

**CAMILA PATRÍCIA RIBEIRO DE SOUZA**

**ESTUDOS DOS COMPOSTOS FEROMONAIIS E REPRODUÇÃO DO PERCEVEJO  
CASTANHO *SCAPTOCORIS CASTANEA* PERTY, 1833 (HEMIPTERA:  
CYDNIDAE), COMO CONTRIBUIÇÃO PARA A AGRICULTURA**

**TANGARÁ DA SERRA/MT - BRASIL**

**2015**

**CAMILA PATRÍCIA RIBEIRO DE SOUZA**

**ESTUDOS DOS COMPOSTOS FEROMONAIIS E REPRODUÇÃO DO PERCEVEJO  
CASTANHO *SCAPTOCORIS CASTANEA* PERTY, 1833 (HEMIPTERA:  
CYDNIDAE), COMO CONTRIBUIÇÃO PARA A AGRICULTURA**

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ambiente e Sistemas de Produção Agrícola para a obtenção do título de mestre.

Orientadora: Prof. Dra. Mônica Josene Barbosa Pereira  
Co-orientador: Prof. Dr Antônio Euzébio Goulart Santana

**TANGARÁ DA SERRA/MT- BRASIL**

**2015**

Souza, Camila Patrícia Ribeiro.  
S7293e Estudos dos compostos feromonais e reprodução do  
percevejo castanho *Scaptocoris castanea* Perty, 1833  
(Hemiptera: Cydnidae), como contribuição para a agricultura /  
Camila Patrícia Ribeiro de Souza. – Tangará da Serra, 2015.  
58 f. ; 30 cm. il. color.

Dissertação (Mestrado em Ambientes e Sistema de Produção  
Agrícola) – Universidade do Estado de Mato Grosso, 2015

Orientador: Mônica Josene Barbosa Pereira

Coorientador: Antônio Euzébio Goulart Santana

1. Bioensaios. 2. Compostos feromonais 3. Desenvolvimento  
ovariano. I. Autor. II. Título.

CDU 595.7:63

Bibliotecário: Walter Clayton de Oliveira CRB1/2049

**CAMILA PATRÍCIA RIBEIRO DE SOUZA**

**ESTUDOS DOS COMPOSTOS FEROMONAIIS E REPRODUÇÃO DO PERCEVEJO  
CASTANHO *SCAPTOCORIS CASTANEA* PERTY, 1833 (HEMIPTERA:  
CYDNIDAE), COMO CONTRIBUIÇÃO PARA A AGRICULTURA**

Dissertação apresentada a Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Ambiente e Sistemas de Produção Agrícola, para obtenção do título de Mestre.

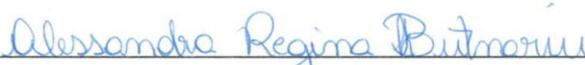
APROVADA em 27 de fevereiro de 2015.



\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Mônica Josene Barbosa Pereira  
Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT  
(Orientador)



\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Maria Carolina Blassioli Moraes  
EMBRAPA CENARGEN  
(Membro Externo)



\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Alessandra Regina Butnariu  
Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT  
(Membro Interno)

## DEDICATÓRIA

Com grande amor, alegria e carinho dedico este trabalho à minha amada família.

Aos meus pais Josefa e Cícero pelo amor incondicional dedicado a mim.

À meu amado companheiro Júnior, meu porto seguro, que teve papel fundamental para esta conquista.

À meu irmão Cícero Junior e meus sobrinhos Vinícius, Otávio e Victor.

Aos meus queridos amigos, família que Deus me permitiu escolher.

Às demais pessoas que contribuíram para realização deste trabalho.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus pela sabedoria e força concedida durante esta fase da minha vida, a todas as pessoas que contribuíram e fizeram parte desta trajetória, uma página é pouco para expressar minha gratidão.

À Associação dos Produtores de Soja e Milho de Mato Grosso (APROSOJA), pela concessão da bolsa, a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Mato Grosso (FAPEMAT) pelo financiamento do projeto.

À minha orientadora Mônica por toda dedicação em me orientar, agradeço sua contribuição na minha formação científica e profissional e a sua família pela acolhida. Aos colegas do Laboratório de Entomologia e demais laboratórios, em especial aos que me auxiliaram, Fabiano, Nilton, Leandra, quantos campos e histórias, Valvenarg, Jenifer, Edilaine, Leonardo, Jamile, Leilane, Marcela e Fabrício.

Ao Laboratório de Pesquisa em Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), em especial ao professor Euzébio, Henrique, Merybeth, Nádia, Wubiratan, Arthur e Regina, pelo auxílio e acolhida.

À minha família pelo apoio, amor e compreensão, em especial aos meus pais, Cícero e Josefa. Mãe suas orações me mantiveram de pé até hoje, a vocês dois todo amor e admiração, obrigada por todos os exemplos, valores, ensinamentos e apoio nos dias difíceis. Ao meu irmão Cícero Júnior, e aos meus anjos Vinícius e Otávio, o sorriso de vocês me incentivam, e faz os meus dias leves e felizes.

Ao meu companheiro Júnior pela compreensão (nos momentos de ausência), paciência, amor, pelo incentivo e palavras duras e doces, pelos abraços nos meus momentos de fragilidade, seu apoio foi fundamental para o término desta etapa, você foi um ótimo marido, auxiliar de campo e laboratório. Agradeço a sua mãe Eleuza pelo exemplo, apoio e palavras de incentivo.

Às minhas amigas Aline e família Dartora, a Cristina e família Sanini, a Márcia e família Abrantes, Quézia e família Santos, exemplos de amor, lealdade, amizade e companheirismo, obrigada por fazerem parte da minha vida.

Aos colegas de mestrado pela convivência, momentos de estudo e descontração, e aos amigos que fiz e levarei na minha caminhada.

À Lucimeire Camacho pela competência na realização do seu trabalho e por ser tão solícita, generosa e amiga. A coordenação do transporte e colaboradores principalmente ao Divino, Rosinei, Marciel e Miguel, por toda a ajuda em campo.

## SUMÁRIO

RESUMO GERAL .....	-
ABSTRACT .....	-
INTRODUÇÃO GERAL .....	8
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	13
Artigo 1: Estudo dos compostos defensivos emitidos pelo percevejo castanho <i>Scaptocoris castanea</i> Perty, 1833 (Hemiptera: Cydnidae).....	17
Artigo 2: Razão sexual de revoadas e aspectos reprodutivos do percevejo castanho <i>Scaptocoris castanea</i> Perty, 1833 (Hemiptera: Cydnidae) coletados em campo.....	46
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	54

## RESUMO

Os objetivos deste trabalho foram estudar os compostos feromoniais extraídos de *Scaptocoris castanea* e avaliar a razão sexual das revoadas e desenvolvimento ovariano dos insetos coletados em campo. O período de coleta do percevejo castanho foi de novembro de 2013 a abril de 2014, e novembro 2014 a março de 2015, as coletas do solo foram feitas na Fazenda Chapada em Campo Novo dos Parecis-MT, os insetos das revoadas foram coletados neste município e em outros do estado de Mato Grosso. Os insetos foram mantidos em casa de vegetação, dentro de vasos com plantas hospedeiras. A extração dos voláteis e os bioensaios foram conduzidos no Laboratório de Entomologia (CPEDA/UNEMAT), as análises químicas dos compostos e a eletroantenografia no Laboratório de Química (LPqPN/UFAL). Para extrair os voláteis dos adultos utilizou-se a técnica de aeração. Realizou-se também a extração da glândula metatorácica para identificação dos compostos de defesa. Os bioensaios em olfatômetro do tipo Y foram conduzidos para avaliar o comportamento dos adultos. Inicialmente os bioensaios foram realizados com insetos coletados no período (2013/2014) com extratos de aeração foram testados para os seguintes tratamentos: T1-extrato de fêmeas (machos); T2-extrato de machos (fêmeas); T3-extrato de fêmeas+machos (fêmeas); T4-extrato de fêmeas+machos (machos). Posteriormente, os bioensaios foram realizados com insetos coletados no período (2014/2015), com os tratamentos: T1- extrato de aeração de fêmeas (machos); T2-extrato de aeração de machos (fêmeas); T5-extrato de glândula de fêmeas (machos) e T6-extrato de glândulas de machos (fêmeas). Também foram conduzidos bioensaios com padrões (*E*)-2-octenal, (*E*)-2-hexenal, (*E*)-2-decenal e tridecano. Em todos os bioensaios foram realizadas quarenta repetições por tratamento, para avaliar a opção de escolha no olfatômetro (tratamento ou controle) e os resultados analisados pelo teste de qui-quadrado. As amostras de aeração e glândula foram analisadas em cromatografia gasosa (CG-DIC) e (CG-EM). Os insetos coletados em revoadas foram contabilizados e sexados para cálculo da razão sexual (RS). As fêmeas coletadas no solo e nas revoadas também foram dissecadas para verificar a ocorrência de cópula e o desenvolvimento ovariano. Os resultados dos bioensaios do primeiro período mostraram que T1 diferiu significativamente, apresentando repelência ao extrato testado. Não houve diferença para os tratamentos testados com os insetos do segundo período. Foram identificados cinco compostos o (*E*)-2-octenal, (*E*)-2-hexenal, (*E*)-2-decenal, (*E,E*)-2,4-decadienal e tridecano, confirmados pela coinjeção de padrões idênticos. Nas análises eletroantenográficas a resposta dos insetos foram aos compostos (*E*)-2-octenal e (*E*)-2-hexenal. Desta forma, as substâncias confirmadas para *S. castanea* são considerados compostos de alarme. A razão sexual em 2014 foi de 0,83 e em 2015 de 0,89, dessas 100% e 98% respectivamente estavam copuladas, a razão sexual indicou predominância de fêmeas nas revoadas.

**Palavras-chave:** Bioensaios, compostos feromoniais, revoada, desenvolvimento ovariano.

## ABSTRACT

The objectives of this work were to study the pheromonal compounds extracted from *Scaptocoris castanea* and evaluate the sex ratio of flocks and ovarian development of insects collected in the field. The brown bug collection period was from November 2013 to April 2014 and November 2014 to March 2015, soil sampling were made on the farm in Campo Novo dos Parecis-MT, the insects were collected from flocks in this municipality and in other areas of Mato Grosso. The insects were kept in a greenhouse in pots with host plants. The volatile extraction and bioassays were conducted in the Entomology Laboratory (CPEDA / UNEMAT), the compounds chemical analysis and the electroantennography in Chemistry Laboratory (LPqPN / UFAL). Extracting the volatile adults used the aeration technique. It also held the metathoracic gland extraction to identify the defense compounds. Bioassays in the Y-olfactometer were conducted to evaluate the adults behavior. Initially bioassays were conducted with insects collected in the period (2013/2014) with aeration extracts were tested for the following treatments: T1-extract females (males); T2-extract of males (females); Female T3-extract + males (females); Female T4-extract + males (males). Later, bioassays were performed with insects collected in the period (2014/2015), with the following treatments: T1-females aeration extract (males); Males aeration T2-extract (females); Female gland T5-extract (males) and T6-extract of male glands (females). Bioassays were also conducted with standards (*E*)-2-octenal, (*E*)-2-hexenal (*E*)-2-decenal and tridecane. In all bioassays were conducted forty repetitions per treatment, to evaluate the option to choose the olfactometer (treatment or control) and the results analyzed the chi-square test. Samples aeration and gland were analyzed in gas chromatography (GC-FID) and (GC-MS). The insects collected in flocks were recorded and sexed to calculate the sex ratio (RS). Females collected in soil and flocks were also dissected to verify the mating occurrence and ovarian development. The bioassays results of the first period T1 shown that differed significantly, with repellency tested the extract. There was no difference for the treatments tested with insects from the second period. Five compounds were identified as (*E*)-2-octenal, (*E*)-2-hexenal (*E*)-2-decenal, (*E,E*)-2,4-decadienal and tridecane, confirmed by coinjeção identical patterns. In electrophysiological analyzes the response of the insects were the compounds (*E*)-2-octenal and (*E*)-2-hexenal. Thus, substances confirmed *S. castanea* are considered alarm compounds. The sex ratio in 2014 was 0.83 and 0.89 in 2015, these 100% and 98% respectively were copulated, the sex ratio indicated females predominance in flocks.

**Keywords:** Bioassays, pheromonal compounds, flock, ovarian development.

## INTRODUÇÃO GERAL

O estado de Mato Grosso merece destaque no cenário econômico tanto pelo desenvolvimento de suas atividades agrícolas, quanto pela alta produção (FIGUEIREDO et al., 2005). Com a rápida expansão das culturas agrícolas e diversificação das formas produtivas no estado, as pragas de solo são consideradas um fator limitante a produção, destacando-se o percevejo castanho *Scaptocoris castanea* Perty 1833 (Hemiptera: Cydnidae) (OLIVEIRA, L. et al., 1999; OLIVEIRA et al., 2000).

Os percevejos pertencentes à família Cydnidae caracterizam-se por apresentar corpo com formato oval, coloração marrom ou preta, tíbias com espinhos e patas dianteiras adaptadas para escavar (GASSEN, 1989). As primeiras ocorrências do percevejo castanho no Brasil foram no século XIX, quando *Scaptocoris castanea* foi descrita por Perty em 1833 a partir de exemplares provenientes do estado do Piauí. São amplamente distribuídos na região neotropical, e, no Brasil, há registros de ocorrência em todas as regiões (BECKER, 1967).

São insetos polívoros e alimentam-se das raízes de várias plantas como soja, algodão, milho, cana de açúcar, sorgo, pastagens, entre outras culturas (CORRÊA FERREIRA, PANIZZI, 1999), sendo registrado também na *Azadirachta indica* (Meliaceae), planta considerada inseticida (MATIAS et al., 2011).

As áreas atacadas por este inseto apresentam reboleiras (PICANÇO et al., 1999) podendo variar de alguns metros a vários hectares (ANGELIS, 2002). Os sintomas do ataque vão desde o murchamento e amarelamento das folhas a um subdesenvolvimento e secagem das plantas (ÁVILA et al., 2009), que podem causar até a morte, dependendo da severidade do ataque. Há registros com perdas de até 100%, em áreas de soja e algodão (FERNANDES et al., 2004).

Adultos e ninfas do percevejo castanho ocupam o mesmo nicho e possuem os mesmos hábitos alimentares, tanto as ninfas quanto os adultos atacam o sistema radicular (ANGELIS, 2002; ÁVILA et al., 2009) e, durante a sucção, injetam toxinas nas raízes que também prejudicam o desenvolvimento da planta, deixando suscetível à ação de agentes patogênicos do solo (SALES JUNIOR, MEDEIROS, 2001; OLIVEIRA et al., 2012).

O percevejo castanho passa pelas fases de ovo, ninfa e adulto com um ciclo de vida variando entre 150 a 180 dias. Quando estão na fase de ninfa tem coloração

branca e, no último instar, os primórdios das asas apresentam cor amarelada, na fase adulta caracterizam-se pela cor marrom e/ou castanha (OLIVEIRA et al., 2000; FERNANDES et al., 2004).

Todo o desenvolvimento do percevejo ocorre no interior do solo, incluindo acasalamento e oviposição (OLIVEIRA et al., 2000). Os adultos apresentam dimorfismo sexual, machos possuem pigóforo e fêmeas placas genitais (NARDI, 2005).

Os aspectos reprodutivos deste inseto foram pouco estudados, há apenas trabalhos descrevendo a morfologia do sistema reprodutor e glândulas abdominais e torácicas para algumas espécies da família Cydnidae (LIS, 2003; PLUOT-SIGWALT, LIS, 2008; PLUOT-SIGWALT, 2008).

Estes percevejos produzem um som proveniente do aparelho estridulatório ou estridulitro (NARDI, 2005), que é emitido quando os mesmos são perturbados (OLIVEIRA, et al., 2000), além de um característico odor desagradável, produzido pela glândula metatorácica, comum em algumas espécies de Cydnidae, sendo este odor reportado às substâncias de alarme ou defesa (DETHEIER, 1974; PLUOT-SIGWALT, 2008).

O percevejo castanho pode ser encontrado durante todo o ano em diferentes profundidades do solo, conforme gradiente de umidade, durante o período de excedente hídrico, permanece próximo à superfície do solo num perfil de 0 a 40 centímetros, e em períodos de estiagem aprofundam-se a procura de umidade no solo, atingindo quase dois metros de profundidade (SOUSA, 2002; OLIVEIRA, MALAGUIDO, 2004; NARDI et al., 2007).

Devido ao hábito subterrâneo deste inseto, há dificuldades na adoção de medidas de manejo adequadas pois as medidas culturais e o uso de inseticidas químicos no tratamento de sementes e/ou aplicados no sulco de plantio apresentam baixa eficiência no controle do inseto (ÁVILA, et al., 2009).

Apesar da baixa eficiência do controle químico, esta é a única ferramenta disponível no combate deste inseto. O uso deste tipo de produto causa graves consequências ao ambiente, afeta a biodiversidade, contamina o solo, os sistemas hídricos, causa toxicidade aos seres humanos, reduz os inimigos naturais, pode gerar populações de insetos resistentes e aumentam os custos da produção (PINTO-ZEVALLOS, ZARBIN, 2013; GOULART et al., 2015).

Atualmente buscam-se práticas consideradas menos nocivas para controlar esta e outras pragas agrícolas, visando uma agricultura sustentável, produtiva, aliada à proteção dos recursos naturais e do ambiente, garantindo a segurança, saúde e qualidade alimentar (FAO, 2014). Desta forma, faz-se necessário à incorporação contínua de inovações, na forma de conhecimentos científicos e tecnológicos (GOULART et al., 2015).

Neste contexto a utilização de semioquímicos, principalmente os feromônios, destaca-se como uma alternativa no monitoramento e combate de pragas na agricultura, por sua eficiência e especificidade não causam efeitos deletérios aos demais organismos (ZARBIN, RODRIGUES, 2009).

Os feromônios são compostos mediadores de comunicação intraespecífica, ou seja, o emissor e o receptor do sinal químico são da mesma espécie (ZARBIN, RODRIGUES, 2009). Geralmente são classificados de acordo com comportamento exercido sobre o organismo, as reações comportamentais mais comuns, mediadas por feromônios são, de atração sexual (feromônios sexuais) predominante nas ordens Lepidoptera, daqueles que agregam indivíduos para alimentação ou acasalamento (feromônios de agregação), de formação de trilhas ou marcação de território (feromônios de trilha) comuns em formigas e abelhas (BILLEN, MORGAN, 1998; NASCIMENTO, SANTANA, 2001).

Há também o feromônio de alarme usado por insetos sociais e insetos não sociais como percevejos (MCNEIL, MILLAR 2013), muitos destes liberam substâncias, geralmente são irritantes e possuem odor desagradável, para afastar insetos predadores e alertar um possível perigo (ALDRICH, 1988).

