

Nota Técnica

Compostos orgânicos voláteis (COVs) cuticulares em *Thyrinteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae)

Cuticular volatile organic compounds (COVs) in *Thyrinteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae)

**Camila Alexandre Cavalcante de Almeida¹ , Fernanda da Silva Gonçalves¹ ,
Matheus Barros Rodrigues¹ , Anderson Bruno Anacleto de Andrade¹ ,
Jakeline Maria dos Santos¹ , Mariana Oliveira Breda¹ ,
Antônio Euzébio Goulart Santana¹ **

¹Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, AL, Brasil

RESUMO

A lagarta-parda do eucalipto, *Thyrinteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae), vem sendo relatada de forma significativa em povoamentos florestais. A importância econômica de *Thyrinteina arnobia* para o setor florestal na atualidade evidencia a necessidade da consolidação do Manejo Integrado de Pragas Florestais (MIP Floresta), incluindo métodos de monitoramento e controle através de semioquímicos, como o emprego de feromônios. Os compostos químicos voláteis (COVs) em substâncias cuticulares de insetos podem contribuir na regulação da interação entre os indivíduos, sendo objeto de estudo da ecologia química. Dessa forma, objetivou-se realizar uma prospecção dos compostos orgânicos voláteis (COVs) cuticulares em *Thyrinteina arnobia* e avaliar o papel desses compostos como possíveis feromônios de curta distância. Para o estudo químico de substâncias feromonais, foi realizada a extração de compostos cuticulares (asas e pernas) em *Thyrinteina arnobia* de machos e fêmeas. Os extratos obtidos foram analisados por cromatografia gasosa com detector de ionização de chamas (GC-FID). Foi realizado um espectro de ação por meio da eletroantenografia acoplada à cromatografia gasosa (CG-EAG) dos extratos de asas e pernas de fêmeas virgens sobre a antena de machos de *Thyrinteina arnobia*. Contudo, não foi possível observar diferença significativa nas respostas das antenas de machos a nenhum dos estímulos oferecidos. Assim, é possível inferir que *Thyrinteina arnobia* não faz uso de compostos cuticulares para reconhecimento a curta distância, sendo necessários estudos complementares de comportamento sexual, incluindo observação de corte e cópula.

Palavras-chave: Lagarta-parda do eucalipto; Feromônios de curta distância; Componentes cuticulares

ABSTRACT

The eucalyptus brown caterpillar, *Thyriniteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae), has been significantly reported in forest stands. The economic importance of *Thyriniteina arnobia* for the forestry sector today highlights the need to consolidate the Forest Integrated Pest Management (Forest IPM), including methods of monitoring and control through the use of semiochemicals, such as pheromones. Volatile chemical compounds (VOCs) in cuticular substances from insects, may contribute to the regulation in interaction between individuals, as object of study for chemical ecology. Thus, it was aimed the prospection for cuticular volatile organic compounds (VOCs) in *Thyriniteina arnobia* and the evaluation of the role of these compounds as possible short-distance pheromones for the species. For the study of pheromone chemical substances, cuticular compounds were extracted from wings and legs of *Thyriniteina arnobia*. The selected extracts were analyzed by gas chromatography with flame ionization detector (GC-FID). An action spectrum was carried out by electroantennography coupled to gas chromatography (GC-EAG) of wings and legs extracts from virgin female upon *Thyriniteina arnobia* male antenna, however, it was not possible to observe significant differences at the responses of the male antennae to any of the offered stimuli. Therefore, it is possible to infer that *Thyriniteina arnobia* does not use cuticular compounds for short distance recognition, thus complementary studies of sexual behavior, including observation of courtship and copulation are needed.

Keywords: Eucalyptus brown caterpillar; Short distance pheromones; Cuticular compounds

1 INTRODUÇÃO

Thyriniteina arnobia (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae) é atualmente considerada um dos principais entraves entomológicos para a eucaliptocultura nacional, ocasionando injúrias que se iniciam da base para o ápice da copa e da extremidade para o interior do povoamento florestal, gerando perdas frequentes e significativas na produção (OLIVEIRA; PEDRUZZI; PEREIRA, 2010).

