PERFIL QUÍMICO DOS COMPOSTOS ORGÂNICOS PRESENTES NA CUTÍCULA DE MACHOS E FÊMEAS DA ESPÉCIE *Pachycoris torridus* (Scopoli, 1772) (Hemiptera: Scutelleridae) SUBMETIDOS OU NÃO A PROCEDIMENTO ANESTÉSICO E EM DIFERENTES TEMPOS

CHEMICAL PROFILE OF ORGANIC COMPOUNDS PRESENTED IN THE CUTTLE OF MALES AND FEMALES OF THE SPECIES *Pachycoris torridus* (SCOPOLI, 1772) (Hemiptera: Scutelleridae) SUBMITTED OR NOT ANESTHETIC PROCEDURE AND IN DIFFERENT TIMES

FERREIRA, Andréa Marques Vanderlei^{1*}; PIRES, Edjane Vieira²; ENDRES, Laurício³; FREGADOLLI, Fábio Luiz⁴; SANTANA, Antônio Euzébio Goulart⁵

^{1,3,4,5} Universidade Federal de Alagoas, Faculdade de Medicina

^{3,4,5} Universidade Federal de Alagoas, Centro de Ciências Agrárias

² Universidade Estadual de Alagoas, Departamento de Química

* Autor correspondente
e-mail: edjanevp@gmail.com

Received 09 June 2019; received in revised form 30 July 2019; accepted 02 August 2019

RESUMO

Pachycoris torridus (Scopoli, 1772) (Hemiptera: Scutelleridae) é a principal praga da espécie *Jatropha curcas* (Linnaeus) (Euphorbiaceae). O estudo dos compostos cuticulares dessa praga é uma alternativa para a compreensão de sua comunicação química intraespecífica na tentativa de desenvolver métodos para seu controle comportamental. O presente trabalho visa detectar as variações do perfil químico dos compostos orgânicos presentes na cutícula de *P. torridus* em diferentes tempos e métodos de extração. Um adulto de cada gênero da espécie *P. torridus*, com comportamento normal e padrão cromático básico, foi imerso, separadamente, em vial de vidro (10 mL) contendo 2mL de Hexano grau HPLC bidestilado, durante 10 segundos (com/sem anestesia prévia) e 10 minutos (com/sem anestesia prévia), sendo quatro repetições para cada tratamento. Passado esse tempo o extrato foi recolhido e acondicionado em vial de 1,5 mL em freezer - 20°C. Aliquotas de 1µl dos extratos (n=32) foram analisadas em cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de massas (CG-EM). A avaliação química foi centrada nas concentrações dos compostos voláteis ((E)-2-Hexenal, (E)-4-(oxo)-2-Hexenal, Acetato de (E)-2-hexenila, (E)-2-Octenal, Undecano, Dodecano, 1-Tridecano, Desconhecido, Tridecano, Acetato de (Z,Z)-2,7-octadien1-ol, Tetradecano, e Tetradecanal) identificados nos extratos. Por fim, o perfil químico cuticular dos compostos majoritários ((E)-2-Hexenal, Tridecano e (E)-4-(oxo)-2-Hexenal) de machos e fêmeas da espécie *P. torridus* foi o mesmo. Quanto ao protocolo de elaboração dos extratos, recomenda-se utilizar a imersão do corpo todo do inseto nos dois tempos (10 segundos e 10 minutos) sem procedimento anestésico, a fim de ampliar a detecção de compostos.

Palavras-chave: Percevejo do pinhão-mansão; Compostos cuticulares; Glândulas abdominais dorsais; Espectrometria de massa.

ABSTRACT

Pachycoris torridus (Scopoli, 1772) (Hemiptera: Scutelleridae) is the main pest of the *Jatropha curcas* (Linnaeus) (Euphorbiaceae) specie. The study of cuticular compounds of this pest is an alternative for understanding their intraspecific chemical communication in an attempt to develop methods to their behavioral control. This study has as objective to detect variations of the chemical profile of organic compounds contained in the cuticle of *P. torridus* at different times and extraction method. An adult of each genus of the *P. torridus* specie, with normal behavior and basic chromatic patterns, was immersed separately in a glass vial (10mL) containing 2mL of HPLC grade hexane bidestilado for 10 seconds (with/without previous anesthesia) and 10 minutes (with/without previous anesthesia), with four replications per treatment. After this time, the extract was gathered and placed in a 1.5mL vial and then in a freezer at -20°C. 1µl aliquots of the extracts (n=32) were analyzed in a gas chromatograph coupled to a mass spectrometry (GC-MS). The chemical evaluation was