Estudos em campo já comprovaram a eficiência do uso do feromônio no monitoramento e combate de percevejos de importância econômica para agricultura. Borges et al. (2011) no monitoramento de *E. heros* em lavouras de soja do Distrito Federal, utilizando o feromônio metil 2,6,10 trimetiltridecanoato, verificou que este composto foi eficiente e também atrativo para outras espécies de percevejos. Recentemente Silva et al. (2014) testaram novas formulações deste feromônio e obtiveram resultados que corroboram com os obtidos por Borges e colaboradores. Tais resultados reforçam o uso de feromônio como uma ferramenta que vem contribuir no manejo integrado de pragas.

Para as espécies da família Cydnidae os semioquímicos são pouco estudados, foram identificados até o momento os compostos defensivos da glândula

metatorácica para *Scaptocoris divergens* Froeschner, 1960 (ROHT, 1961), para a subespécie *Sehirus cinctus cinctus* Palisot, 1811 (KRALL et al., 1997), e na extração de voláteis de adultos de *Adrisa magna* Uhler, 1860, *Macroscytus japonesis* Scott, 1874 e *Aethus nigritus* Fabricius, 1794 (HAYASHI et al., 1976).

Estudos biológicos associados ao estudo de semioquímicos podem permitir o desenvolvimento de novos produtos para uso no manejo integrado de pragas. As pesquisas com possíveis substâncias biologicamente ativas exigem não só a identificação e isolamento, mas também o estudo do comportamento dos insetos em relação à essas substâncias (TRIGO et al., 2000).

Os métodos mais utilizados para extração de compostos voláteis são a aeração e extração por solvente (extração direta da glândula). Na aeração os voláteis emitidos pelos insetos são arrastados por um fluxo de ar previamente purificado e umidificado, e coletados por polímeros especiais adsorventes, após o período desejado de extração, os voláteis impregnados nos adsorventes são eluídos em solvente para a obtenção dos extratos (ZARBIN et al., 1999).

Para quantificar os semioquímicos, no geral utiliza-se cromatografia acoplada ao detector de ionização em chamas e para identificar os compostos utiliza-se a cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (COLLINS, 2006). O mesmo autor relata que a cromatografia geralmente é classificada segundo os mecanismos de separação envolvidos, portanto gasosa quando a fase móvel é um gás inerte e líquida quando a referida fase é um líquido.

Outra etapa importante, em pesquisas com semioquímicos, é a realização de bioensaios, para avaliar a resposta comportamental dos insetos aos compostos testados. Nos bioensaios criam-se correntes de ar que arrastam os voláteis a serem testados, para percevejos utiliza-se olfatômetros ou arenas, para os lepidópteros utilizam-se túnel de vento (EIRAS, MAFRA, 2001). Uma técnica que também auxilia na detecção respostas de insetos perante os compostos é a eletroantografia, utilizada na detecção de repostas eletrofisiológicas a moléculas eletroativas, presente nas amostras analisadas, em que utiliza-se a antena do inseto como biossensor, esta técnica pode ser realizada em um único aparelho de eletroantografia, ou acoplado a um equipamento de cromatografia gasosa (MORAES et al., 2008).

As técnicas apresentadas acima se tornaram aliadas da agricultura, pois permitiram a identificação de feromônios que hoje são utilizados no monitoramento e combate de insetos pragas que causam danos econômicos às lavouras.

Apesar da importância econômica, em decorrência dos danos causados por *S. castanea* em áreas agrícolas do estado de Mato Grosso, há escassez de estudos e informações sobre este inseto.

Diante da importância desta temática, o presente trabalho teve por objetivo: 1) estudar os compostos feromonais emitidos pelo *S. castanea* em laboratório; 2) conhecer a razão sexual do *Scaptocoris castanea* coletados em revoada, cópula e desenvolvimento ovariano dos insetos coletados em campo.

Esta dissertação é composta por dois artigos, o primeiro intitulado “Estudo dos compostos defensivos emitidos pelo percevejo castanho *Scaptocoris castanea* Perty, 1833 (Hemiptera: Cydnidae)”.

E o segundo apresenta como título “Razão sexual nas revoadas e aspectos reprodutivos do percevejo castanho *Scaptocoris castanea* Perty, 1833 (Hemiptera: Cydnidae) coletados em campo”.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALDRICH, J. R. Chemical ecology of the Heteroptera. **Annual Review Entomology**, v. 33, n. 1, p. 211-238, jan. 1988.
- ALDRICH, J. R. et al. Identification of male-specific volatiles from Nearctic and Neotropical stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae). **Journal of Chemical Ecology**, v. 20, n. 5, p. 1103-1111, mai. 1994.
- ANGELIS, S. **Controle do percevejo castanho (*Scaptocoris castanea* Perty, 1830 (Hemiptera: Cydnidae) na cultura de soja (*Glycine max* (L.) Merrill)**. 2002. 91 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2002.
- ÁVILA, C. J.; XAVIER, L. M. S.; GOMEZ, S. A. **Ocorrência, flutuação populacional, distribuição vertical no solo e controle do percevejo castanho da raiz, *Scaptocoris* ssp. (Hemiptera: Cydnidae) na cultura do algodoeiro, em Mato Grosso do Sul**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2009. 36 p. (Boletim de pesquisa e desenvolvimento 50).
- BACKER, R. et al. Identification and synthesis of (Z)-(1'S,3'R,4'S)-(-)-2-(3',4'-epoxy-4'-methylcyclohexyl)-6-methylhepta-2,5-diene, the sex pheromone of the southern green stink bug, *Nezara viridula* (L.). **Journal of the Chemical Society**, v. 6, p. 414-416, jun. 1987.
- BECKER, M. Estudos sobre a subfamília Scaptorinae na região neotropical (Hemiptera Cydnidae). **Arquivos de Zoologia**, v. 15, n. 4, p. 291-325, abr. 1967.
- BILLEN, J.; MORGAN, E.D. Pheromone communication in social insects: Sources and secretions. In: MEER, R.K.V.; BREED, M.M.; ESPELIE, K.E.; WINSTON, M.L. **Pheromone communication in social insects**. Boulder: Westview Press, 1998, p. 3-33.
- BORGES, M. et al. Sex attractant pheromone from the rice stalk stink bug, *Tibraca limbativentris* Stal. **Journal of Chemical Ecology**, v. 32, n. 12, p. 2749-2761, dez. 2006.
- \_\_\_\_\_. et al. A male-produced sex pheromone from the Neotropical Redbanded stink bug, *Piezodorus guildinii* (W.). **Journal of Chemical Ecology**, v. 33, n. 6, p. 1235-1248, jun. 2007.
- \_\_\_\_\_. et al. Monitoring the Neotropical brown stink bug *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) with pheromone-baited traps in soybean fields. **Journal of Applied Entomology**, v. 135, n. 1-2, p. 68-80, 2011.
- COLLINS, C. H. Princípios básicos de cromatografia. In: COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L.; BONATO, P.S. **Fundamentos de cromatografia**. São Paulo: Unicamp, 2006. p. 17-42.

CORRÊA-FERREIRA, B. S.; PANIZZI, A. R. **Percevejos da soja e seu manejo**. Londrina: Embrapa Soja, 1999. 45 p. (Circular Técnica, 24).

DETHIER M. Les organes odoriférants métathoraciques des Cydnidae. **Bulletin de la Société Vaudoise de Sciences Naturelles**, v. 72, n. 346, p. 127-139, 1974.

EIRAS; A. E.; MAFRA NETO, A. Olfatometria aplicada ao estudo do comportamento de insetos. In: VILELA, E. F.; DELLA LUCIA, T. M. C. **Feromônios de insetos**. Ribeirão Preto: Holos, 2001. p. 13-26.

FAO; Food and Agriculture Organization. **Building a common vision for sustainable food and agriculture, principles and approaches**. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/a-i3940e.pdf>>. Acesso em 27 de nov 2014.

FIGUEIREDO, M. G; BARROS, A .L .M; GUILHOTO, J. J. M. Relação econômica dos setores agrícolas do Mato Grosso com os demais setores pertencentes tanto ao estado quanto ao restante do Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 43, n. 3, p. 557-575, mar. 2005.

FERNANDES, P. M. et al. Percevejos Castanhos. In: SALVADORI, J. R., ÁVILA, C. J.; SILVA, M. T. B. **Pragas de solo no Brasil**. Passo Fundo: Embrapa, 2004. p. 479-489.

GASSEN, D. N. **Insetos subterrâneos prejudiciais às culturas no Sul do Brasil**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 1989. 72 p.

GOULART, H. F. et al. Feromônios: uma alternativa verde para o manejo integrado de pragas. **Revista Virtual de Química**, 2015. (no prelo).

HAYASHI, N. et al. Defensive substances from stink bugs of Cydnidae. **Revista Experientia**, v. 32, n. 4, p.418-419, abr. 1976.

KRALL, B. S. et al. Chemistry and defensive efficacy of secretion of burrowing bug (*Sehirus cinctus cinctus*). **Journal of Chemical Ecology**, v. 23, n. 11, p. 1951-1962, nov. 1997.

LIS, J. A. Ovaries and lateral oviducts of the female internal reproductive system in five species of burrower bugs (Hemiptera:Heteroptera:Cydnidae). **Polish Journal Entomology**, v. 72, n. 4, p. 305-312, abr. 2003.

MATIAS, F. I. et al. Occurrence of *Scaptocoris castanea* Perty (Hemiptera: Cydnidae) damaging *Azadirachta indica* (Meliaceae) seedlings in Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 40, n. 2, p. 288-289, fev. 2011.

MCNEIL, J.N., MILLAR, J.G. Chemical communication: pheromones and allelochemicals. In: CHAPMAN, R.F. **The insects**: structure and function, 5. Ed., Cambridge University Press, 2013. p. 889-961.

MORAES, M. C. B. et al. **Eletroantenografia** – a antena do inseto como biossensor. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 23 p., 2008. (Circular 270).

NASCIMENTO, R. R.; SANTANA, A. E. G. Isolamento e identificação dos semioquímicos dos insetos sociais. In: VILELA, E. F.; DELLA LUCIA, T. M. C. **Feromônios de insetos**. Ribeirão Preto: Holos, 2001. p. 27-40.

NARDI, C. **Percevejos castanhos (Hemiptera, Cydnidae, Scaptocoris): aspectos morfológicos, ecológicos e comportamentais**. 2005. 68 f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2005.

\_\_\_\_\_. et al. Flutuação populacional e distribuição vertical de *Scaptocoris carvalhoi* Becker (Hemiptera: Cydnidae) em Área de pastagem. **Neotropical Entomology**, v. 36, n. 1, p. 107-111, jan. 2007.

OLIVEIRA, L. J.; MALAGUIDO, A. B. Flutuação e distribuição da população do percevejo castanho da raiz, *Scaptocoris castanea* Perty (Hemiptera: Cydnidae) no solo em regiões produtoras de soja. **Neotropical Entomology**, v. 33, n. 3, p. 283-291, mar. 2004.

\_\_\_\_\_. et al. **Efeito de diversos inseticidas sobre a população de percevejo castanho da raiz, em soja, Sapezal, MT**. In: WORKSHOP SOBRE PERCEVEJO CASTANHO DA RAIZ, 1. 1999. Londrina. Ata e resumos... Londrina: (Embrapa Soja. Documento, 127), 1999. 68 p.

\_\_\_\_\_. et al. **Percevejo-castanho-da-raiz em sistema de produção de soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2000. 44 p. (Circular Técnica, 28).

OLIVEIRA, J. B. et al. Insetos que atacam raízes e nódulos da soja. In: **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes**. Brasília: p. 74-144, 2012.

PICANÇO, M. et al. Ataque de *Atarsocoris brachiariae* Becker, uma nova praga das pastagens em Mato Grosso, Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 5, p. 885-890, mai. 1999.

PINTO-ZEVALLOS, D. M.; ZARBIN, P. H. G. A química na agricultura: perspectivas para o desenvolvimento de tecnologias sustentáveis. **Química Nova**, v. 36, n. 10, p. 1509-1513, out. 2013.

PLUOT-SIGWALT, D. A pair of basi-abdominal sex pheromone glands in the male of some burrower bugs (Hemiptera: Heteroptera: Cydnidae). **Acta Entomologica Musei Nationalis Pragae**, v. 48, n. 2, p. 511- 522, fev. 2008.

ROTH, L. M. A study of the odoriferous glands of *Scaptocoris divergens* (Hemiptera: Cydnidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 54, p. 900-911, 1961.

SALES JUNIOR, O.; MEDEIROS, M. O. Percevejo castanho da raiz em pastagens. In. REUNIÃO SUL-BRASILEIRA SOBRE PRAGAS DE SOLO, 8. 2001. Londrina. **Anais...**Londrina (Embrapa soja. Documento, 172) 2001. 329 p.

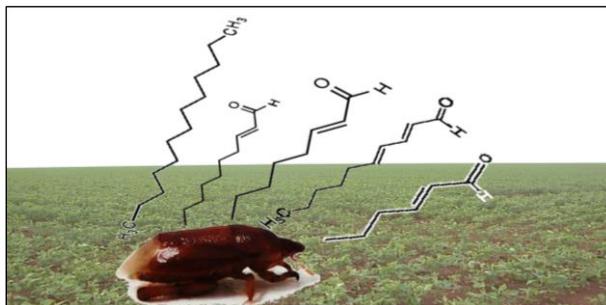
SILVA, V. P. et al. Monitoramento do percevejo marrom *Euschistus heros* (Hemiptera:Pentatomidae) por feromônio sexual em lavoura de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, n. 11, p. 844-852, nov. 2014.

SOUSA, C. R. **Composição populacional e mobilidade no solo do percevejo castanho *Atarsocoris brachiariae* (Hemiptera:Cydnidae)**. 2002. 26 f. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2002.

TRIGO, J. R. et al. **Ecologia química**. 2000. Disponível em: <<http://www.portalmecquimica.com.br/arquivos/article1.php.pdf>>. Acesso em 12 mar 2015.

ZARBIN, P. H. G. et al. Metodologias gerais empregadas no isolamento e identificação estrutural de feromônios de insetos. **Química Nova**, v. 22, n. 1, p. 263-268, jan. 1999.

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



Identification of defensive compounds of the bug brown, *Scaptocoris castanea*.

**ESTUDO DOS COMPOSTOS DEFENSIVOS EMITIDOS PELO PERCEVEJO  
CASTANHO *SCAPTOCORIS CASTANEA* PERTY, 1833 (HEMIPTERA:  
CYDNIDAE)**

[Revista Química Nova]

**Camila Patrícia Ribeiro de Souza<sup>a,\*</sup>, Mônica J. B. Pereira<sup>a</sup>, Antônio Euzébio G. Santana<sup>b</sup>, Merybeth F. Triana<sup>b</sup>, Nadia J. Serra<sup>b</sup> e Henrique F. Goulart<sup>b</sup>**

<sup>a</sup> Departamento de Agronomia, Universidade do Estado de Mato Grosso, 78300-000-Tangará da Serra MT, Brasil.

<sup>b</sup> Departamento de Química, Universidade Federal de Alagoas, 57072-900 – Maceió AL, Brasil.

(x) Manuscrito com material suplementar

( ) Manuscrito sem material suplementar

\*e-mail: camila.souzatga@gmail.com

## STUDY OF DEFENSIVE COMPOUNDS ISSUED BY BROWN STINK BUG *SCAPTOCORIS CASTANEA* PERTY, 1833 (HEMIPTERA: CYDNIDAE).

This study investigated the pheromonal compounds of *S. castanea*. The collection of volatile and bioassays were performed in the laboratory of Entomology UNEMAT / CPEDA, and the compounds identification and electroantennography in LPqPN Chemistry Laboratory / UFAL. Bioassays were performed in two periods the first in November 2013 to April 2014 using male and female aeration extracts, and the second in November 2014 to March 2015 with aeration and gland extracts. Forty repetitions were made per treatment, and the results analyzed the chi-square test. The bioassays results in the first period showed that the female extract repelled the males tested, most opted for control. In the second period, there was no significant difference between control and tested treatments. Five compounds were identified for *S. castanea* and confirmed coinjection identical patterns with compounds (*E*)-2-octenal, (*E*)-2-hexenal (*E*)-2-decenal and tridecane and (*E,E*)-2,4-decadienal. In electroantennography the response of males and females antennae to the compounds (*E*)-2-octenal and (*E*)-2-decenal identified in gland extracts and males and females aeration. With the results obtained it was possible to found out that the compounds are confirmed *S. castanea* considered alarm substances.

Keywords: brown stink bug, pheromone, olfactometry, alarm.

### INTRODUÇÃO

O percevejo castanho *Scaptocoris castanea* Perty, 1833 (Hemiptera: Cydnidae) é uma praga de solo que destaca-se pela capacidade de destruição das lavouras, em decorrência do hábito subterrâneo. São insetos polívoros e alimentam-se de uma grande variedade de plantas hospedeiras.<sup>1,2</sup> Os danos às plantas são decorrentes da sucção da seiva do sistema radicular realizada por adultos e ninfas<sup>3</sup>, cujos sintomas são as reboleiras com plantas subdesenvolvidas, amareladas e murchas.<sup>4,5</sup>

Em áreas com altos índices de infestação nota-se a presença do percevejo castanho devido ao odor desagradável, característico destes insetos.<sup>4</sup> Esse odor está relacionado às substâncias de alarme liberadas pelo inseto quando perturbado, em algumas espécies de Cydnidae, são produzidas por glândulas, localizadas internamente no metatórax.<sup>6,7</sup>

Os componentes das glândulas metatorácicas (GM) e dorsal abdominal (GDA) são reportados na literatura como compostos defensivos.<sup>8,9,10,11</sup> De forma geral os feromônios são produzidos por glândulas exócrinas derivadas de células epidérmicas<sup>12</sup>, com a função de mediar comportamentos específicos nos insetos, portanto de extrema importância na comunicação química dos mesmos.<sup>13</sup>

Até o momento foram realizados poucos estudos visando à identificação de feromônios em cidrídeos, a literatura registra trabalhos antigos que identificaram quatro compostos da GM de *Scaptocoris divergens* Froeschner, 1960, sendo pentanal, heptanal, octenal e 2-hexenal.<sup>14</sup>

Para *Adrisa magna* Uhler, 1860, *Macroscytus japonensis* Scott, 1874, *Aethus nigritus* Fabricius, 1794, espécies encontradas no Japão, os compostos extraídos dos adultos foram 2-hexenal, 2-octenal e 2-decenal<sup>15</sup>. Na GM de *Sehirus cinctus cinctus* Palisot, 1811 foram identificados os compostos (E)-2-octenal, (1R)-(+)- $\alpha$ -pineno, (1S)-(-)- $\beta$  pineno,  $\beta$ -myrceno, (R)-(+)-limoneno,  $\alpha$ -terpinoleno e acetato de (E)-2-hexenila.<sup>16</sup>

Em contra partida há pesquisas com percevejos da família pentatomidae. Na extração das glândulas metatorácicas e abdominais dos Pentatomidae *Loxa deducta* Walker, 1867 e *Pellaea stictica* Dallas, 1851, foram identificados os compostos (E)-2-hexenal, (E)-4-oxo-2-hexenal, (E)-2-octenal, undecano, (E)-4-oxo-2-octenal, dodecano, (E)-2-decenal, 1-trideceno e tridecano.<sup>11</sup> Já para ninfas dos pentatomídeos *Acrosternum aseadum* Rolston, *Thyanta perditor* Fabricius, 1794, *Euschistus heros* Fabricius 1794 e *Edessa meditabunda* Fabricius, 1794 foram identificados, por CG-EM, os seguintes compostos: (E)-2-hexenal, (E)-2-decenal, (E)-2-octenal, *n*-tridecano, *n*-undecano, tetradecanal, (E)-4-oxo-2-decenal, (E)-4-oxo-2-hexenal, (E)-4-oxo-2-octenal.<sup>17</sup>

São poucos os trabalhos realizados visando à identificação de compostos feromonais de espécies da família Cydnidae. Devido à importância do *S. castanea* para a agricultura, a presente pesquisa objetivou determinar os compostos feromonais de *S. castanea*, visando contribuir para o manejo desta praga no campo.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Locais de realização das pesquisas***

As coletas de percevejo castanho foram realizadas na Fazenda Chapada situada à margem esquerda da Rodovia MT 235 Km 32, na região de Campo Novo dos Parecis, estado de Mato Grosso, entre as coordenadas geográficas 13°47'28.62"LS e 57° 33'21.86"LO, durante o período chuvoso na região, nos períodos de novembro 2013 a abril de 2014 e de novembro 2014 a março de 2015.