A importância econômica de *Thyriniteina arnobia* para o setor florestal na atualidade expõe a necessidade de desenvolvimento de ferramentas que auxiliem a consolidação de programas de Manejo Integrado de Pragas Florestais (MIP Floresta), abrangendo monitoramento e controle. Assim, o estudo da ecologia química é uma alternativa que envolve aspectos biológicos, fisiológicos, comportamentais, bioquímicos e genéticos, principalmente através da síntese e aplicação de semioquímicos, facilitando a determinação da dinâmica populacional e proporcionando controle efetivo, seguro e ambientalmente sustentável (VILELA; DELLA LUCIA, 2001).

Nesse sentido, compostos orgânicos voláteis (COVs) presentes na cutícula de determinados insetos, podem atuar como feromônios sexuais de curta distância (feromônios de contato), desempenhando papel fundamental no comportamento sexual, estando diretamente relacionados ao sucesso dos processos de corte e cópula, e conseqüentemente na manutenção de futuras gerações (BLOMQUIST *et al.*, 1993). Dessa maneira, o estudo e análise dos perfis cuticulares em insetos possuem potencial de incrementar a eficiência de estratégias de manejo baseadas em comportamento sexual (PETERSON *et al.*, 2007).

Diante do exposto, o objetivo desta pesquisa foi verificar a presença de compostos orgânicos voláteis (COVs) cuticulares em *Thyrinteina arnobia* e avaliar a bioatividade dessas substâncias como possíveis feromônios sexuais de curta distância para a espécie.

2 MATERIAL E MÉTODO

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Entomologia Agrícola e Florestal (LEAF) do *Campus* de Engenharia e Ciências Agrárias (CECA) e Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais (LPqRN) do Instituto de Química e Biotecnologia (IQB), ambos da Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

Formas biológicas de *Thyrinteina arnobia* foram obtidas por meio de coletas manuais e com o uso de rede entomológica em plantios de *Eucalyptus urograndis*, variedades 1407 e 224, na Agropecuária Albuquerque, município de Atalaia, Alagoas, 9°30'27"S e 36°1'24"W.

Para o estudo químico de substâncias feromonais de *Thyrinteina arnobia*, foram utilizados 10 fêmeas e 30 machos virgens com 24-48 h de idade, priorizando as primeiras horas da escotofase, conforme comportamento relatado de chamamento de *Thyrinteina arnobia* (BATISTA-PEREIRA *et al.*, 2004). As asas (anteriores e posteriores) e pernas (anteriores, medianas e posteriores) de machos e fêmeas foram retiradas com o auxílio de tesoura de dissecação e imersas separadamente em 1 mL de solvente

hexano estando em repouso por um período de 20 min. Após esse período, os extratos foram filtrados com lã de vidro, colocados em um vial de 2 mL e acondicionados em *freezer* (-20°C) até o momento da análise.

Os extratos obtidos foram analisados por cromatografia gasosa com detector de ionização em chamas (GC-FID 2010) (Shimadzu), com suporte de gás hélio para função arrasto, apresentando rampa de aquecimento de 50°C por 5 minutos e taxa de aquecimento de 8°C até atingir 280°C por um período de 10 minutos, tendo fluxo de 1.1 mL/min e fluxo total de 15 mL/min, utilizando a coluna capilar NST-05 com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura do filme. O volume de injeção dos extratos foi de 3 µL. Após injeção, os picos observados foram comparados com padrões de alcanos C13 e C7 - C30, e os respectivos Índices de Kovats (IKs) foram calculados, através do banco de dados do Pherobase.

Foi realizado um espectro de ação do tipo “puff” através da eletroantenografia acoplada à cromatografia gasosa (CG-EAG) dos extratos de asas (anteriores e posteriores) e pernas (anteriores, medianas e posteriores) de fêmeas virgens sobre a antena de machos de *Thyrinteina arnobia*. Um gel condutor de eletricidade foi usado para cobrir as extremidades (Signa gel, Parker Labs, EUA). Como forma de controle, as antenas dos machos receberam estímulos contendo apenas ar e também hexano. Para cada amostra do extrato, foi adicionado 10µL em um papel de filtro (2,0 cm x 1,0 cm) inserido em uma pipeta de pasteur de vidro e conectado ao sistema gerador de pulsos (“Puff”) (Stimulus Controller, Type CS-55, Syntech). Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste t-Student a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises dos extratos obtidos por GC-FID dos extratos cuticulares de *Thyrinteina arnobia* permitiram a observação de uma quantidade significativa de possíveis compostos específicos em partes do corpo de machos e fêmeas.