focused on the concentrations of the volatile compounds [(*E*)-2-hexenal (*E*)-4-(*oxo*)-2-hexenal, (*E*)-2-hexenil acetate, (*E*)-2-Octenal, undecane, dodecane, 1-tridecene, unknown, tridecane, (*Z,Z*)-2,7-octadien1-ol acetate, Tetradecane and Tetradecanal] identified in the extracts. Finally, the cuticular chemical profiles of the major compounds [(*E*)-2-Hexenal, Tridecane and (*E*)-4-(*oxo*)-2-Hexenal] of males and females of the *P. torridus* specie was the same. As to preparation of extracts protocol, it is recommended to use the immersion of the entire body of the insect at both times (10 seconds and 10 minutes) without anesthesia, in order to enlarge the detection of compounds.

Keywords: Bug of the *Jatropha*; Cuticular compounds; Dorsal abdominal glands; Mass spectrometry.

1. INTRODUÇÃO

O pinhão-mansão, *Jatropha curcas* (Linnaeus) (Euphorbiaceae), apresenta ampla distribuição geográfica, seu cultivo percorre países do ocidente e oriente. Por ser uma cultura perene, de fácil manejo e possuir alto conteúdo de óleo com baixo custo de produção é considerada uma espécie altamente promissora como fonte energética renovável sob o ponto de vista econômico e social (SATURNINO et al., 2005). Mas, sua produção de óleo pode ser comprometida pelas injúrias causadas pelo percevejo fitófago *Pachycoris torridus* (Scopoli, 1772) (Hemiptera: Scutelleridae), principal praga dessa cultura (RODRIGUES et al., 2011).

Neste estudo foi possível perceber que a espécie *P. torridus* quando manipulada, mesmo cuidadosamente, libera compostos de defesa, perceptível pelo odor característico de percevejo, porém mais suave. E durante a execução do procedimento de anestesia, esses insetos mostram-se mais agitados, como consequência do stress causado pelo procedimento anestésico, antes da elaboração dos extratos, levando acreditar que ocorre aumento na liberação dos compostos defensivos (CABRINI I, 2013; CHOE et al., 2016).

Considerando a escassez de informações a respeito da caracterização química dos compostos voláteis produzidos por *P. torridus*, se faz necessário estudos que visem estabelecer um protocolo de elaboração de extratos voláteis de *P. torridus*, que sejam seguros, precisos e eficazes. Além disso, algumas variáveis, como o tempo de extração, presença e ausência da anestesia antes da preparação dos extratos são importantes. Uma vez estabelecido o perfil químico geral dos compostos cuticulares desta espécie, estudos posteriores podem ser adaptados para outros percevejos, quando a metodologia de coleta dos compostos voláteis por aeração for inviável pela liberação excessiva de compostos de defesa, de forma a dificultar a busca da composição feromonal sexual e/ou de agregação. Vale ressaltar que, a identificação

dos compostos cuticulares do *P. torridus* é o primeiro passo para elucidar a comunicação química intraespecífica na tentativa de desenvolver métodos para seu controle comportamental.

Portanto o objetivo deste trabalho foi avaliar as variações no perfil químico dos compostos orgânicos voláteis presentes na cutícula de *P. torridus* em diferentes tempo e método de extração para elaboração de protocolo de extração de compostos cuticulares.

2. DESENVOLVIMENTO

Os experimentos foram conduzidos em Laboratório, com temperatura de 25 ± 2 °C e umidade relativa de $70 \pm 5\%$. Os percevejos da espécie *Pachycoris torridus* utilizados no presente trabalho eram adultos com 50 dias de idade e foram obtidos em Insetário.

2.1. Preparação dos extratos

Adultos macho e fêmea da espécie *Pachycoris torridus* (Figura 1), com comportamento normal e padrão cromático básico, foram imersos, separadamente, em vial de vidro (10 mL) contendo 2mL de Hexano grau HPLC bidestilado, durante 10 segundos (com/sem anestesia prévia) e 10 minutos (com/sem anestesia prévia), sendo quatro repetições para cada tratamento. Passado esse tempo o extrato foi recolhido e acondicionado em vial de 1,5 mL em freezer -20°C.

Figura 1 – Agregação de indivíduos de *Pachycoris torridus* (Hemiptera: Scutelleridae).