Os percevejos foram coletados por meio de trincheiras abertas no solo, com o auxílio de ferramentas como picareta, enxada e enxadão. Os insetos foram coletados e acondicionados em potes plásticos e encaminhados ao laboratório de Entomologia do Centro de Pesquisa em Estudos e Desenvolvimento Agro-Ambientais (CPEDA) da Universidade do Estado de Mato Grosso UNEMAT, *campus* de Tangará da Serra.

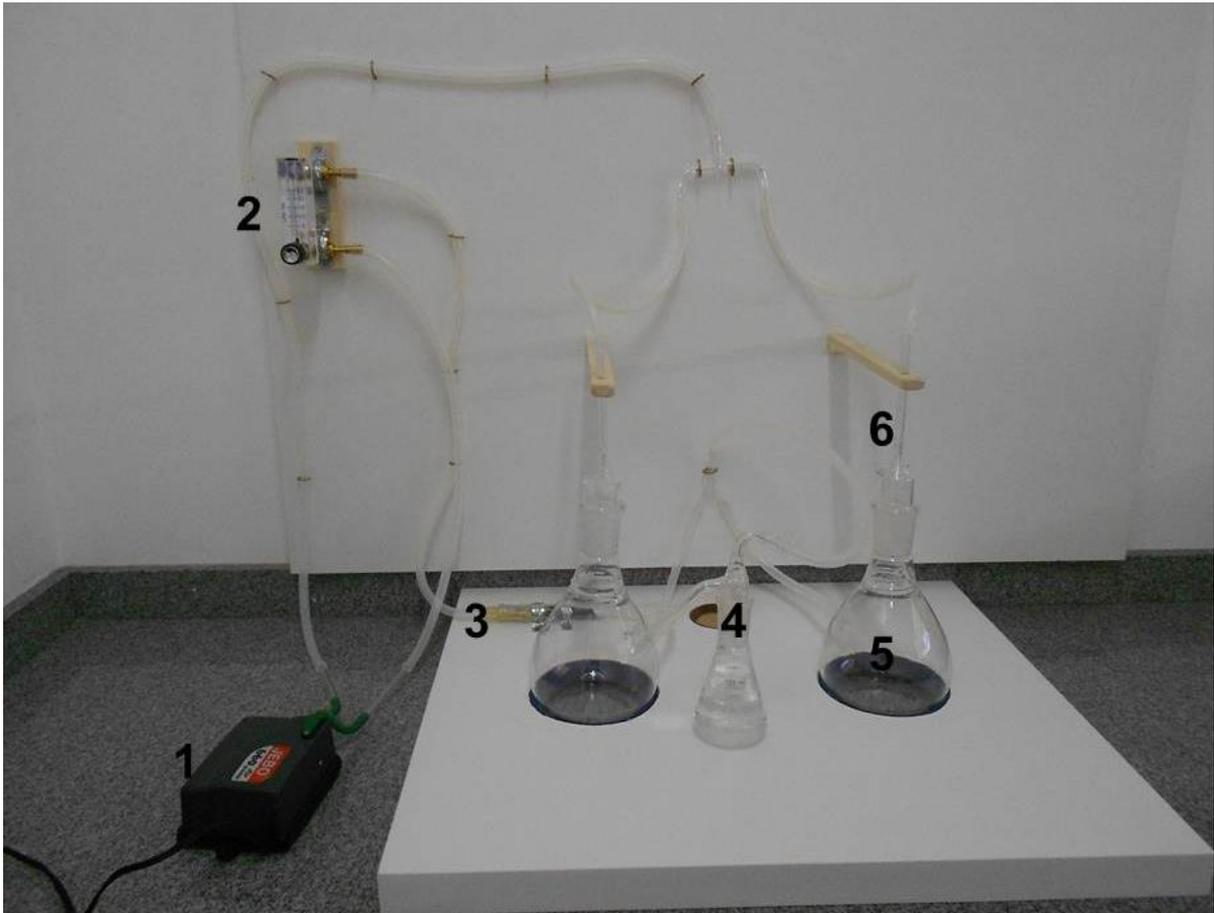
No laboratório os insetos foram triados, sexados e acondicionados em potes com terra umedecida proveniente do local da coleta, para posterior coleta dos compostos voláteis pela técnica de aeração, e extração das glândulas metatorácicas, assim como os bioensaios no olfatômetro.

As análises químicas para identificação dos compostos e as análises eletroantenográficas, foram realizadas no Laboratório de Pesquisa em Química de Produtos Naturais - LPqPN da Universidade Federal de Alagoas - UFAL *campus* de Maceió.

### ***Extração dos compostos voláteis por aeração***

A sala para a coleta de voláteis e bioensaios de comportamento foi adaptada para evitar a passagem de luminosidade, a temperatura foi mantida a  $25,4 \pm 1^\circ\text{C}$  e a umidade relativa de  $75,1 \pm 12\%$ .

Para a coleta dos voláteis utilizou-se um sistema de aeração com arenas de vidro (Figura 1), na entrada do sistema foi acoplado uma coluna contendo carvão ativo para purificação do ar. O fluxo de ar contínuo foi mantido a 0,5 L/min, regulado por um fluxômetro e umidificado por um borbulhador, com água destilada. A coleta dos voláteis ocorreu por um período de 24 horas, e os *traps* continham lã de vidro e 70 mg de polímero Porapak Q como adsorvente.<sup>18</sup>



**Figura 1.** Sistema de aeração utilizado na coleta dos voláteis de *Scaptocoris castanea* Perty, 1833 (Hemiptera: Cydnidae). 1- bomba para bombeamento e sucção de ar; 2- fluxômetro para regular entrada de ar; 3- carvão ativo para purificar o ar; 4- borbulhador com água destilada para umidificar o ar; 5- arena de vidro onde são colocados os insetos; 6- trap com adsorvente para coleta de compostos voláteis.

Para a coleta dos voláteis foram utilizados 20 percevejos, separados por sexo, 10 fêmeas e 10 machos. O mesmo procedimento foi utilizado para obtenção dos extratos de machos e fêmeas juntos, utilizando cinco casais por arena. Após 24 horas procedeu-se a dessorção dos voláteis por eluição com 500  $\mu$ L de hexano (grau HPLC).

Os extratos obtidos através da aeração foram mantidos em *vials* de 2 mL em triplicata e acondicionados em freezer.

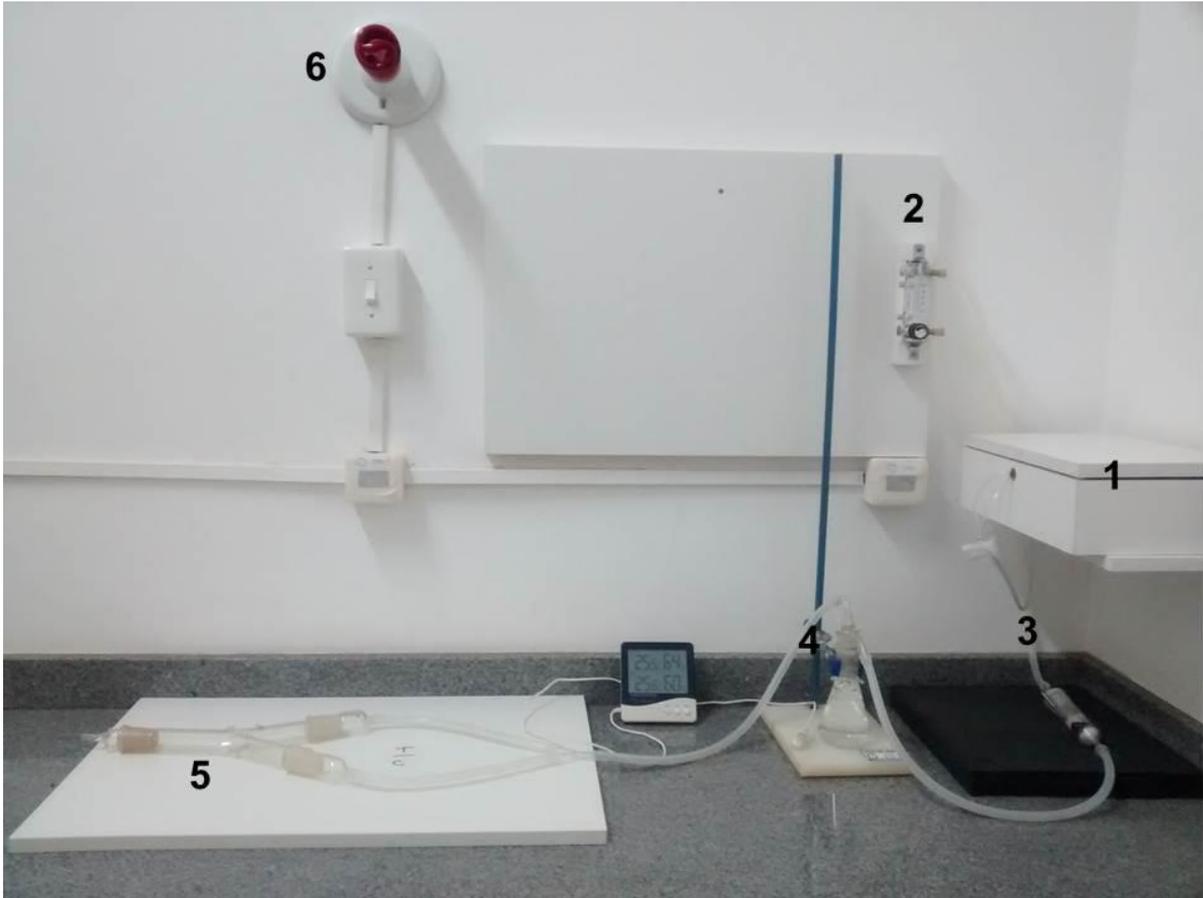
### ***Extração dos compostos presentes na glândula metatorácica (GM)***

Para extração da GM foram utilizados 20 insetos, sendo 10 fêmeas e 10 machos, os insetos foram dissecados separadamente no microscópio estereoscópio em solução fisiológica (0,9%) para retirada da glândula metatorácica. As glândulas obtidas ficaram imersas em 200 µL de hexano (grau HPLC) em *vials* de 2 mL, mantidas em temperatura ambiente por 24 horas e após este período armazenadas em freezer. As amostras para bioensaio continham duas glândulas em triplicata, e para as análises químicas apenas uma glândula para cada sexo em quadruplicada.

### ***Bioensaios em olfatômetro***

Os bioensaios em olfatômetro foram conduzidos em dois períodos, o primeiro de novembro 2013 a abril de 2014 e o segundo de novembro 2014 a janeiro de 2015.

Para os bioensaios de comportamento foi utilizado um olfatômetro de vidro do tipo Y (Figura 2), constituído por um braço principal e dois braços laterais (13 x 12 e 2,5 cm de diâmetro). Na parte superior o olfatômetro foi iluminado por uma lâmpada vermelha, para evitar a influência da luz no comportamento do inseto. O fluxo de ar contínuo foi de 0,4 L/min gerado por uma bomba, previamente purificado em uma coluna de carvão ativo e umidificado por um borbulhador com água destilada.



**Figura 2.** Sistema de olfatometria utilizado nos bioensaios de comportamento *Scaptocoris castanea* Perty 1833 (Hemiptera: Cydnidae). 1- caixa com a bomba que gera o fluxo de ar; 2- fluxômetro para regular a quantidade de ar que entra no sistema; 3- carvão ativo para purificar o ar; 4- borbulhador com água destilada para umidificar o ar; 5- olfatômetro do tipo Y; 6- lâmpada vermelha.

Para os testes em olfatômetro utilizou-se 2  $\mu\text{L}$  de cada extrato (0,01 inseto equivalente para extrato de aeração, e 0,02 inseto equivalente para extrato de glândula). Os extratos foram impregnados em papel filtro, previamente esterilizados, e colocados na base de cada braço do olfatômetro. A cada repetição as fontes olfativas eram renovadas, o equipamento lavado com sabão neutro, água destilada e etanol 70%, e esterilizado em estufa, a cada cinco repetições as fontes de odor eram alternadas.

No primeiro período, novembro de 2013 a abril de 2014, foram testadas quatro amostras de aeração: T1- extrato de fêmeas para testar machos; T2- extrato de machos para testar fêmeas; T3- extrato de fêmeas+machos para testar machos e T4- extrato de fêmeas+machos para testar fêmeas.

Os insetos, um para cada repetição, foram liberados individualmente no início do Y. Foi registrado o comportamento dos insetos quanto à opção de escolha no olfatômetro (extrato ou controle) por um período de 20 minutos, considerou-se como resposta positiva quando o inseto permaneceu por um período de 2 minutos no braço escolhido e registrado como não escolha quando os insetos não apresentaram decisão para os braços do olfatômetro. Foram efetuadas 40 repetições para cada extrato, totalizando 160 repetições.

Para os bioensaios do segundo período, novembro 2014 a janeiro de 2015, fez-se um ajuste na metodologia, com redução do tempo de observação para 10 minutos e 60 segundos no período de permanência no braço escolhido. Os demais procedimentos não sofreram alterações, e seguiram as mesmas orientações citadas acima. Para este período foram usados os seguintes tratamentos: T1- extrato de fêmeas para testar machos; T2- extrato de machos para testar fêmeas; T5 - extrato de glândulas de fêmeas para testar machos e T6- extrato de glândulas de macho para testar fêmeas.

Também foram realizados bioensaios com os padrões sintéticos (Sigma-Aldrich) (*E*)-2-hexenal (98%), (*E*)-2-octenal (94%), (*E*)-2-decenal (95%) e tridecano (99%), fornecidos pelo Laboratório de Pesquisa em Química de Produtos Naturais – LPqPN. Para cada padrão foram efetuadas 40 repetições para cada sexo, utilizando 2µL de padrão, totalizando 80 repetições por padrão, resultando em 240 repetições.

### ***Análise estatística***

Os dados quanto à escolha e permanência dos insetos no braço do olfatômetro foram analisados pelo teste de qui-quadrado  $P \leq 0,05$ , utilizando a linguagem do programa R Studio. Os insetos que não permaneceram no braço do olfatômetro pelo tempo previsto e não deslocaram no interior do Y foram excluídos da análise estatística.

### ***Análises químicas***

As amostras provenientes da aeração e da glândula metatorácica foram analisadas por cromatografia gasosa (CG) com detector de ionização em chamas

(DIC), marca Shimadzu 2010, equipado com coluna capilar RTX-5 (0,25 mm x 0,25 µm x 30 m).

O volume de amostra injetada foi de 3 µL, com o injetor operando em modo “splitless” a 250 °C, utilizando nitrogênio como gás de arraste, com fluxo de 1,39 mL/min. A temperatura do forno foi mantida a 50 °C por 5 min, com velocidade de aquecimento de 6 °C/min até 200 °C e posteriormente, 15 °C/min até 240 °C permanecendo nesta temperatura por 2 min. A temperatura do detector foi mantida a 250 °C. O índice de Kováts das amostras foi calculado usando a equação 1, com padrões de alcanos (C7 a C24) nas mesmas condições cromatográficas citadas acima.

Equação 1:

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

Onde Tr = tempo de retenção; x = composto em análise; n = número de carbonos do alcano anterior ao Tr<sub>x</sub>; N=n+1.

As análises de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas foram realizadas em um CG-EM, marca Shimadzu modelo QP2010 Ultra, com coluna apolar NST-05 (0,25 mm x 0,25 µm x 30 m). O hélio foi usado como gás de arraste com fluxo de 1,39 mL/min, 1 µL de amostra foi injetada em modo “splitless” a 250 °C. O espectrômetro de massas operou com ionização por impacto de elétrons (70 e V) em modo de varredura entre 35 a 400 m/z. A fonte de íons manteve-se constante 280 °C e a interface com 270 °C. As condições do forno foram iguais às utilizadas nas análises por CG-DIC.

A identificação dos compostos voláteis foram obtidos comparando os espectros de massas com as bases de dados NITS08, NITS08s e WILEY229, e em comparação dos índices de retenção de Kováts às referências e a coinjeção com padrões sintéticos, quando disponíveis.

### **Quantificação dos compostos**

A quantificação por normalização de áreas foi realizada no CG-FID Shimadzu 2010 sob as condições cromatográficas mencionadas anteriormente. O eicosano foi usado como padrão interno na concentração de 5,54 ppm (Sigma-Aldrich Lot# MKBC9945V 99%).

Foram adicionados 100 µL do padrão para cada uma das amostras (aeração de fêmea e de machos 500 µL (n=10) obtendo volume final de 600 µL, e extrato de glândula de fêmea e de macho 200 µL (n=1) obtendo volume final de 300 µL), e analisadas sob os mesmos parâmetros cromatográficos já estabelecidos para as análises. A concentração de cada composto foi calculada em ppm de acordo com a equação 2:

Equação 2:

$$C(X) = \frac{C(P) * A(X)}{A(P)}$$

Onde C(X) = concentração do composto X; C(P) = concentração do padrão na amostra; A(X) = área do pico do composto X e A(P) = área do pico do padrão.