Por meio dos resultados obtidos por GC-FID de asas de *Thyrinteina arnobia* foi possível detectar um total de 33 e 41 compostos para asas anteriores e posteriores de fêmeas, além de 12 e 43 compostos para asas anteriores e posteriores de machos, respectivamente. Comparando os compostos sugeridos através dos Índices de Kovats (IKs) mais comuns entre asas anteriores e posteriores, as indicações dos compostos 1-Octene, 3-Mercaptopropan-1-ol, 5-Methylheptan-2-ol, 2,3,7-Tribromo-8-chlorodibenzodioxin se destacam por se encontrar nas asas anteriores de fêmeas e asas posteriores de machos e fêmeas; já as sugestões dos compostos 3,8-Dimethylundecane, (Z)-4-Dodecenal e 2-Methyl-1-benzothiophene se destacam por estarem ausentes apenas nas asas posteriores de fêmeas de *Thyrinteina arnobia* (Tabela 1).

Tabela 1 – Principais compostos sugeridos através do Índice de Kovats (IK) em asas anteriores e posteriores de machos e fêmeas de *Thyrinteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae)

IK Cal.	Compostos orgânicos voláteis (COVs) sugeridos	Asas anteriores		Asas posteriores	
		M(♂) ¹	F(♀) ²	M(♂) ¹	F(♀) ²
790	1-Octene	-	+	+	+
798	3-Mercaptopropan-1-ol	-	+	+	+
856	5-Methylheptan-2-ol	-	+	+	+
1063	3,8-Dimethylundecane	+	+	+	-
1283	2-Methyl-1-benzothiophene	+	+	+	-
1393	(Z)-4-Dodecenal	+	+	+	-
1880	2-Bromo-dibenzodioxin	+	+	+	-
2702	2,3,7-Tribromo-8-chlorodibenzodioxin	-	+	+	+
2903	Silafluofen	-	+	+	+

Fonte: Autores (2020)

Em que: Índices de Kovats (IK) para coluna NST-05; + Composto presente; - Composto ausente; ¹Machos; ²Fêmeas

Por meio dos resultados obtidos por GC-FID de pernas de *Thyrinteina arnobia* foi possível detectar um total de 24; 17 e 13 compostos para pernas anteriores, medianas e posteriores de fêmeas, além de 21; 37 e 26 compostos para pernas

anteriores, medianas e posteriores de machos, respectivamente. Em relação aos compostos químicos sugeridos semelhantes entre pernas de fêmeas e machos de *Thyrinteina arnobia*, para pernas anteriores apenas o composto 1,2,4,6,9-Pentaclorodibenzofurano foi indicado em comum com os demais extratos, com exceção da perna posterior de fêmea. Já entre os extratos de pernas medianas de fêmeas e machos de *Thyrinteina arnobia* foram indicados sete compostos semelhantes. Entre os extratos de pernas posteriores de fêmeas e machos de *Thyrinteina arnobia* foi sugerido apenas o 3-penteno-2-ol como composto semelhante (Tabela 2). Estudos de compostos cuticulares em *Thyrinteina arnobia* são escassos na literatura. Dessa forma, a prospecção inicial desses compostos configura-se como uma ferramenta-base, fornecendo subsídios para o estudo comportamental, visando às estratégias de manejo de pragas florestais. Porém, para a precisa identificação dos compostos cuticulares, análises mais detalhadas, utilizando cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa (CG-EM) e padrões sintéticos são indispensáveis.