Fonte: Santos et al., 2005

2.2. Análise química dos extratos

2.1.1 Cromatografia gasosa com Detector por Ionização em Chama (DIC)

Alíquotas de 1 µL dos extratos (n=32) foram analisadas em Cromatógrafo a Gás (CG), modelo Shimadzu QP-2010, equipado com Detector por Ionização em Chama (DIC), contendo coluna capilar RTX-1 (0,25mm x 30m). O CG foi operado em modo *splitless* (250°C), com programação de temperatura de 50°C por 1 minuto, aumentando 7°C/min até 250°C e permanecendo nessa temperatura por 10 minutos. Nitrogênio foi usado como gás de arraste, com fluxo de 1 mL/min. O índice de retenção de Kovats foi calculado utilizando-se padrões de hidrocarbonetos (C7 – C30). A quantificação foi realizada a partir da coinjeção de 1 µL de 2-Nonadecanona (padrão interno) na concentração de 150 ppm com 1 µL do extrato. Foram aplicadas as fórmulas abaixo, onde $C(X)$ é a concentração da amostra e $C(P)$ a concentração do padrão interno, $A(X)$ é a área da amostra e $A(P)$ a área do padrão interno.

$$C(X)/C(P)=A(X)/A(P) \quad (\text{Eq. 1})$$

$$C(X)=C(P)*A(X)/A(P) \quad (\text{Eq. 2})$$

2.1.2 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-EM)

Alíquotas de 1 µL dos extratos (n=32) foram analisadas em Cromatógrafo a Gás acoplado ao Espectrômetro de Massas (CG-EM), modelo Shimadzu QP-2010 Ultra, com ionização por impacto de elétrons (70 eV) contendo coluna capilar RTX-1 (0,25mm x 60m). As condições de análises foram iguais às utilizadas nas análises de CG/DIC, com exceção do modo que foi operado no split e a linha de transferência operou a 270°C.

2.3. Delineamento e análise estatística

Para análise do perfil químico dos compostos orgânicos cuticulares foi realizado um Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), com 4 repetições no esquema fatorial (4 x 2): Fator 1 – Métodos de extração da cutícula: A – corpo todo do inseto imerso durante 10 segundos em Hexano sem anestesia previa, B - corpo todo do inseto imerso durante 10 segundos em Hexano com anestesia previa, C - corpo todo do inseto imerso durante 10 minutos em Hexano sem anestesia previa e D - corpo todo do inseto imerso durante 10 minutos em Hexano com anestesia previa; Fator 2 – Gênero: Macho e Fêmea. Foram avaliados os compostos

identificados: A₁ ((E)-2-Hexenal), A₂ ((E)-4-(oxo)-2-Hexenal), A₃ (Acetato de (E)-2-hexenila), A₄ ((E)-2-Octenal), A₅ (Undecano), A₆ (Dodecano), A₇ (1-Trideceno), A₈ (Desconhecido), A₉ (Tridecano), A₁₀ (Acetato de (Z,Z)-2,7-octadien1-ol), A₁₁ (Tetradecano), e A₁₂ (Tetradecanal), que correspondem as concentrações (em ppm) dos compostos químicos orgânicos presentes nos extratos, os quais foram transformados em porcentagens, em seguida em arco seno $\sqrt{X(\%)}$. Na comparação de médias do Fator 1, quando a interação foi não significativa, aplicou-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Enquanto que no Fator 2, nesse mesmo tipo de interação, aplicou-se o teste F a 5% de probabilidade, bem como nas médias do Fator 2 dentro de cada nível do Fator 1 (quando a interação foi significativa), segundo recomendação de Ferreira (2000). O software utilizado foi Sisvar - versão 5.4 (FERREIRA, 2003).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO:

A avaliação química foi centrada nas concentrações dos compostos voláteis ((E)-2-Hexenal, (E)-4-(oxo)-2-Hexenal, Acetato de (E)-2-hexenila, (E)-2-Octenal, Undecano, Dodecano, 1-Trideceno, Desconhecido, Tridecano, Acetato de (Z,Z)-2,7-octadien1-ol, Tetradecano, e Tetradecanal) identificados nos extratos obtidos do corpo todo do percevejo adulto (macho e fêmea) da espécie *Pachycoris torridus* imerso em Hexano durante 10 segundos com/sem anestesia previa e 10 minutos com/sem anestesia previa.