### **Análises eletroantenográficas**

Para determinar os compostos ativos nas amostras de aerações e extratos de glândulas de fêmeas e machos, respectivamente, realizou-se a análise eletrofisiológica em um cromatógrafo gasoso (Schimadzu, GC-2010) com uma coluna NST-05 (30m x 0.25mm x 0.25µm) acoplado a um eletroantenograma (EAG) (Syntech Hilversum, The Netherlands).

Foram injetadas no CG 3 µL de cada amostra em modo “splitless” com programação de temperatura inicial de 50 °C por 5 min, e velocidade de aquecimento 6 °C/min até 200 °C e posteriormente, 15 °C/min até 240 °C permanecendo nesta temperatura por 2 minutos, utilizando nitrogênio como gás de arraste, com um fluxo de 1,39 mL/min.

Machos e fêmeas de *S. castanea* (N=5 respectivamente) foram usados para as análises de cada amostra. Os insetos foram resfriados por 1 minuto e posteriormente a cabeça foi separada do tórax. Os eletrodos de Ag-AgCl eram preenchidos com solução salina (8.0 g/L NaCl, 0.4 g/L CaCl<sub>2</sub>). Um dos eletrodos foi colocado na cabeça enquanto o outro foi conectado na ponta da antena. Os sinais elétricos foram amplificados em um amplificador de alta impedância (IDAC-4, Syntech Hilversum, The Netherlands) e analisados utilizando no programa Syntech versão 4.6, 2008.

Os compostos eluídos da coluna foram considerados ativos se induziram uma despolarização, em pelo menos três das cinco antenas analisadas para cada amostra testada.

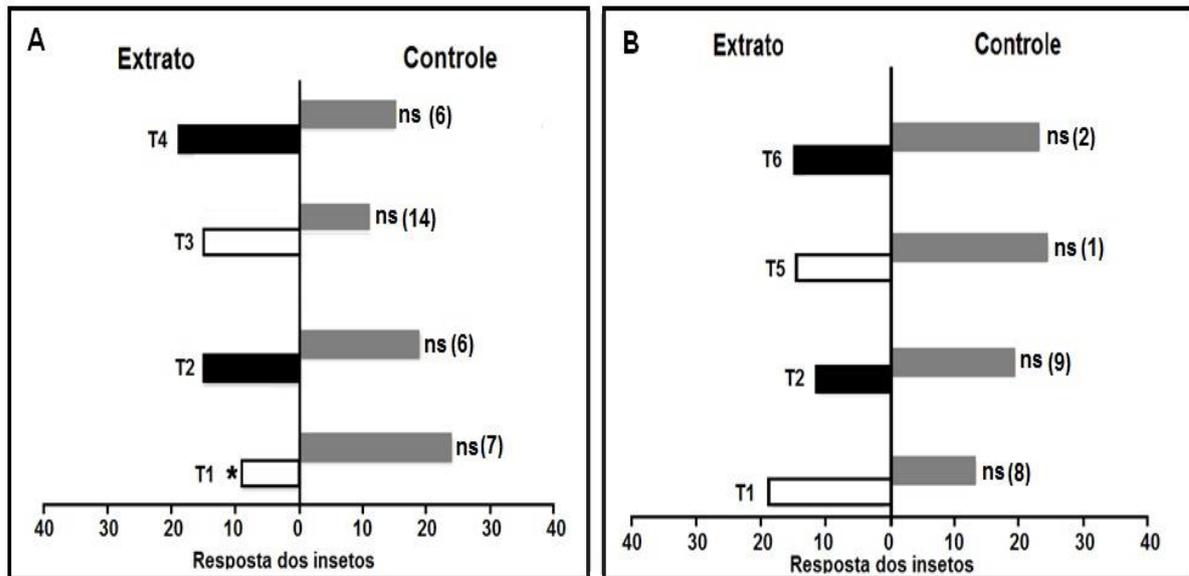
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### *Bioensaios em olfatômetro*

Os resultados obtidos nos bioensaios em olfatometria com extratos de aeração proveniente de insetos do primeiro período, indicaram que o tratamento 1 extrato de fêmeas para testar machos, apresentou diferença significativa entre o controle e o extrato testado ( $X^2=6,8182$ , d.f.=1,  $p=0,0090$ ), observando-se a preferência do inseto pelo controle, indicando a indução de um comportamento de repelência nos machos testados. Para os demais tratamentos não houve diferença significativa T2 ( $X^2=0,4706$ , d.f.=1  $p=0,4927$ ), T3 ( $X^2=0,6154$ , d.f.=1  $p=0,4328$ ) T4 ( $X^2=0,4706$ , d.f.=1  $p=0,4027$ ) (Figura 3A).

Os estudos com extratos de aeração de fêmeas, em olfatômetro, causaram repelência nos machos de *S. castanea*. Já no pentatomídeo *Pallantia macunaima* Grazia, 1980, a amostra de aeração de machos exerceu atratividade sobre as fêmeas e desencadeou a mesma resposta em eletroantenografia, sendo o composto produzido somente por machos.<sup>19</sup>

Nos bioensaios do segundo período, utilizando extratos de aeração e de glândulas de fêmeas e machos, não houve diferença significativa entre a escolha para o controle ou tratamento, sendo T1 ( $X^2=1,125$ , d.f.=,  $p=0,2088$ ), T2 ( $X^2=1,5806$ , d.f.=1  $p=0,2087$ ), T5 ( $X^2=2,0769$ , d.f.=1  $p=0,1495$ ) e T6 ( $X^2=1,6842$ , d.f.=1  $p=0,1944$ ) (Figura 3B). Estes resultados corroboram com as pesquisas feitas<sup>20</sup> para o cimicídio *C. hemipterus*, testando extratos de fêmeas, machos e a mistura de fêmeas+machos observaram que não houve diferença significativa entre os tratamentos e controle testados.



**Figura 3.** Respostas de adultos de *Scaptocoris castanea* Perty 1833 (Hemiptera: Cydnidae) aos tratamentos testados. **A:** T1- extrato de aeração de fêmeas; T2- extrato de aeração de machos; T3- extrato de aeração de fêmeas+machos e T4- extrato de aeração de fêmeas+machos. **B:** T1- extrato de aeração de fêmeas; T2- extrato de aeração de machos; T5- extrato de glândulas de fêmeas e T6- extrato de machos. Barras brancas representam os machos, barras pretas as fêmeas. Número entre parênteses indica insetos não responsivos, (\*) indica diferença (qui-quadrado  $P \leq 0,05$ ), (ns) não significativo.

### Identificação dos compostos

A análise por CG-EM das amostras de *S. castanea* permitiu postular a presença de compostos comuns em percevejos. Para os extratos de glândula e aeração de fêmeas e machos de *S. castanea* foram elucidados quatro aldeídos insaturados e um alceno linear (Tabela 1), desses o (*E*)-2-octenal, (*E*)-2-decenal e (*E,E*)-2,4-decadienal foram identificados em todas as amostras de aerações e glândulas. Destacando-se que todos os compostos foram confirmados por coinjeção de padrões como pode ser observado nos cromatogramas apresentados nas figuras 4, 5, 6 e 7.

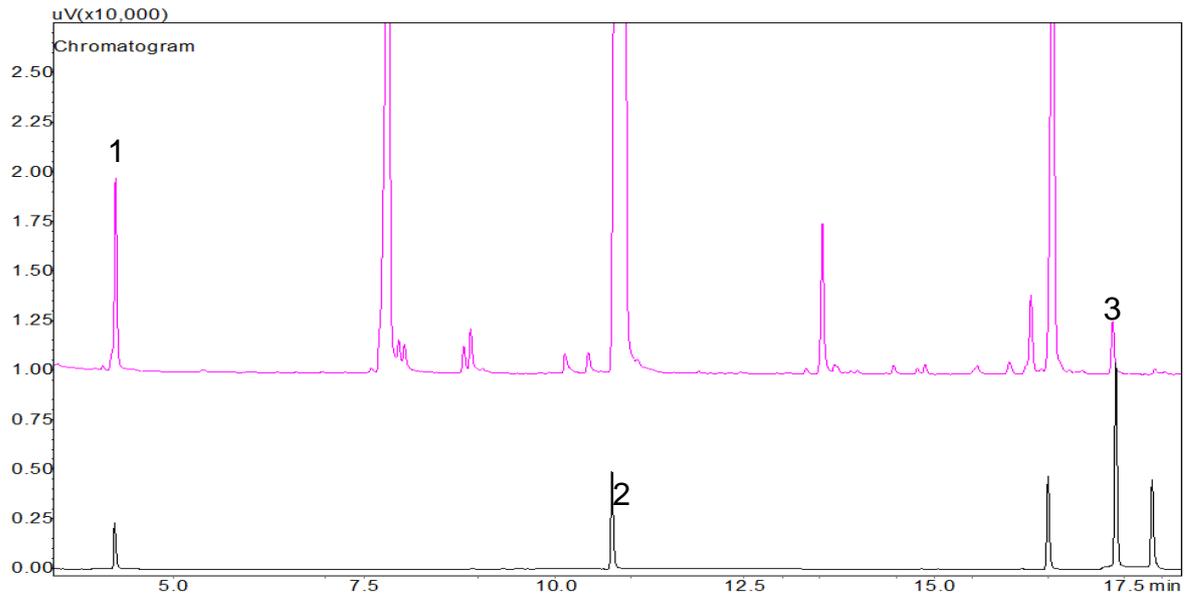
**Tabela 1.** Compostos identificados nos extratos de glândulas e aeração de fêmeas e machos de *Scaptocoris castanea* Perty 1833 (Hemiptera: Cydnidae)

Compostos	IK	Concentração [ppm]			
		Fêmeas		Machos	
		Glândula	Aeração	Glândula	Aeração
(E)-2-Hexenal	852	104,01	---	6,38	---
(E)-2-Octenal	1067	1989,1	8,30	257,03	6,64
(E)-2-Decenal	1267	173	5,85	41,03	4,30
Tridecano	1300	---	0,15	---	0,09
(E,E)-2,4-Decadienal	1296	2,6	0,11	2,72	0,59

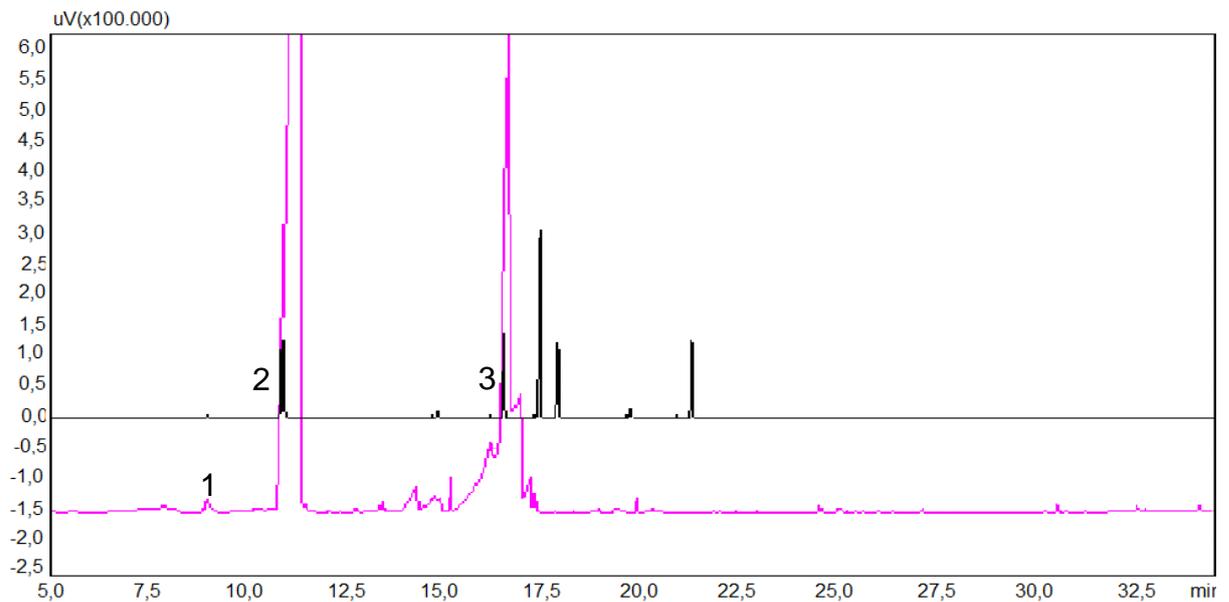
*Concentração dos compostos por inseto nas amostras dada em partes por milhão (ppm).*

O (E)-2-octenal é o composto majoritário em todas as amostras de aerações e glândulas de fêmeas e machos de *S. castanea*, apresentando-se em maior quantidade nas glândulas de fêmeas (Tabela 1). Para o cidnídeo *S. c. cinctus* este composto esteve presente somente nas amostras de fêmeas, sendo considerado o maior componente.<sup>16</sup> Nos pentatomídeos este composto apresentou a segunda maior proporção nas glândulas de *L. deducta* e *P. stictica*<sup>11</sup>, o autor relata que nestes pentatomídeos o composto majoritário nas GM em machos e fêmeas é o tridecano, também majoritário nas GM de adultos e GDA de ninfas das espécies *Chlorochroa uhleri* Stal, 1872, *Chlorochroa sayi* Stal, 1872 e *Chlorochroa ligata* Say, 1832.<sup>9</sup> O tridecano foi identificado somente nas amostras de aeração de machos e fêmeas de *S. castanea*, e considerado o composto minoritário neste estudo, seguido do (E,E)-2,4-Decadienal que apresentou a segunda menor proporção em todas as amostras.

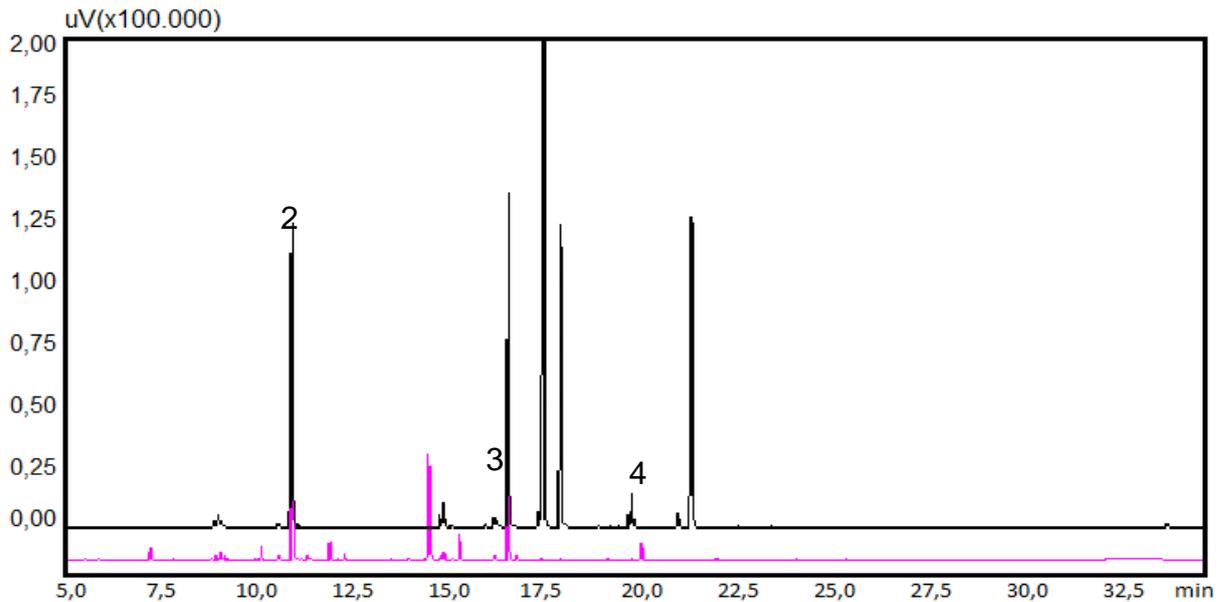
O (E)-2-decenal é o segundo componente mais abundante nos extratos de ambos os sexos (Tabela 1), seguido do composto (E)-2-hexenal encontrado apenas nos extratos de glândulas de machos e fêmeas, ambos os compostos foram predominantes nas glândulas das fêmeas de *S. castanea*. Para o cidnídeo *A. nigrinus* o 2-decenal foi o composto encontrado em maior proporção nos extratos, já para *A. magna* o composto majoritário foi o 2-hexenal.<sup>15</sup>



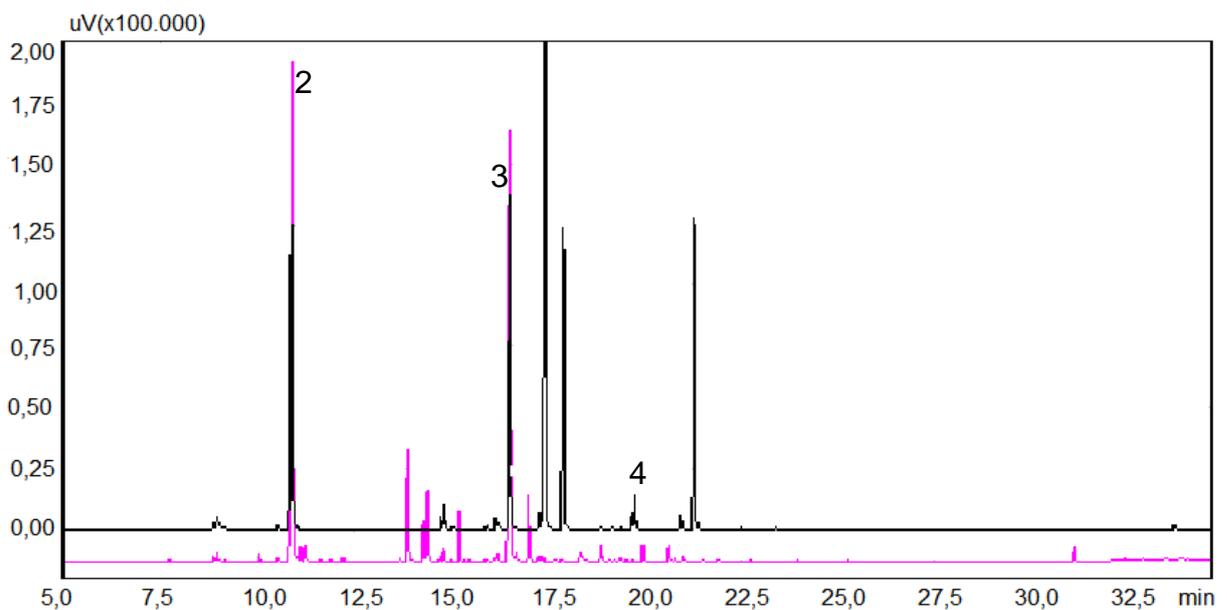
**Figura 4.** Cromatogramas de extrato da glândula de macho (Linha rosa) e padrões (linha preta). Número 1 corresponde (E)-2-hexenal, 2 (E)-2-octenal e 3 (E)-2-decenal.