Tabela 2 – Principais compostos químicos indicados através dos Índices de Kovats (IKs) em pernas anteriores, medianas e posteriores de fêmeas e machos de *Thyrinteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae)

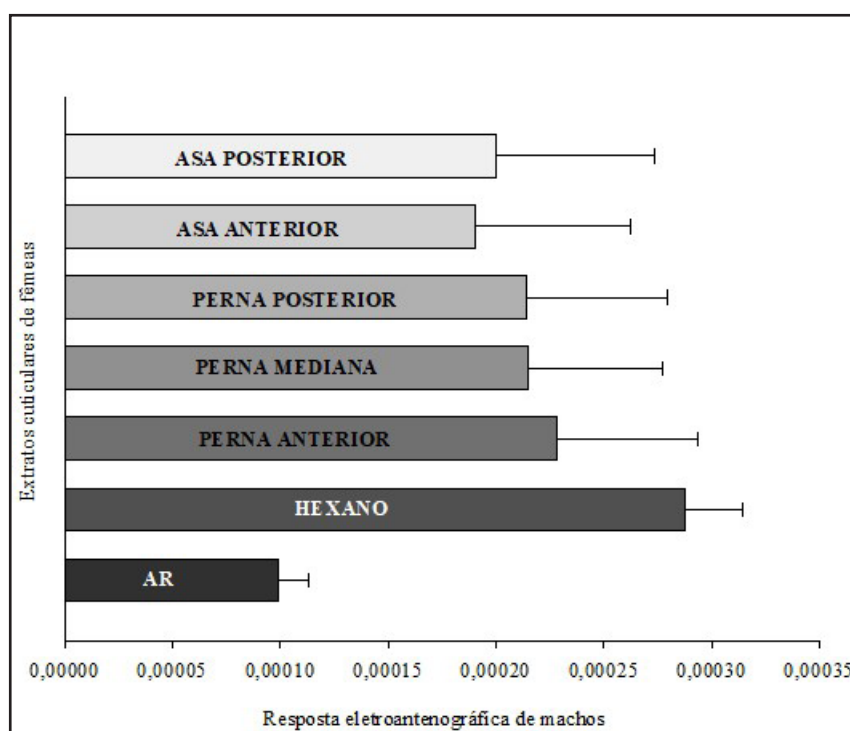
IK Cal.	Compostos orgânicos voláteis (COVs) sugeridos	Pernas anteriores		Pernas medianas		Pernas posteriores	
		M(♂) ¹	F(♀) ²	M(♂) ¹	F(♀) ²	M(♂) ¹	F(♀) ²
771	Ethyl butyrate	-	-	+	+	-	-
774	3-penteno-2-ol	-	-	-	+	+	+
1063	2-Metildecano	-	-	+	+	-	+
1283	1-Isopropenil-4-metil-1,3-ciclohexadieno	-	+	+	+	-	-
1393	(Z)-4-dodecenal	-	+	+	+	-	+
1510	2-Oxo-1,1-dipentilhidrazina	-	-	+	+	-	+
2502	1,2,4,6,9-Pentaclorodibenzofurano	+	+	+	+	+	-
2702	2,3,7-Tribromo-8-clorodibenzodioxina	-	+	+	+	-	+

Fonte: Autores (2020)

Em que: Índices de Kovats (IK) para coluna NST-05; + Composto presente; - Composto ausente; ¹Machos; ²Fêmeas

Para os extratos de asas e pernas, em testes de espectro de ação via eletroantenografia do tipo “puff” (Figura 1), não foi possível observar diferença significativa nas respostas das antenas de machos virgens de *Thyriniteina arnobia* a nenhum dos estímulos oferecidos (extratos de asa anterior e posterior, extratos de pernas anteriores, medianas e posteriores, ar e hexano) ($F= 0,93$; $P=0,4869$).

Figura 1 – Respostas eletroantegráficas via método “puff” de machos virgens de *Thyriniteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae) frente a estímulos de ar, hexano, extratos cuticulares de asas (anteriores e posteriores) e pernas (anteriores, medianas e posteriores) de fêmeas virgens



Fonte: Autores (2020)

Os compostos cuticulares em asas e pernas podem estar muitas vezes envolvidos no reconhecimento do parceiro, funcionando como feromônio sexual de curta distância em muitas espécies (PARRA-PEDRAZZOLI; LEAL, 2006). No presente estudo, contudo, em testes de espectro de ação, utilizando eletroantenografia do

tipo “puff”, não foi possível identificar respostas significativas para nenhum dos extratos de asas e pernas de fêmea, frente à antena do macho. Fundamentando-se nesses resultados, é possível inferir que o macho de *Thyrinteina arnobia* não utiliza os compostos cuticulares detectados para o reconhecimento de fêmeas a curta distância. Entretanto, estudos complementares de comportamento sexual são necessários para observação e análise de processos reprodutivos, elucidando a importância da ecologia química para esta espécie.

