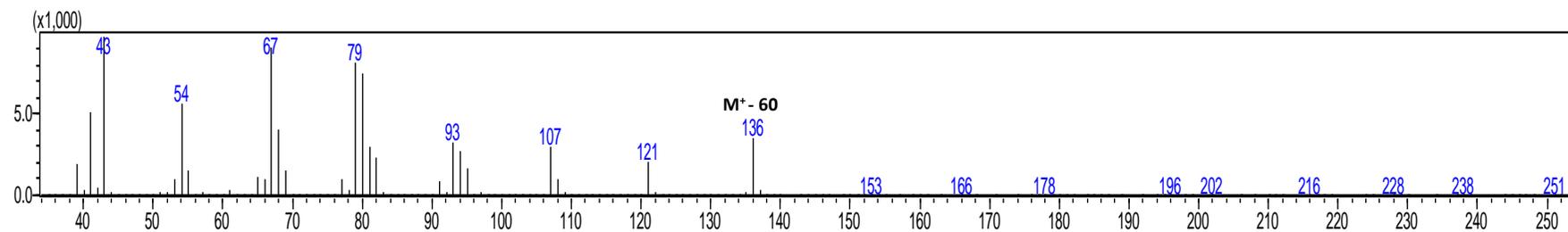
Apêndice A – Espectro de massas do acetato de decila



Apêndice B – Espectros de massas do acetato de 7-decenila



Apêndice C – Espectros de massas do acetato de 7,9 – decadienila



ANEXO

**Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de
Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT**

Número do Processo: BR 10 2018 076213 3

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 24464109000148

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Av. Lourival Melo Mota, sh, Tabuleiro do Martins

Cidade: Maceió

Estado: AL

CEP: 57072-970

País: Brasil

Telefone: 82-3214-1054

Fax: 82-3214-1035

Email: nit@procep.ufal.br