**Figura 5.** Cromatogramas de extrato da glândula de fêmea (Linha rosa) e padrões (linha preta). Número 1 corresponde (E)-2-hexenal, 2 (E)-2-octenal e 3 (E)-2-decenal.



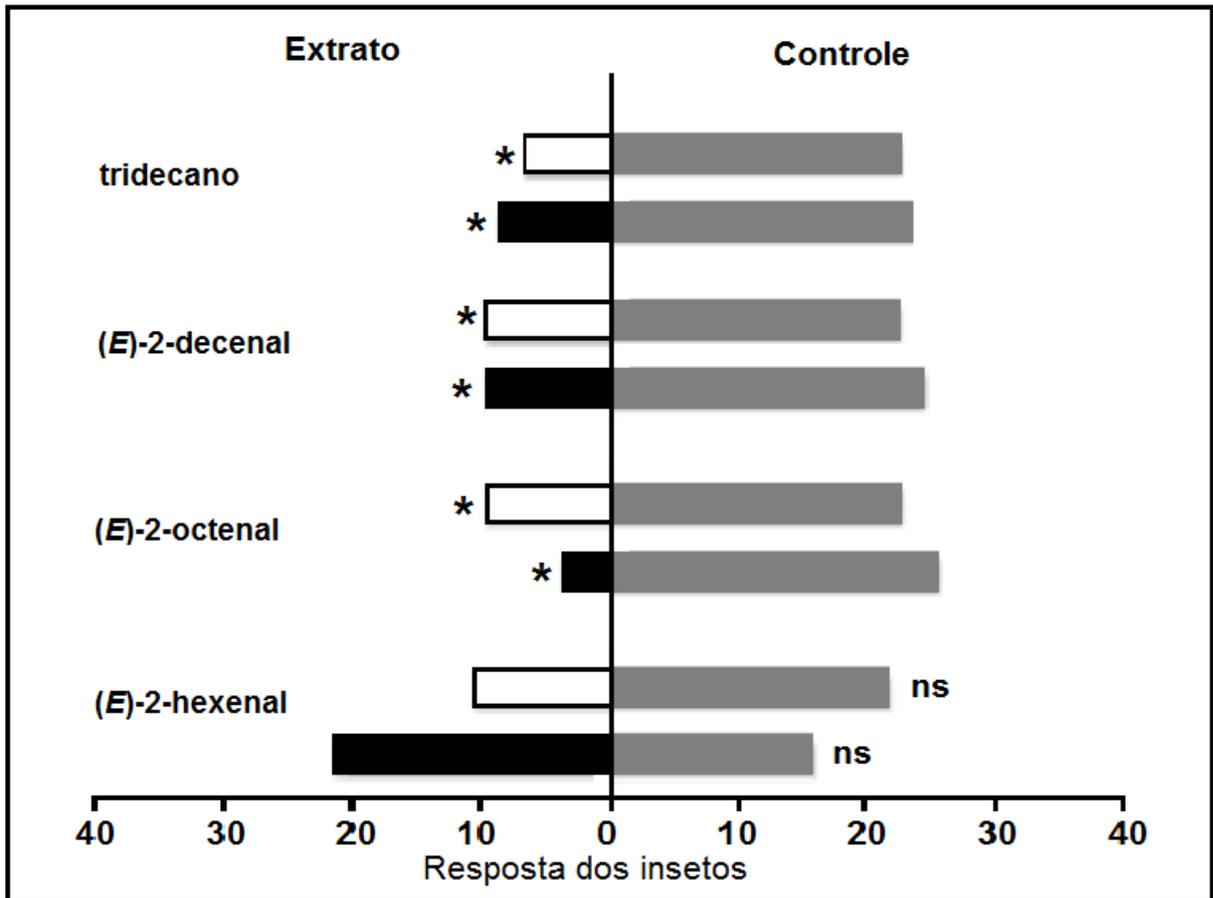
**Figura 6.** Cromatogramas de extrato de aeração de fêmea (Linha rosa) e padrões (linha preta). Número 2 corresponde (E)-2-octenal, 3 (E)-2-decenal e 4 tridecano.



**Figura 7.** Cromatogramas de extrato de aeração de macho (Linha rosa) e padrões (linha preta). Número 2 corresponde (E)-2-octenal, 3 (E)-2-decenal e 4 tridecano.

Os padrões (E)-2-octenal, (E)-2-decenal e tridecano diferiram significativamente em relação ao controle, fêmeas  $X^2=16,1333$ ,  $p=0,0090$  e machos  $X^2=5,1212$  e  $p=0,02364$ ; fêmeas  $X^2=6,4286$ ,  $p=0,01123$  e machos  $X^2=5,1212$ ,  $p=0,02364$ ; fêmeas  $X^2=7,2581$ ,  $p=0,07058$  e machos  $X^2=8,3333$ ,  $p=0,02364$  respectivamente, indicando que os compostos induziram um comportamento de repelência em ambos os sexos testados (Figura 8). No entanto para o padrão (E)-2-

hexenal não houve diferença significativa para fêmeas  $X^2=0,9474$ ,  $p=0,3304$  e machos  $X^2=3,6667$ ,  $p=0,05551$ .

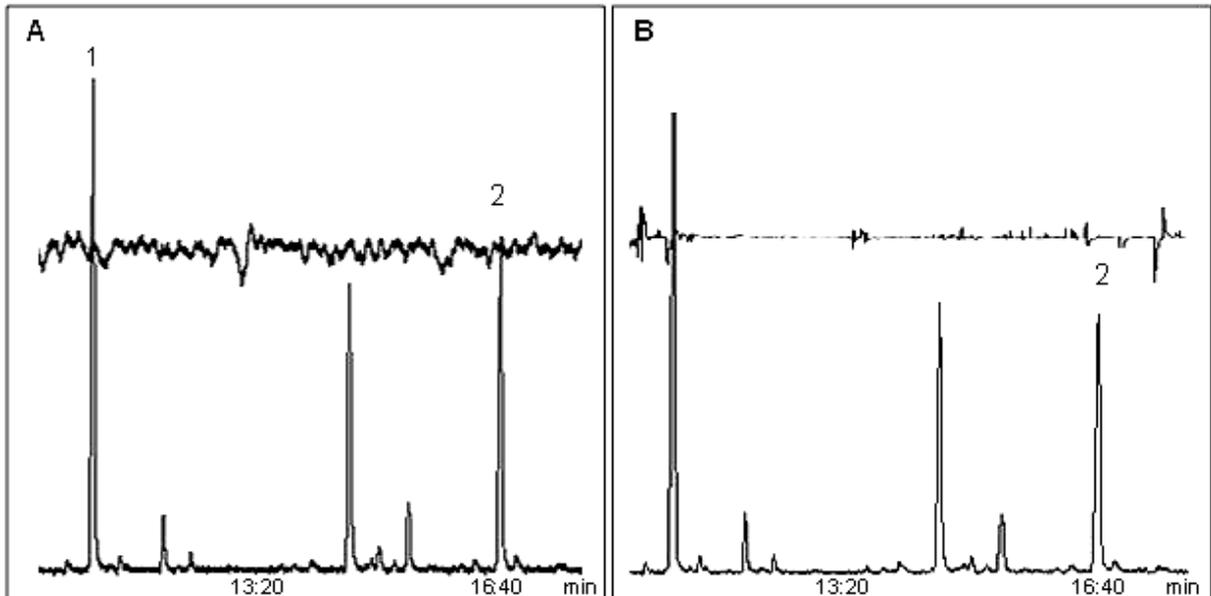


**Figura 8.** Respostas de adultos de *S. castanea* Perty 1833 (Hemiptera: Cydnidae) aos padrões sintéticos. Barras pretas representam fêmeas, barras brancas os machos (\*) indica diferença (qui-quadrado  $P \leq 0,05$ ), (ns) indica insetos que não responderam ao tratamento.

Os compostos (E)-2-octenal, (E)-2-decenal, (E)-2-hexenal e tridecano testados nos bioensaios em olfatômetro são descritos na literatura como substâncias de alarme<sup>9,21</sup>, consideradas substâncias irritantes e repelentes liberadas pelos percevejos quando colocados em situação de risco.<sup>11</sup>

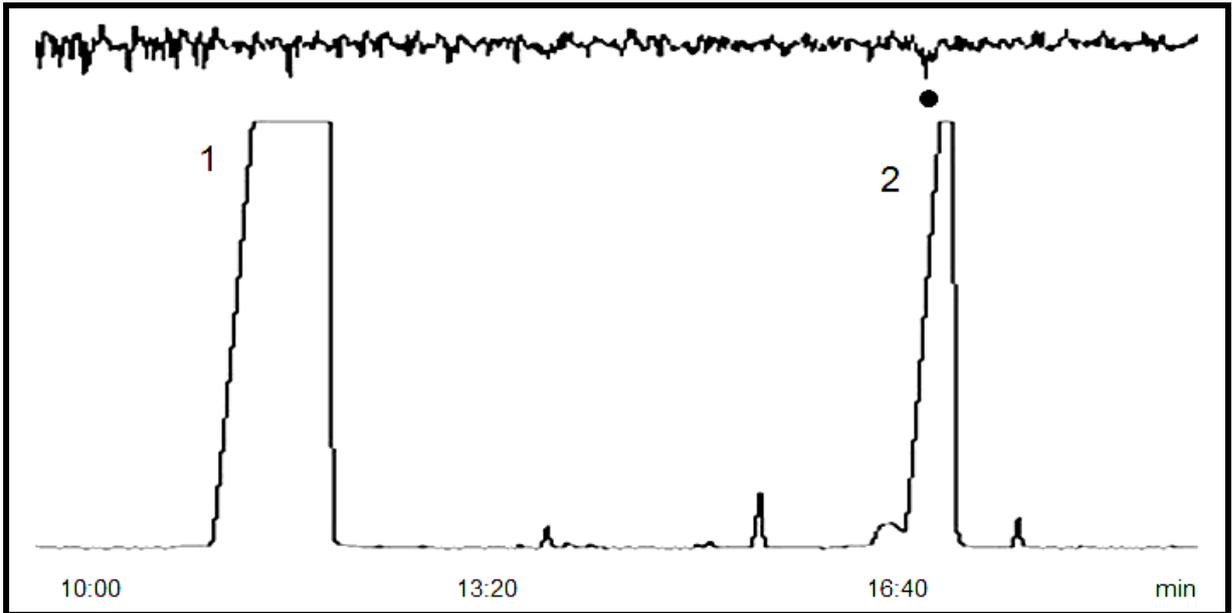
### ***Eletoantenografia***

As antenas de machos apresentaram atividade eletrofisiológica frente ao extrato de aeração de fêmea, sendo detectada atividade para os compostos (*E*)-2-octenal e (*E*)-2-decenal (Figura 9A), e as antenas de fêmeas responderam para o (*E*)-2-decenal do mesmo extrato (Figura 9B).

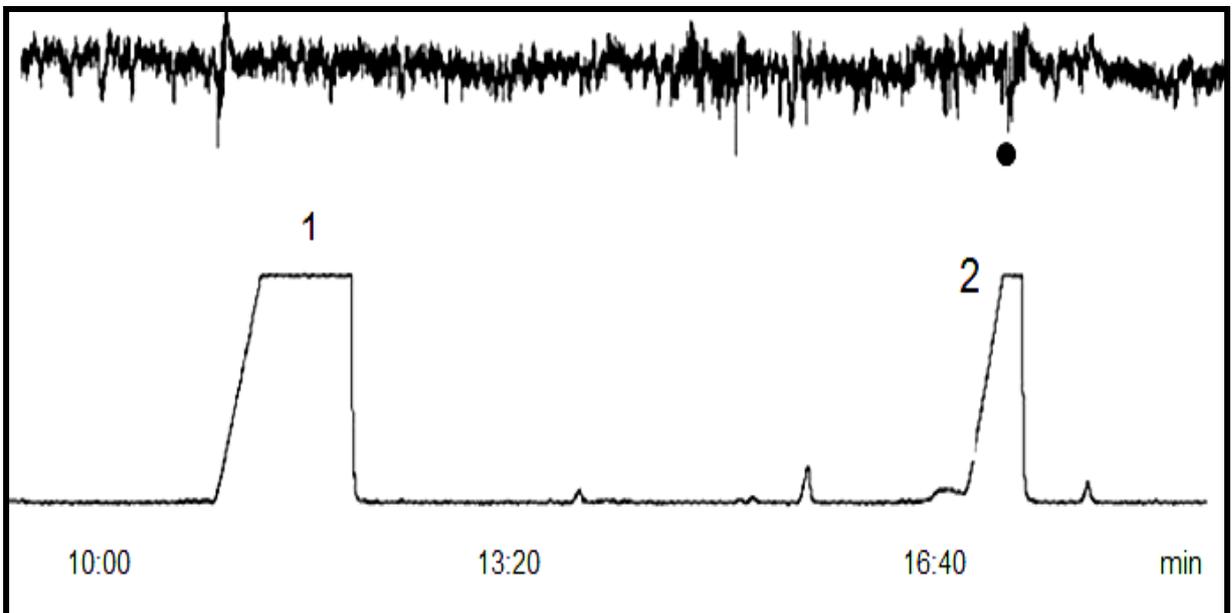


**Figura 9.** CG-EAD de aeração de fêmea *S. castanea*. (A) mostra a atividade eletrofisiológica da antena do macho ao composto testado, número 1: (*E*)-2-octenal e 2: (*E*)-2-decenal. (B) mostra a atividade eletrofisiológica da antena da fêmea ao composto testado, número 2: (*E*)-2-decenal.

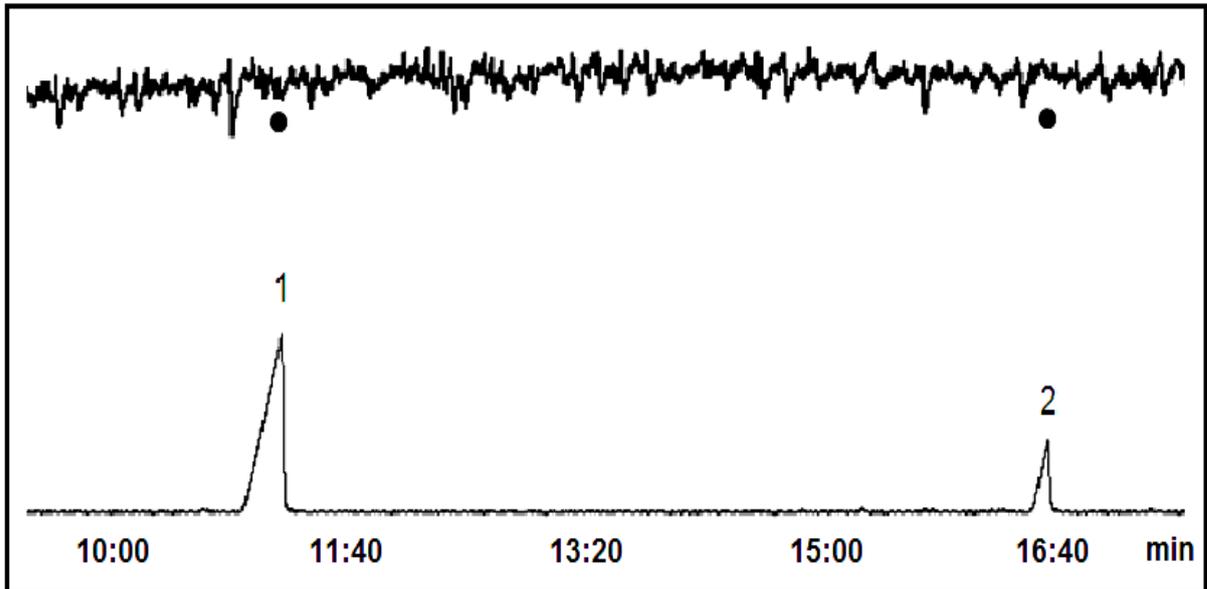
O composto (*E*)-2-decenal identificado na glândula da fêmea apresentou atividade eletrofisiológica para as antenas de fêmeas e machos (Figura 10, 11 respectivamente). O (*E*)-2-octenal também presente nas glândulas de fêmeas, não gerou resposta eletroantenográfica na concentração presente no extrato da glândula da fêmea (1989 ppm), mas quando a amostra foi diluída para alcançar uma concentração próxima da encontrada na glândula de macho (257,03 ppm), as antenas testadas apresentaram resposta eletroantenográfica para o composto (*E*)-2-octenal (167,1ppm) (Figura 12, 13). Desta forma observa-se, que em altas concentrações o (*E*)-2-octenal não induziu resposta eletroantenográfica nos insetos, mas o fez em menor concentração.



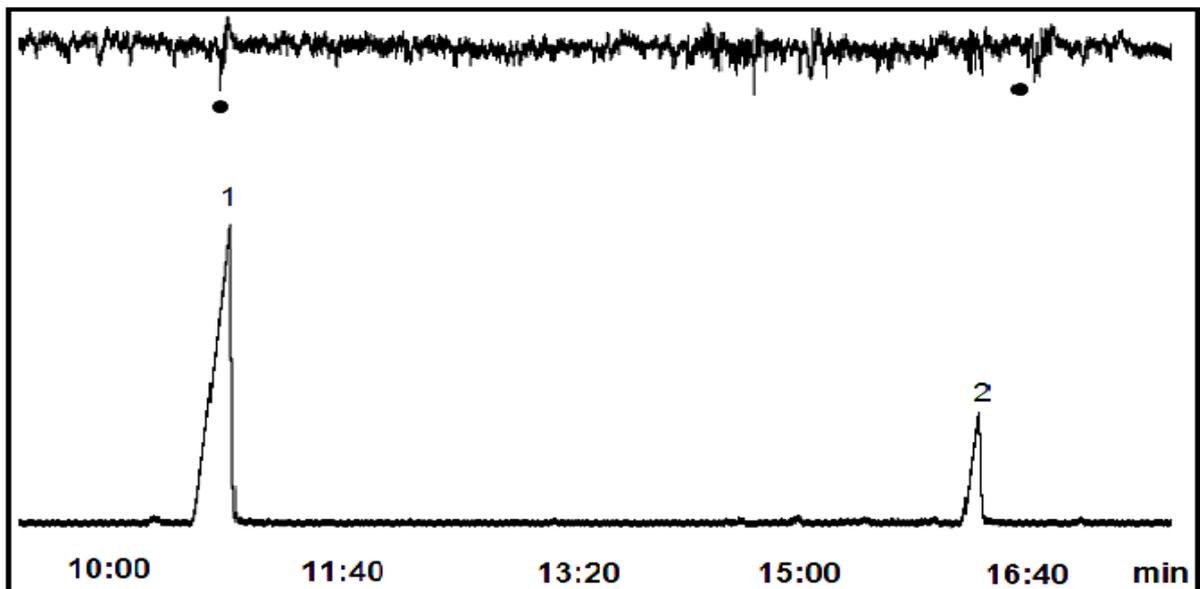
**Figura 10.** CG-EAD de extrato de glândula de fêmeas usando antena de fêmea de *S. castanea*, mostrando atividade eletrofisiológica apenas ao composto (E)-2-decenal sem diluição do extrato de glândula. O círculo preto indica o pico resposta, número 1: (E)-2-octenal e 2: (E)-2-decenal.