Estudos anteriores indicam que o comportamento reprodutivo em *Thyrinteina arnobia* inicia através do “chamamento” de fêmeas, através de exposição de glândula abdominal, durante as primeiras horas da 1ª escotofase. Ao avaliar extratos de glândulas abdominais de fêmeas, Batista-Pereira *et al.* (2006) observaram a presença de substâncias bioativas voláteis para antenas de machos de *Thyrinteina arnobia*, indicando a participação de feromônio de longa distância no comportamento sexual dessa espécie. Porém, não há relatos na literatura da presença de feromônios a curta distância para *Thyrinteina arnobia*.

De acordo com Boo e Park (2005), diferenças interpopulacionais na composição feromonal não são incomuns em insetos, assim, a identificação e estudo prévio de semioquímicos e composição de feromônios sexuais de curta e/ou longa distância em regiões específicas é bastante importante devido às variações geográficas e/ou edafoclimáticas, influenciando na composição de compostos voláteis.

As informações iniciais obtidas no presente trabalho, referentes à ausência de bioatividade dos compostos cuticulares de *Thyrinteina arnobia* para o comportamento sexual de machos da espécie, são fundamentais para o melhor entendimento da ecologia química e desenvolvimento de novos mecanismos e estudos comportamentais em povoamentos de *Eucalyptus* spp., contribuindo para a consolidação e ampliação de práticas do Manejo Integrado de Pragas Florestais (MIP Floresta).

4 CONCLUSÕES

Os compostos químicos sugeridos em comum para asas anteriores de fêmeas e machos de *Thyrinteina arnobia* foram o 3,8-Dimethylundecane, 2-Methyl-1-benzothiophene, (Z)-4-Dodecenal e o 2-Bromo-dibenzodioxin. Para asas posteriores fêmeas e machos, as substâncias químicas semelhantes sugeridas foram o 1-Octene, 3-Mercaptopropan-1-ol, 5-Methylheptan-2-ol, 2,3,7-Tribromo-8-chlorodibenzodioxin e o Silafluofen.

Em pernas anteriores, posteriores e medianas de fêmeas e machos foi sugerido o composto 1,2,4,6,9-Pentaclorodibenzofurano, exceto em perna posterior de fêmea. Em pernas medianas, sete compostos semelhantes foram indicados em pernas posteriores de fêmeas e em machos de *Thyrinteina arnobia* foi detectado apenas o 3-penteno-2-ol como composto semelhante.

Em espectro de ação, via método "puff", não foi possível identificar resposta dos extratos de asas e pernas de fêmeas frente à antena do macho de *Thyrinteina arnobia*.

Esses resultados servem como estudo-base para o desenvolvimento de estratégias de controle comportamental para o Manejo Integrado de Pragas Florestais (MIP Florestais).

REFERÊNCIAS

BATISTA-PEREIRA, L. G. *et al.* Comportamento de chamamento de *Thyrinteina arnobia* (Stoll) (Lepidoptera: Geometridae) em *Psidium guajava*, *Eucalyptus grandis* e em dieta artificial. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, n. 1, p. 21-28, 2004.

BATISTA-PEREIRA, L. G. *et al.* Electrophysiological responses of eucalyptus brown looper *Thyrinteina arnobia* to essential oils of seven *Eucalyptus* species. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 17, n. 3, p. 555-561, 2006.

BLOMQUIST, G. J. *et al.* Hydrocarbon and hydrocarbon derived sex pheromones in insects: biochemistry and endocrine regulation. In: STANLEY-SAMUELSON, D. W.; NELSON, D. R. (org.). **Insect lipids: chemistry, biochemistry and biology**. Lincoln: University of Nebraska Press, 1993. p. 317-351.