**Figura 11.** CG-EAD de extrato de glândula de fêmeas usando antena de macho de *S. castanea*, mostrando atividade eletrofisiológica apenas ao composto (E)-2-decenal sem diluição do extrato de glândula. O círculo preto indica o pico resposta, número 1: (E)-2-octenal e 2: (E)-2-decenal.

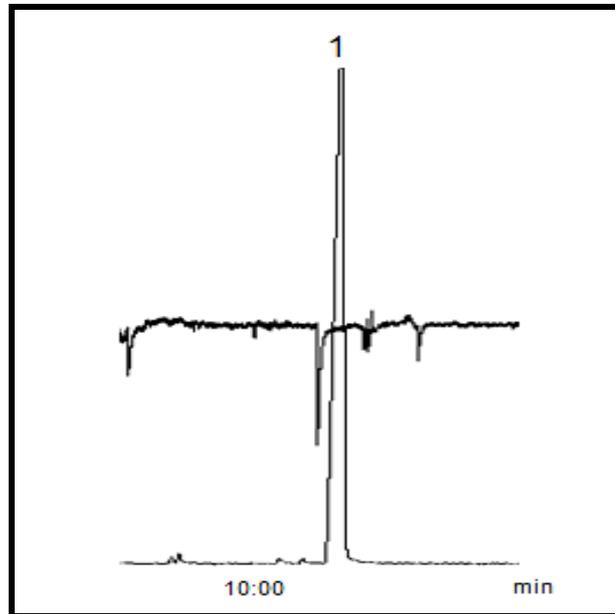


**Figura 12.** CG-EAD de extrato de glândula de fêmeas usando antena de fêmea de *S. castanea*, mostrando atividade eletrofisiológica apenas aos compostos número 1: (E)-2-octenal e 2: (E)-2-decenal, após a diluição do extrato de glândula. O círculo preto indica o pico resposta.



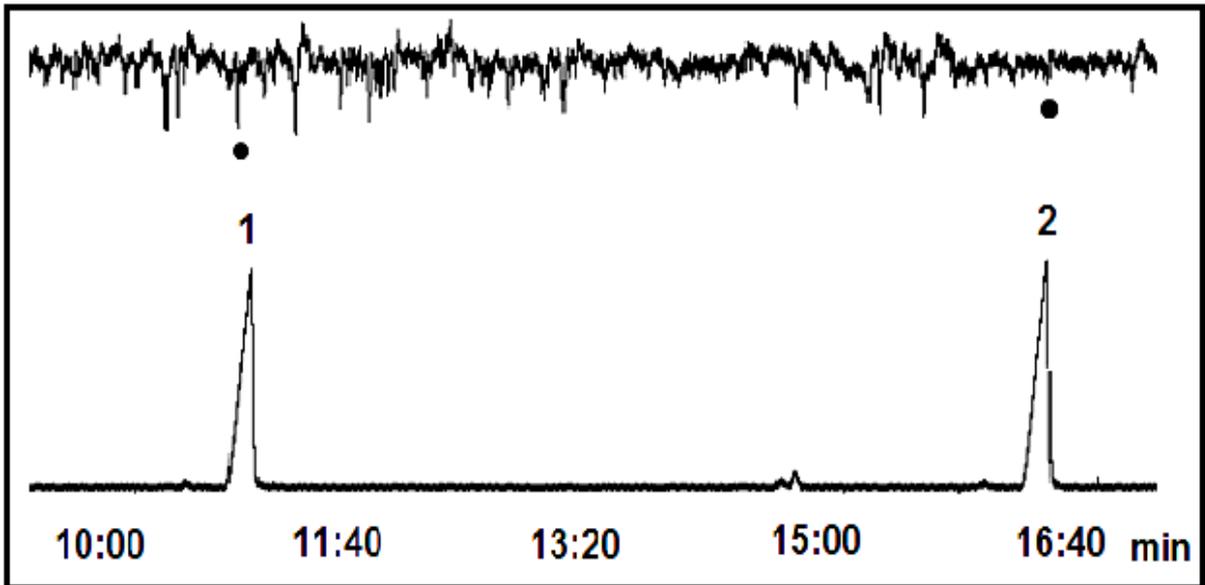
**Figura 13.** CG-EAD de extrato de glândula de fêmeas usando antena de macho de *S. castanea*, mostrando atividade eletrofisiológica apenas aos compostos número 1: (E)-2-octenal e 2: (E)-2-decenal, após a diluição do extrato de glândula. O círculo preto indica o pico resposta.

Quando utilizado os extratos de glândulas de macho, a antena de fêmea apresentou atividade eletrofisiológica ao composto (*E*)-2-octenal (Figura 14). As antenas dos machos não apresentaram atividade para (*E*)-2-octenal e (*E*)-2-decenal.

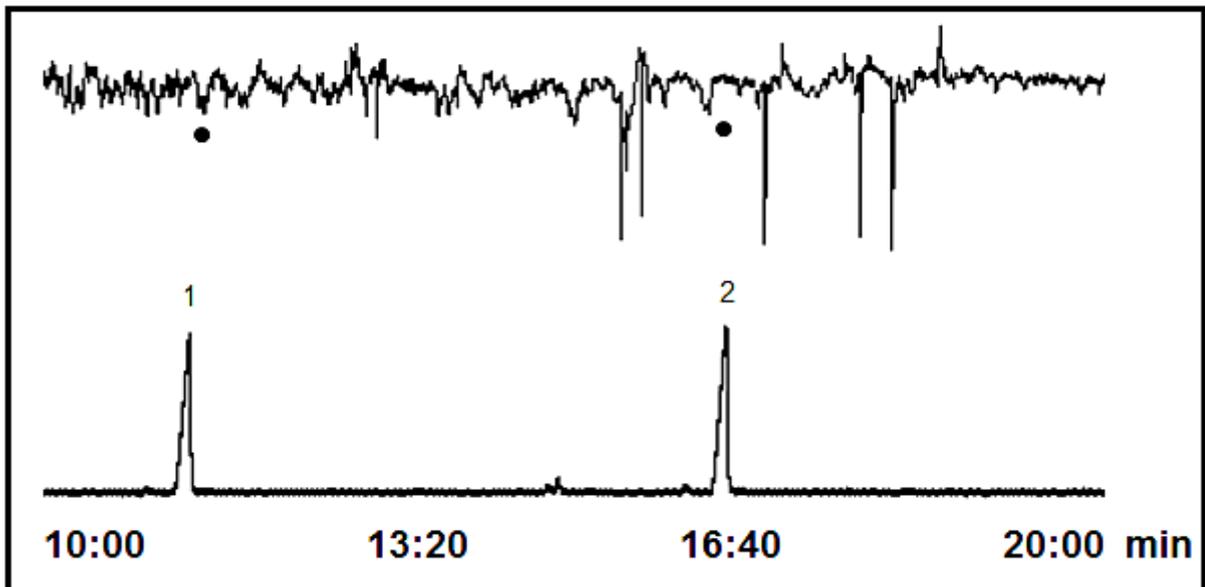


**Figura 14.** CG-EAD de extrato de glândula de macho *S. castanea* testando antena de fêmeas. Número 1 mostra a atividade eletrofisiológica da antena do macho ao composto (*E*)-2-octenal.

Para confirmar a atividade eletrofisiológica atribuída aos compostos (*E*)-2-octenal e o (*E*)-2-decenal identificados nas amostras de aeração e de glândulas, foi realizada a análise de CG-EAD com os padrões, ambos os compostos apresentaram atividade nas antenas de fêmeas e machos (Figura 15 e 16).



**Figura 15.** GC-EAD apresentando atividade eletrofisiológica para os padrões em antena de fêmea de *S. castanea*, o número 1: (*E*)-2-octenal e o 2: (*E*)-2-decenal. O círculo preto indica o pico resposta.



**Figura 16.** GC-EAD apresentando atividade eletrofisiológica para os dois padrões em antena de macho de *S. castanea*, número 1: (*E*)-2-octenal e o 2: (*E*)-2-decenal. O círculo preto indica o pico resposta.

O composto (*E*)-2-octenal está presente em todos os extratos e é também majoritário em todas as amostras coletadas de *S. castanea*. Quando testado no CG-EAD foi considerado ativo, e em olfatômetro provocou comportamento de repelência nos insetos. Este composto foi reportado para as fêmeas da subespécie de cidnideo

*S. c. cinctus*.<sup>16</sup> No entanto o autor não realizou bioensaios para verificar a ação deste composto sob o inseto em estudo.

Para *S. divergens* foram identificados os compostos pentanal, heptanal, octenal e 2-hexenal caracterizados como secreção defensiva da glândula metatorácica <sup>14</sup>, no entanto, o autor não apresentou a estereoquímica destes compostos.

A estereoquímica também não foi apresentada para os compostos 2-hexenal, 2-octenal e 2-decenal identificados nos cidnídeos *A. magna*, *M. japonensis* e *A. nigritus*, espécies encontradas no Japão.<sup>15</sup>

Os compostos identificados nos extratos de glândula e aeração de *S. castanea*, são descritos como substâncias de alarme, e comumente encontrados na glândula torácica e dorso-abdominal em várias espécies de percevejos, principalmente na família Pentatomidae.<sup>9, 21</sup>

Os compostos (*E*)-2-hexenal, (*E*)-2-octenal, (*E*)-2-decenal foram identificados em estudos com extratos provenientes de exúvias de ninfas de primeiro e segundo instar dos percevejos *E. heros*, *A. aseudum*, *T. perditor* e *E. meditabunda*.<sup>17</sup> Além destes, o composto (*E,E*)-2,4-decadienal é reportado para os percevejos *Chinavia impicticornis* Stal, 1872, *Chinavia ubica* Rolston, 1983 e *E. heros*.<sup>22</sup>

O (*E*)-2-decenal, (*E*)-2-hexenal, (*E*)-2-octenal e tridecano confirmados neste trabalho também foram encontrados nas glândulas abdominais e torácicas dos pentatomídeos *L. deducta* e *P. stictica* <sup>11</sup>, e *P. macunaima* <sup>23</sup>, e em extratos de exúvias e glândulas metatorácicas, de machos e fêmeas de *Agroecus griseus* Dallas, 1851 <sup>19</sup>. Os três últimos compostos citados acima são reportados como substâncias de defesa, liberadas pelos percevejos quando importunados.<sup>11</sup> Desta forma, estas substâncias também podem atuar na defesa química de *S. castanea*.

Os compostos (*E*)-2-octenal e (*E*)-2-hexenal foram identificados como substâncias defensivas na glândula metatorácica de *Piezodorus guildinii* Westwood, 1837 <sup>24</sup>. A mesma atuação foi observada para estes compostos em ninfas e adultos de *C. hemipterus* <sup>20</sup> e para *Cimex lectularius* Linnaeus, 1758 <sup>25</sup>, além destes dois compostos, o tridecano foi identificado na glândula metatorácica de *Dichelops melacanthus* Dallas, 1851. <sup>8</sup>

Em *N. viridula* o (*E*)-2-hexenal e o (*E*)-2-decenal foram caracterizados como substâncias defensivas <sup>26</sup>, a mesma função é reportada aos compostos (*E*)-2-octenal, (*E*)-2-decenal e tridecano para *T. perditor*. <sup>25</sup>

Os compostos confirmados para *S. castanea* são considerados substâncias de defesa, como descrito nas literaturas. Conhecer as substâncias de defesa antes dos estudos de feromônios sexuais e de agregação é essencial<sup>19</sup>, pois dificilmente se obtém extratos sem contaminantes de compostos defensivos.<sup>9</sup>

A função biológica destes compostos precisa ser mais estudada, visando o desenvolvimento de estratégias de manejo para o percevejo castanho, além disto encontram-se poucos trabalhos de identificação dos compostos voláteis da família Cydnidae, reforçando a necessidade de novos estudos sobre este inseto.

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho indicam que os compostos confirmados para *S. castanea* são substâncias de defesa para esse inseto. O presente estudo serve pode ser usado como base para futuras pesquisas que visem à elucidação de novos compostos de *S. castanea*.

## AGRADECIMENTOS

Ao Dr. C.F. Schwertner (UNIFESP) pela identificação dos insetos. À Associação de Produtores de Soja e Milho (APROSOJA) do estado de Mato Grosso pela concessão da bolsa, a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Mato Grosso (FAPEMAT) pelo financiamento do projeto, a Fazenda Chapada e o Grupo ABC Agrícola por disponibilizar a área para as coletas dos percevejos.

## REFERÊNCIAS

1. Picanço, M.; Leite, G.L.D; Mendes, M.C.; Borges, V.E.; *Pesquisa Agropecuária Brasileira* **1999**, 34, 885.
2. Oliveira, L.J.; Malaguido, AB.; *Neotropical Entomology* **2004**, 33, 283.
3. Ávila, C. J; Xavier, L. M. S; Gomez, S. A.; Boletim de pesquisa e desenvolvimento 50, Embrapa Agropecuária Oeste: Dourados, **2009**, 36p.
4. Sales Jr, O.; Medeiros, M. O.; *Resumos dos Anais da 8ª Reunião Sul-Brasileira sobre pragas de solo*, Londrina, Brasil, 2001.

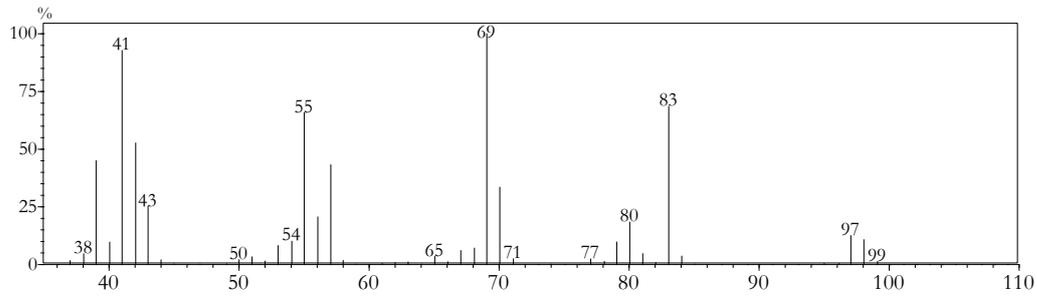
5. Fernandes, P. M.; Oliveira, L. J.; Souza, C. R.; Czepak, C.; BARROS, R.G., *Pragas de solo no Brasil: Passo Fundo*, 2004, cap.16.
6. Detheier, M.; *Bull. Soc. Vaudoise Sci. Nat.* **1974**, 72, 127.
7. Pluot-Sigwalt, D.; *Acta Entomologica Musei Nationalis Pragae*, **2008**, 48, 511.
8. Marques, F. A.; Wendler, E. P.; Maia, B. H. L. N. S.; Ventura, M. U.; Gatti, I. C. J. *Braz. Chem. Soc.* **2007**, 18, 1242.
9. Ho, H. Y.; Millar, J. G.; *Zoological Studies* **2001**, 40, 193.
10. Millar, J. G.; *Topics in Current Chemistry* **2005**, 240, 37.
11. Fávaro, C. F.; Zarbin, P. H. G. *Quím Nova* **2012**, 35, 1582.
12. Gullan, P. J.; Cranston, P. S. *Os insetos: um resumo de entomologia*. 3<sup>th</sup> ed., São Paulo: Roca, 2007.
13. Vilela, E. F.; Della Lucia, T. M. C. *Feromônios de insetos: biologia, química e emprego no manejo de pragas*. 2<sup>th</sup> ed., Ribeirão Preto: Holos, 2001, cap.2.
14. Roth, L.M.; *Ann. Entomol. Soc. Am.* **1961**, 54, 900.
15. Hayashi, N.; Yamamura, Y.; Ohama, S.; Yokocho, K.; Komae, H.; Kuwahara, Y.; *Revista Experientia* **1976**, 418.
16. Krall, B. S.; Zilkowski, B. W.; Kight, S.; Bartelt, R. J.; Whitman, D.W. *J. Chem. Ecol.* **1997**, 23, 1951.
17. Borges, M.; Aldrich, J. R. *Revista Experientia* **1992**, 48, 893.
18. Zarbin, P. H. G; Ferreira, J. T. B; Leal, W. S. *Quím. Nova* **1999**, 22, 263.
19. Fávaro, C.F.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal do Paraná, Brasil, 2012.
20. Liedtke, H. C.; Abjornsson, K.; Harraca, V.; Knudsen, J. T.; Wallin, E. A.; Hedenstro, E.; Ryne, C. *Plos One* **2011**, 6, 1.
21. Moraes, M. C. B.; Pareja, M.; Laumann, R. A.; Borges, M.; *Neotropical Entomology* **2008**, 37,489.
22. Pareja, M.; Borges, M.; Laumann, R. A.; Moraes, M. C. B. *J. Insect Physiol.* **2007**, 53, 639.
23. Fávaro, C. F.; Rodrigues, M. A. C. M.; Aldrich, J. R.; Zarbin, P. H. G.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2011**, 22, 58.
24. Zarbin, P. H. G.; Borges, M.; Santos, A. A. *J. Braz. Chem. Soc.* **2000**, 11, 424.
25. Weeks, E. NI.; Birkett, M. A.; Cameron, M. M.; Pickett, J. A.; Logan, J. G. *Society of Chemical Industry* **2010**, 67, DOI 10.1002/ps.2024

26. Lockwood, J. A.; Story, R. N. *nn. Entomol. Soc. Am.* **1987**, *80*, 686.
27. Moraes, M. C. B.; Jocelyn, G. M.; Laumann, R. A.; Sujii, E. R.; Pires, C. S. S. ; Borges, M. J. *Chem. Ecol.* **2005**, *31*, 1415.

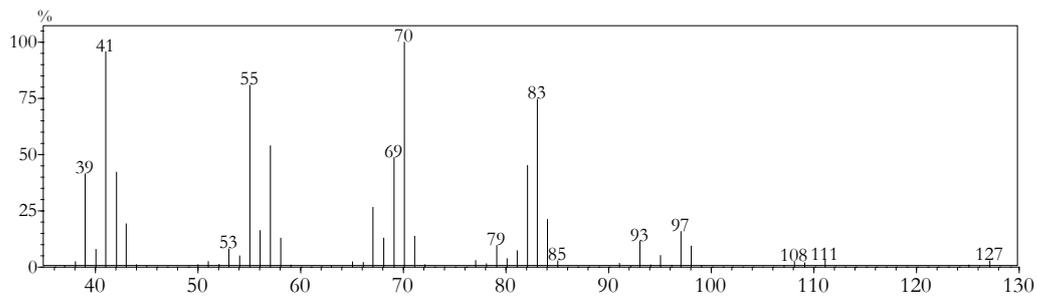
## MATERIAL SUPLEMENTAR

### Espectros de massas de glândula de macho.

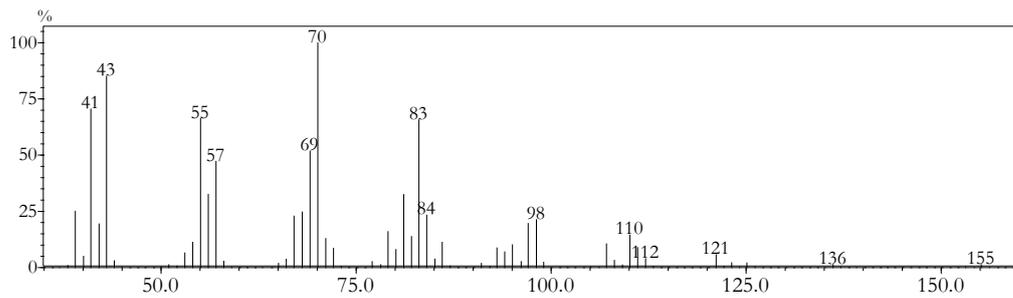
Espectro de massas do (*E*)-2-hexenal.



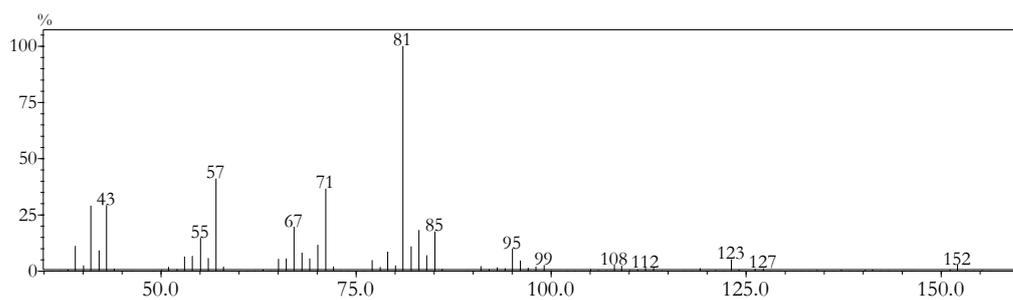
Espectro de massas do (*E*)-2-octenal.



Espectro de massas de (*E*)-2-decenal.

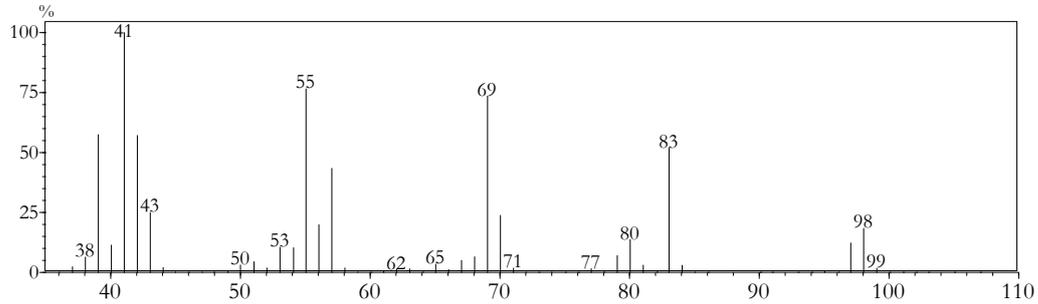


Espectro de massas de (*E,E*)-2,4-decadienal.

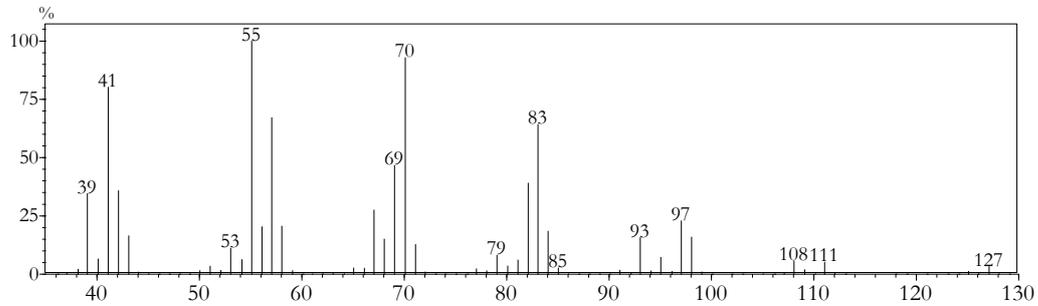


## Espectros de massas de glândula de fêmea.

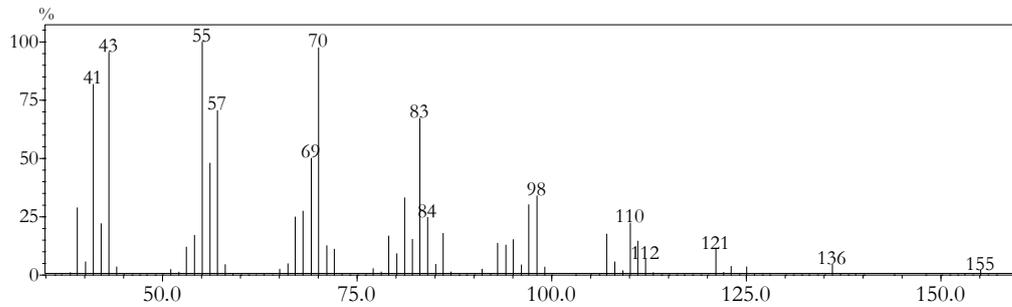
### Espectro de massas do (*E*)-2-hexenal.



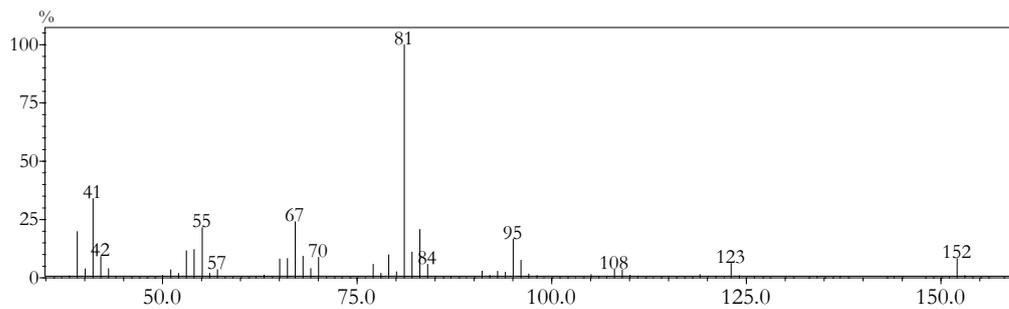
### Espectro de massas do (*E*)-2-octenal.



### Espectro de massas do (*E*)-2-decenal.

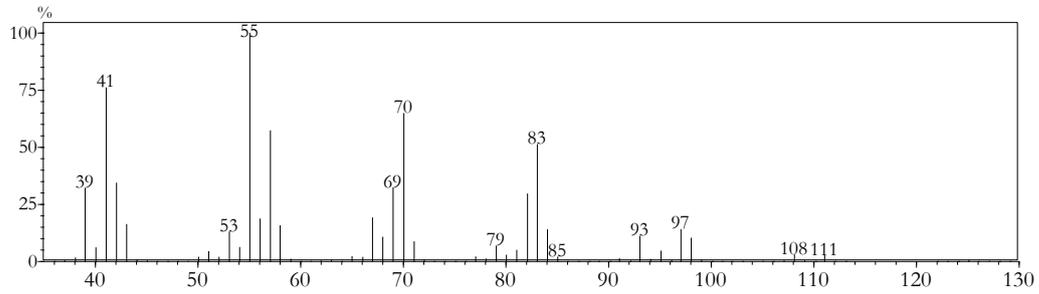


### Espectro de massas de (*E,E*)-2,4-decadienal.

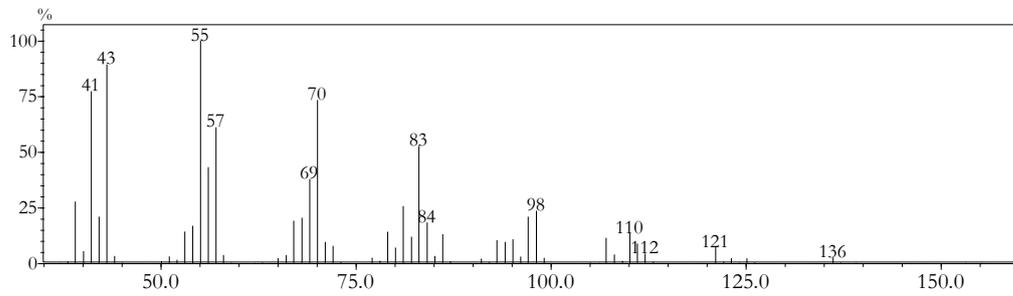


## Espectros de massas de aeração de fêmea.

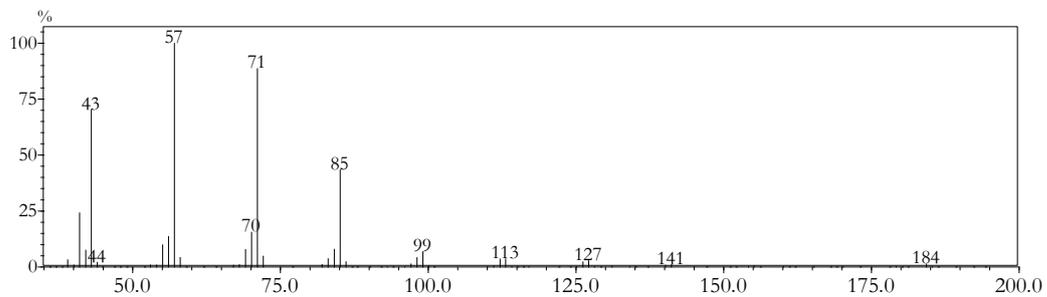
### Espectro de massas do (*E*)-2-octenal.



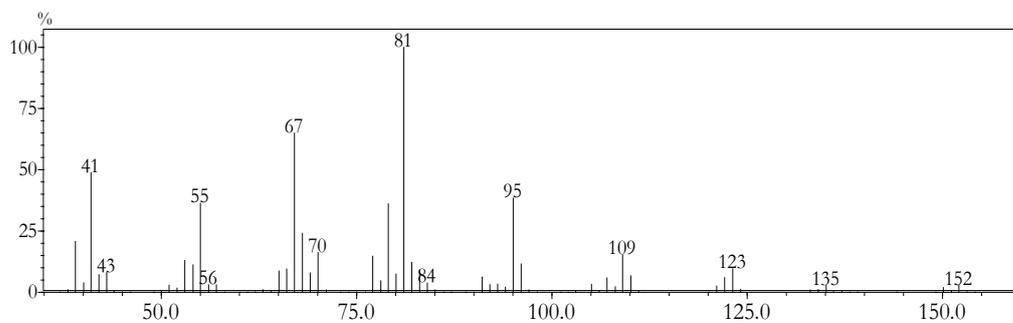
### Espectro de massas do (*E*)-2-decenal.



### Espectro de massas do tridecano.

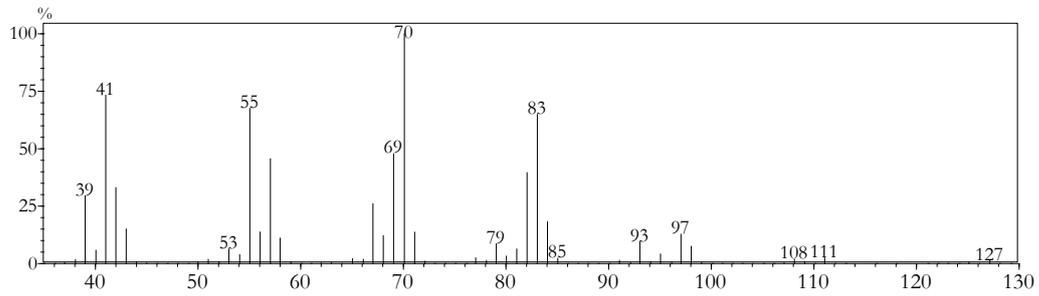


### Espectro de massas de (*E,E*)-2,4-decadienal.

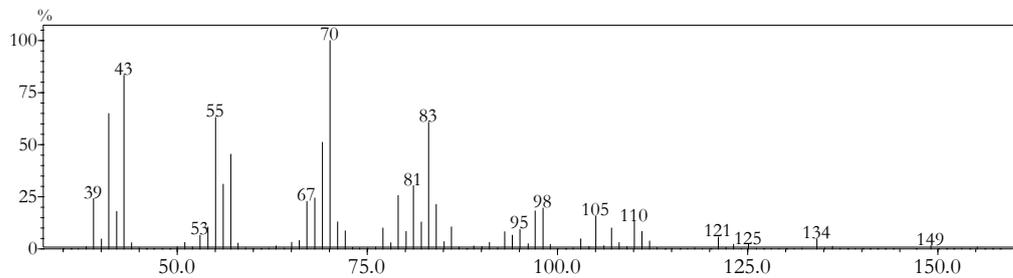


## Espectros de massas de aeração de macho.

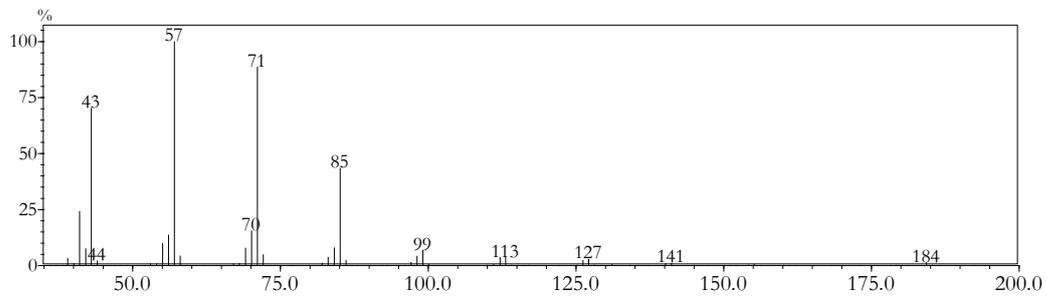
### Espectro de massas do (*E*)-2-Octenal.



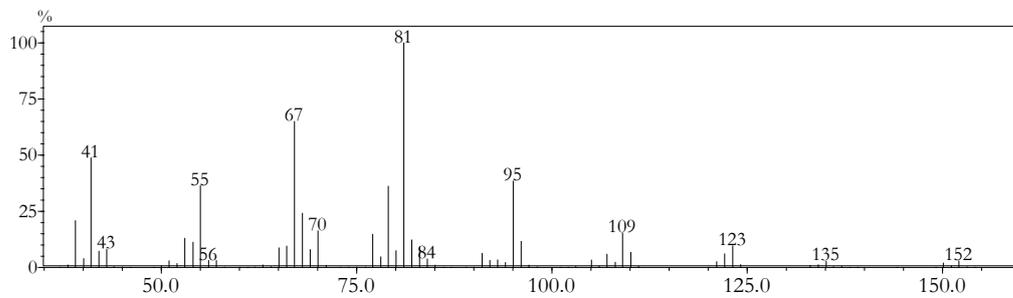
### Espectro de massas do (*E*)-2-Decenal.



### Espectro de massas do Tridecano.



### Espectro de massas de (*E,E*)-2,4-decadienal.



**RAZÃO SEXUAL NAS REVOADAS E ASPECTOS REPRODUTIVOS DO  
PERCEVEJO CASTANHO *SCAPTOCORIS CASTANEA* PERTY, 1833  
(HEMIPTERA: CYDNIDAE)**

[Revista Biota Neotropica]

Camila Patrícia Ribeiro de Souza<sup>1</sup>, Mônica Josene Barbosa Pereira<sup>1</sup> e Jamile  
Fernanda Silva Cossolin<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-graduação em Ambiente e Sistemas de Produção Agrícola,  
Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT, CEP 78.300-000, MT 358 km  
07 jardim aeroporto, Tangará da Serra - MT, Brasil

<sup>2</sup> Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa - UFV, CEP  
36.570-900, Viçosa - MG, Brasil

Autor para correspondência: Camila Patrícia Ribeiro de Souza, e-mail:  
camila.souzatga@gmail.com

SOUZA, C.P.R., PEREIRA, M.J.B. & COSSOLIN, J.F.S. **Sex ratio in flocks and reproductive aspects of brown bug *Scaptocoris castanea* Perty, 1833 (Hemiptera: Cydnidae).**

**Abstract:** This study evaluated the sex ratio of brown stink bug *Scaptocoris castanea* a flight, copulation and analyze ovarian development of insects collected. The collections of brown stink bugs were held in Mato Grosso municipalities in the periods of november 2013 to april 2014 and november 2014 to march 2015 in ditches opened in the soil, and a flight. The insects collected were placed in plastic pots and sent to the laboratory of Entomology CPEDA / UNEMAT. The insects collected a flight were counted and sexed to calculate the sex ratio (RS). Females collected in soil and flight were selected for ovarian development verification and fertilization, assessed by the presence of spermatozoa in the females spermatheca. The adults sex ratio collected a flight in 2014 and 2015 was 0.83 and 0.89 respectively. All the females in 2014 were copulated. However, these females were not recorded the presence of egg formed in ovarioles. In 2015, 98% were copulated and 5.1% had formed eggs. The largest number of females copulated and eggs collected in the field were observed from february to april 2014. In the collection period, 74% were copulated, and these 28% had formed in ovarioles eggs. The eggs of *S. castanea* have an oval shape, light yellow, and ranged from one to fifteen per female. We conclude that in the *S. castanea* flocks predominate females copulated with the undeveloped ovarian, but in the soil females the presented ovaries were developed with the presence of eggs.