BOO, K. S.; PARK, K. C. Insect semiochemical research in Korea: overview and prospects. **Applied Entomology and Zoology**, Tokyo, v. 40, n. 1, p. 13, 2005.

OLIVEIRA, H. N.; PEDRUZZI, E. P.; PEREIRA, F. F. **Técnica de criação de *Thyriniteina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae)**. Dourados, MS: Embrapa Agropecuária Oeste, 2010.

PARRA-PEDRAZZOLI, A. L.; LEAL, W. S. Sexual Behavior of the Navel Orange worm, *Amyelois transitella* (Walker) (Lepidoptera: Pyralidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 35, n. 6, p. 769-774, 2006.

PETERSON, M. A. *et al.* Profiles of cuticular hydrocarbons mediate male mate choice and sexual isolation between hybridizing *Chrysochus* (Coleoptera: Chrysomelidae). **Chemoecology**, Basel, v. 17, p. 87-96, 2007.

VILELA, E. F.; DELLA LUCIA, T. M. C. **Feromônios de insetos: biologia, química e aplicação**. Ribeirão Preto: Holos, 2001. p. 206.

Contribuição de Autoria

1 – Camila Alexandre Cavalcante de Almeida

Engenheira Agrônoma, Ma.

<https://orcid.org/0000-0002-2989-8243> • mil.la.m@hotmail.com

Contribuição: Conceituação, Curadoria de dados, Investigação, Análise Formal, Metodologia, Software, Supervisão, Administração do projeto, Validação, Visualização de dados, Escrita - primeira redação, Escrita - revisão e edição

2 – Fernanda da Silva Gonçalves

Graduanda em Engenharia Florestal

<https://orcid.org/0000-0002-3107-9941> • fernanda.gon6060@gmail.com

Contribuição: Curadoria de dados, Investigação, Metodologia, Visualização de dados, Escrita - primeira redação

3 – Matheus Barros Rodrigues

Graduando em Engenharia Florestal

<https://orcid.org/0000-0002-4500-0595> • matheusole19@gmail.com

Contribuição: Curadoria de dados, Investigação, Metodologia, Visualização de, Escrita - primeira redação

4 – Anderson Bruno Anacleto de Andrade

Engenheiro Agrônomo, Me.

<https://orcid.org/0000-0002-6956-8660> • bdeandrade3@gmail.com

Contribuição: Conceituação, Curadoria de dados, Análise Formal, Investigação, Metodologia, Software, Supervisão, Visualização de dados

5 – Jakeline Maria dos Santos

Engenheira Agrônoma, Dra., Professora

<https://orcid.org/0000-0001-5935-8347> • jackbilu@hotmail.com

Contribuição: Conceituação, Curadoria de dados, Análise Formal, Investigação, Metodologia, Administração do projeto, Supervisão, Visualização de dados

6 – Mariana Oliveira Breda

Engenheira Agrônoma, Dra., Professora

<https://orcid.org/0000-0002-1265-957X> • breda.mariana@ceca.ufal.br

Contribuição: Conceituação, Curadoria de dados, Análise Formal, Obtenção de financiamento, Investigação, Metodologia, Administração do projeto, Recursos, Software, Supervisão, Validação, Visualização de dados, Escrita - revisão e edição

7 – Antônio Euzébio Goulart Santana

Farmacêutico, Dr., Professor

<https://orcid.org/0000-0002-3750-438X> • aegs@qui.ufal.br

Contribuição: Análise Formal, Obtenção de financiamento, Investigação, Metodologia, Recursos, Software, Visualização de dados

Como citar este artigo

Almeida, C. A. C.; Gonçalves, F. S.; Rodrigues, M. B.; Andrade, A. B. A.; Santos, J. M.; Breda, M. O.; Santana, A. E. G. Compostos orgânicos voláteis (COVs) cuticulares em *Thyrinteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae). *Ciência Florestal*, Santa Maria, v. 31, n. 2, p. 948-958, 2021. DOI 10.5902/1980509844521. Disponível em: <https://doi.org/10.5902/1980509844521>. Acesso em: xx mês-abreviado 2021.