**Keywords:** flight, sex ratio, ovarian development, egg.

SOUZA, C.P.R., PEREIRA, M.J.B. & COSSOLIN, J.F.S. **Razão sexual nas revoadas e aspectos reprodutivos do percevejo castanho *Scaptocoris castanea* Perty, 1833 (Hemiptera: Cydnidae).**

**Resumo:** Este trabalho objetivou avaliar a razão sexual do percevejo castanho *Scaptocoris castanea* das revoadas, cópula e analisar o desenvolvimento ovariano dos insetos coletados. As coletas de percevejo castanho foram realizadas em municípios de Mato Grosso, nos períodos de novembro de 2013 a abril de 2014, e novembro 2014 a março de 2015, em trincheiras abertas no solo e nas revoadas. Os insetos coletados eram acondicionados em potes plásticos e encaminhados ao laboratório de Entomologia CPEDA/ UNEMAT. Os insetos coletados nas revoadas eram contabilizados e sexados para calcular a razão sexual (RS). As fêmeas coletadas no solo e nas revoadas foram selecionadas para verificação do desenvolvimento ovariano e fecundação, avaliada pela presença de espermatozoides na espermateca das fêmeas. A razão sexual dos adultos coletados nas revoadas em 2014 e 2015 foi de 0,83 e 0,89 respectivamente. Todas as fêmeas em 2014 estavam copuladas. No entanto, nessas fêmeas não foi registrada a presença de ovo formado nos ovariolos. Já em 2015, 98% estavam copuladas e 5,1% apresentavam ovos formados. Já as fêmeas coletadas no solo, 74% estavam copuladas, e dessas 28% apresentavam ovos formados nos ovariolos. Os ovos de *S. castanea* apresentam formato oval, cor branca amarelada e variaram entre um e quinze por fêmea. Conclui-se que nas revoadas de *S. castanea* predominam fêmeas copuladas com ovário pouco desenvolvido, já nas fêmeas de solo os ovários apresentam-se desenvolvidos com presença de ovos.

**Palavras chave:** *revoada, razão sexual, desenvolvimento ovariano, ovo.*

## 1. Introdução

O percevejo castanho *Scaptocoris castanea* Perty, 1833 (Hemiptera: Cydnidae), ataca as raízes de várias culturas, interferindo no desenvolvimento das plantas, causam perdas de até 100% em áreas de soja e algodão (Sousa 2002, Fernandes et al. 2004).

O *S. castanea* pode ser encontrado durante todo o ano em diferentes perfis de solo, de acordo com gradiente de umidade, porém no período chuvoso, os adultos são encontrados em abundância nas camadas superficiais do solo (Oliveira et al. 2000, Sousa 2002, Oliveira & Malaguido 2004).

O desenvolvimento do percevejo ocorre no interior do solo, incluindo cópula e oviposição, são observados fora do solo no período chuvoso comuns em revoadas ao entardecer (Corrêa Ferreira & Panizzi 1999, Sales Junior & Medeiros 2001).

Em estudos com *Scaptocoris carvalhoi* Becker (1967) na região de Góias, apontaram revoadas em novembro de 2004 e outubro de 2005, coincidindo com o início do período chuvoso na região. O autor infere que o início das chuvas após um longo período de seca é um fator preponderante para revoada, e que a umidade do

solo pode estar associada ao acasalamento e oviposição desta espécie (Nardi et al. 2007).

São importantes os estudos que visam conhecer a época de acasalamento e o desenvolvimento reprodutivo deste inseto (Fernandes et al. 2004), uma vez que existem poucos trabalhos sobre a reprodução, bem como a descrição da morfologia dos órgãos reprodutores.

Lis (2003) em seus estudos registrou de quatro a sete ovariolos na formação dos ovários de algumas espécies de Cydnidae, além da variação na morfologia dos ovidutos laterais de duas subfamílias, uma apresenta ovidutos laterais mais longos e a outra ovidutos laterais mais curtos.

A espermateca é uma estrutura comum à família Cydnidae, apresenta variações morfológicas de acordo com cada espécie, é constituída por três partes principais, o receptáculo seminal, a parte intermediária e o canal da espermateca (Pluot-Sigwalt & Lis 2008).

Em geral o sistema reprodutor dos machos em Heteroptera consiste em um par de testículos, dois canais deferentes, duas vesículas seminais, glândulas acessórias e ducto ejaculatório que abre-se no edeago (Soto et al. 2012, Karakaya et al. 2012, Ozyurt et al. 2013).

Devido à escassez de informações sobre *S. castanea* o presente trabalho teve por objetivo avaliar a razão sexual deste percevejo nas revoadas, descrever o desenvolvimento ovariano das fêmeas em revoadas e solo.

## **2. Material e Métodos**

As coletas de percevejo castanho foram realizadas na Fazenda Chapada, situada à margem esquerda da Rodovia MT 235 Km 32, na região de Campo Novo dos Parecis, estado de Mato Grosso, entre as coordenadas geográficas 13°47'28.62"LS e 57° 33'21.86"LO, nos períodos de novembro de 2013 a abril de 2014, e de novembro 2014 a março de 2015.

Foram contabilizadas 22 coletas a campo no período citado, e oito revoadas, coletadas entre os meses de março e abril de 2014, nos municípios de Tangará da Serra, Campo Novo dos Parecis, São José do Rio Claro e Ipiranga do Norte, em talhões de soja, algodão e milho. Entre fevereiro e março de 2015 foram coletadas sete revoadas nos municípios de Tangará da Serra, Campo Novo dos Parecis, Sapezal e Diamantino. Os percevejos foram coletados através de trincheiras abertas

no solo e aqueles provenientes das revoadas eram coletados com auxílio de pulsar. Os insetos coletados eram acondicionados em potes plásticos e encaminhados ao laboratório de Entomologia do Centro de Pesquisa, Estudos e Desenvolvimento Agro-Ambientais (CPEDA) da Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT, *campus* de Tangará da Serra.

Todos os adultos coletados nas revoadas foram quantificados e sexados conforme descrição de (Nardi, 2005), a razão sexual das revoadas foi determinada pela equação ( $RS = \frac{\text{número de fêmeas}}{\text{número de fêmeas} + \text{número de machos}}$ ). Das revoadas coletadas em 2014 foram selecionadas 20 fêmeas, para verificação do desenvolvimento ovariano, essa mesma verificação foi realizada com 10% das fêmeas coletadas nas revoadas em 2015, para tanto os insetos foram dissecados em estereoscópio trinocular sobre placa de petri contendo parafina branca, para melhor fixação do inseto. Na dissecação foi utilizada solução fisiológica (0,9%) para manter a turgescência das células.

Para avaliação do desenvolvimento ovariano das fêmeas, foram selecionadas 20 fêmeas de *S. castanea* por coleta, totalizando 440 fêmeas dissecadas, este desenvolvimento foi verificado pela contagem do número de ovos formados nos ovários, e a fecundação das fêmeas pela presença de espermatozoides na espermateca. Os ovos encontrados foram quantificados e posteriormente imersos em álcool 70% para serem conservados.

### **3. Resultados e Discussão**

Durante os meses de março a abril 2014, e fevereiro a março de 2015 foram registradas quinze revoadas em diferentes cidades do estado de Mato Grosso (Tabela 1).

A razão sexual para as revoadas coletadas em 2014 foi de 0,83 variando de 0,75 a 0,93. Já para as revoadas em 2015 a razão foi de 0,89 variando de 0,78 a 0,96, destaca-se a predominância de fêmeas nas diferentes localidades e períodos de coleta. Em pesquisa realizada com *Scaptocoris divergens* Froeschner 1960, utilizando armadilha luminosa, registrou somente a presença de fêmeas na revoada desta espécie (Willis & Roth 1962).

**Tabela 1.** Razão sexual de adultos de *Scaptocoris castanea* coletados em revoadas nos municípios Tangará da Serra (TGA), São José do Rio Claro (SJRC), Campo Novo dos Parecis (CNP), Ipiranga do Norte (IN), Sapezal (SAP) e Diamantino (DIA).

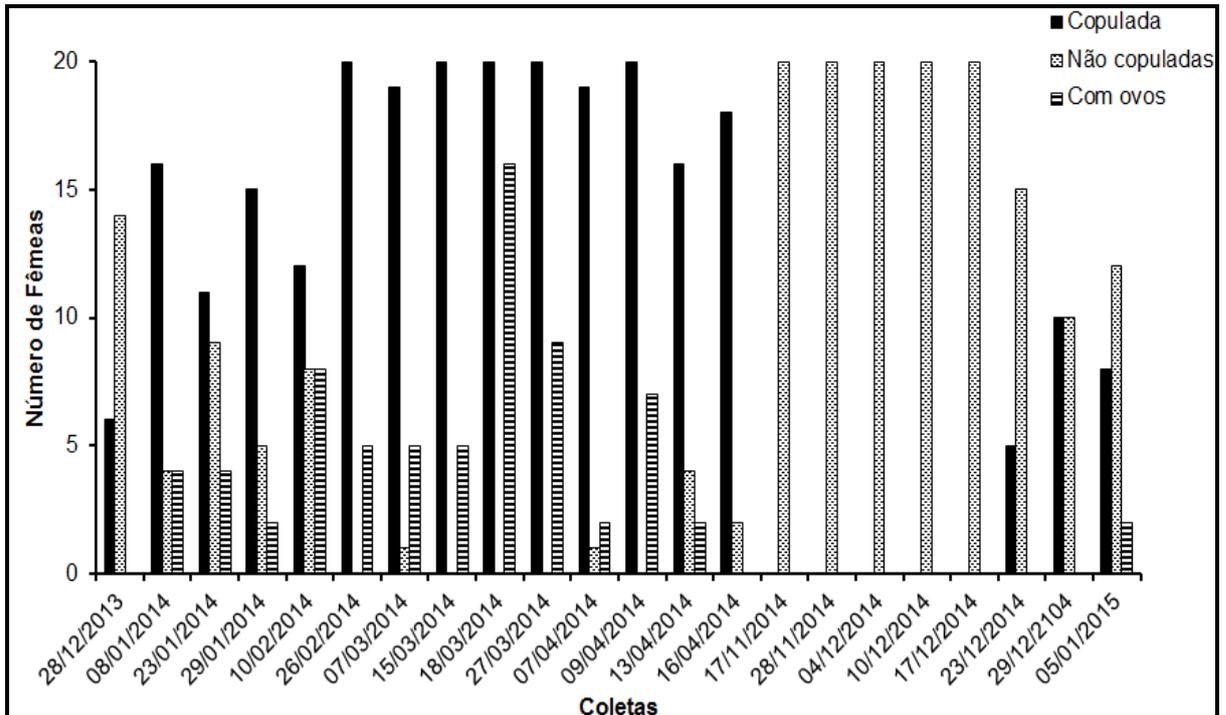
Local da coleta	Data	Número de fêmeas	Número de Machos	Razão Sexual*
TGA	25/03/14	201	35	0,85
TGA	31/03/14	323	68	0,82
SJRC	31/03/14	115	32	0,78
CNP	02/04/14	117	27	0,81
CNP	02/04/14	573	71	0,88
SJRC	02/04/14	69	23	0,75
IN	21/04/14	231	30	0,88
SJRC	25/04/14	119	08	0,93
SAP	11/02/15	960	42	0,96
CNP	13/02/15	320	18	0,94
TGA	16/02/15	367	27	0,93
DIA	06/03/15	440	68	0,87
CNP	16/03/15	198	13	0,94
TGA	17/03/15	210	58	0,78
TGA	17/03/15	90	23	0,80

\* RS= número de fêmeas/número de fêmeas + número de machos.

As fêmeas das revoadas que foram dissecadas em 2014, estavam todas copuladas, confirmado pela presença de espermatozóides na espermateca das mesmas. No entanto, não foi registrada a presença de ovos formados nos ovariolos destas fêmeas. No ano seguinte 2015, 98% das fêmeas estavam copuladas e 5,1% apresentavam óvulos em formação nos ovariolos.

A finalidade da revoada para *S. castanea* ainda não está definida, mas os resultados indicam que a revoada ocorre após a cópula, fato inferido para *S. divergens* (Willis & Roth 1962) no entanto não foi realizada a dissecação das fêmeas para confirmação.

Constatou-se o maior número de fêmeas copuladas no período de fevereiro a abril/2014 (Figura 1), coincidindo com as observações de campo, onde verificou-se uma grande quantidade de casais copulando no interior do solo, nas raízes de plantas daninhas do gênero *Cynodon* (pé de galinha) e também no laboratório, durante a triagem dos insetos.



**Figura 1.** Número de fêmeas copuladas e fêmeas com ovos nos períodos de coleta.

**Figure 1.** Number of copulated females and females with eggs in the collection periods.

As fêmeas copuladas totalizaram 74% nas coletas realizadas, destas 28% estavam com ovos formados nos ovários, e 26% não estavam copuladas. Verificou-se que em quase todo o período das coletas em 2014 as fêmeas estavam copuladas, fato confirmado pela presença de espermatozoides na espermateca, e ovos nos ovários, principalmente no mês de março. Nas coletas realizadas no mês de novembro de 2015, não haviam fêmeas copuladas e com ovos, provavelmente neste período os insetos não estavam sexualmente maduros. No fim de dezembro as fêmeas já apresentavam maturidade sexual, pois foi observado cópula de insetos no campo.

O número de ovos formados nos ovários das fêmeas variou entre um e quinze, com média de 4,92 ovos por fêmea. Os ovos de *S. castanea* encontrados possuíam formato oval cor branca amarelada e córion com superfície lisa, semelhante ao descrito para *S. carvalhoi* e *Melanaethus crenatus* Signoret, 1883 (Cervantes et al. 2013, Vivan et al. 2013).

Nas revoadas houve predominância de fêmeas de *S. castanea*, e estas apresentavam-se copuladas, com ovário pouco desenvolvido. Nas fêmeas coletadas no solo os ovários apresentavam-se desenvolvidos com presença de ovos, indicando provavelmente a maturidade sexual dos indivíduos estabelecidos no solo.

#### 4. Agradecimentos

Ao Dr. Cristiano F. Schwertner (UNIFESP) pela identificação dos insetos. À Associação de Produtores de Soja e Milho (APROSOJA) do estado de Mato Grosso pela concessão da bolsa, a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Mato Grosso (FAPEMAT) pelo financiamento do projeto, a Fazenda Chapada e o Grupo ABC Agrícola por disponibilizar a área para as coletas de percevejos.

#### 5. Referências Bibliográficas

CERVANTES, L., MAYORGA, C. & ORTEGA, M.L. 2013. Description of Immature Stages of *Melanaethus crenatus* (Hemiptera: Heteroptera: Cydnidae: Cydninae: Geotomini), with notes on oviposition, Seed-Carrying and Feeding Behaviors. Fla. Entomol. 96(4):1434-1441.

CORRÊA-FERREIRA, B.S. & PANIZZI, A.R. 1999. Percevejos da soja e seu manejo. Embrapa, Londrina. 45p. (Circular Técnica, 24).

FERNANDES, P.M., OLIVEIRA, L.J., SOUZA, C.R., CZEPAK, C. & BARROS, R.G. 2004. Percevejos Castanhos. In: Pragas de solo no Brasil (SALVADORI, J.R., ÁVILA, C.J.; SILVA, M.T.B., ed.). Embrapa: Passo Fundo, p. 479-89.

KARAKAYA, G., OZYURT, N., CADAN, S. & SULUDERE, Z. 2012. Structure of the male reproductive system in *Coreus marginatus* (L.) (Hemiptera: Coreidae). Türk. Entomol. Derg. 36(2):193-204.

LIS, J.A. 2003. Ovaries and lateral oviducts of the female internal reproductive system in five species of burrower bugs (Hemiptera: Heteroptera: Cydnidae). Pol. J. Entomol. 72(4):305-312.

NARDI, C. 2005. Percevejos castanhos (Hemíptera, Cydnidae, Scaptocoris): aspectos morfológicos, ecológicos e comportamentais. Dissertação de mestrado, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, São Paulo.

NARDI, C., FERNANDES, P.M., ROBRIGUES, O.D. & BENTO, J.M.S. 2007. Flutuação populacional e distribuição vertical de *Scaptocoris carvalhoi* Becker (Hemiptera: Cydnidae) em Área de pastagem. Neotrop. Entomol. 36(1):107-111.

OLIVEIRA, L.J. & MALAGUIDO, A.B. 2004. Flutuação e distribuição da população do percevejo castanho da raiz, *Scaptocoris castanea* Perty (Hemiptera:Cydnidae) no solo em regiões produtoras de soja. Neotro. Entomol. 33(3):283-291.

OLIVEIRA, L.J., MALAGUIDO, A.B., NUNES JUNIOR, J., CORSO, I.C., DE ANGELIS, S., FARIA, L.C. de., HOFFMANN-CAMPO, C.B. & LANTMANN, A.F. 2000. Percevejo-castanho-da-raiz em sistema de produção de soja. Embrapa Soja, Londrina, 44 p. (Circular Técnica, 28).

OZYURT, N., CADAN, S., SULUDERE, Z. & AMUTKAN. 2013. Morphology and histology of the male reproductive system in *Graphosoma lineatum* (Heteroptera: Pentatomidae) based on optical and scanning electron microscopy. J. Entomol. Zool. Stud. 1(4):40-46.

PLUOT-SIGWALT, D. & LIS, J.A. 2008. Morphology of the spermatheca in the Cydnidae (Hemiptera: Heteroptera): Bearing of its diversity on classification and phylogeny. Eur. J. Entomol. 105:279-312.

SALES JR,O & MEDEIROS, M.O. 2001. Percevejo castanho da raiz em pastagens. In. Reunião Sul-Brasileira sobre pragas de solo. Embrapa soja, Londrina, 329 p.

SOUSA, C.R. Composição populacional e mobilidade no solo do percevejo castanho *Atarsocoris brachiariae* (Hemiptera:Cydnidae). 2002. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

SOTO, A., OLIVEIRA, H.G. & BACCA, T. 2012. Morfología e histología del aparato Reprodutor de *Supputius cincticeps* (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae); Morphology and histology of the reproductive system of *Supputius cincticeps* (Hemiptera:Heteroptera: Pentatomidae). U.D.C.A Act & Div. Cient. 15(1):117-123.

VIVAN, L.M., NARDI, C., GRAZIA, J. & BENTO, J.M. 2013. Description of the Immatures of *Scaptocoris carvalhoi* Becker (Hemiptera: Cydnidae). Neotro. Entomol..42(3):288-292.

WILLIS, E.R & ROTH, L.M. 1962. Soil and moisture relations of *Scaptocoris divergens* Froescher (Hemiptera: Cydnidae). Ann. Entomol. Soc. Am., Gainesville, 55(1):21-33.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os compostos elucidados para *S. castanea* caracterizam-se como substâncias defensivas que podem auxiliar em estudos posteriores, visando à identificação de novos compostos feromonais para a espécie.

A maioria das fêmeas coletadas nas revoadas estavam copuladas e apresentavam ovário pouco desenvolvido. As fêmeas coletadas em solo apresentavam ovário desenvolvido com presença de ovos formados, indicando a maturidade sexual destas.

Os resultados obtidos nesta pesquisa são relevantes, pois contribuíram para o conhecimento do comportamento e reprodução de *S. castanea*.