Os resultados da análise de variância dos efeitos dos métodos de extração da cutícula e do gênero de *P. torridus* em relação às concentrações dos compostos químicos orgânicos presentes nos extratos encontram-se na Tabela 1. Quanto ao Fator 1 (métodos de extração da cutícula), houve diferença significativa pelo test F, à nível de 5% de probabilidade, para as variáveis: (E)-2-Hexenal; (E)-2-Octenal; Undecano; Dodecano; Desconhecido; Tridecano; Tetradecano e Tetradecanal. Com relação ao Fator 2 (gênero), houve diferença significativa pelo test F apenas para a variável (E)-2-Hexenal. Por outro lado, não houve diferença significativa pelo test F, ao nível de 5% de probabilidade para a interação entre os Fatores (1 e 2), indicando que as concentrações dos compostos químicos orgânicos presentes nos extratos do Fator 1 (métodos de extração da cutícula de adultos machos e fêmeas) independem do Fator 2

(gênero).

A comparação das médias, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, do efeito de métodos de extração da cutícula de *P. torridus* em relação às concentrações dos compostos químicos orgânicos presentes nos extratos, encontra-se na Tabela 2. Segue a relação dos compostos voláteis que apresentaram concentrações maiores nos extratos preparados com o corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 segundos com anestesia prévia, divergindo significativamente entre os métodos de extração da cutícula do inseto: (E)-2-Hexenal, Dodecano e Tridecano.

Os componentes químicos Undecano e Desconhecido possuíram concentrações maiores nos extratos elaborados com corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 minutos com/sem anestesia prévia, as quais não diferiram entre si. Apesar de que o mesmo composto não diferiu dos extratos preparados com o corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 segundos sem anestesia prévia e esse método de extração não diferiu dos extratos que continham o corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 segundos com anestesia prévia.

O aldeído (E)-2-Octenal apresentou concentração maior nos extratos elaborados com corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 segundos com anestesia prévia. Entretanto não divergiu dos extratos elaborados com o corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 segundos sem anestesia prévia, apesar de esse não ter divergido dos demais extratos. As concentrações do hidrocarboneto Tetradecano foram maiores nos extratos do corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 minutos com/sem anestesia prévia diferindo dos demais extratos.

O composto volátil Tetradecanal possuiu maior concentração nos extratos elaborados com o corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 minutos sem anestesia prévia, o qual não divergiu dos extratos preparados com o corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 minutos com anestesia prévia, esse último apesar de apresentar maior concentração não divergiu dos extratos preparados com o corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 segundos sem anestesia prévia.

Quanto ao composto químico Acetato de (E)-2-hexenila não houve diferença entre si, esse éster acetato só foi detectado nos extratos do corpo todo do inseto imerso em Hexano durante

10 minutos sem anestesia prévia em baixas concentrações. Nos extratos preparados com o corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 segundos com anestesia prévia não foi identificado nenhum composto químico.

As médias do efeito de gênero de *P. torridus* em relação às concentrações dos compostos químicos orgânicos presentes nos extratos (Tabela 3), quando comparadas, diferiram entre si pelo teste F a 5% de probabilidade apenas no composto químico (E)-2-Hexenal, onde as fêmeas apresentaram maiores concentrações. O éster Acetato de (E)-2-hexenila estava ausente nos extratos dos machos.

Na Tabela 4, encontram-se os resultados da análise de variância do efeito do gênero dentro de métodos de extração da cutícula de *P. torridus* em relação às concentrações dos compostos químicos orgânicos presentes nos extratos. Houve diferença significativa pelo teste F, no nível de 1% de probabilidade, entre o gênero, nos extratos elaborados com corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 segundos sem anestesia prévia e 10 minutos com anestesia prévia, apenas na concentração de (E)-4-(oxo)-2-Hexenal. Entretanto, não houve diferença significativa pelo teste F, no nível de 5% de probabilidade, entre o gênero, na concentração desse mesmo composto volátil nos extratos preparados com corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 segundos com anestesia prévia e 10 minutos sem anestesia prévia. Houve diferença significativa pelo teste F, no nível de 1% de probabilidade, entre o gênero, nas concentrações de Tridecano e Acetato de (Z,Z)-2,7-octadien-1-ol detectados em extratos elaborados com corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 minutos com anestesia prévia. Ao passo que, não houve diferença significativa pelo teste F, no nível de 5% de probabilidade, entre o gênero, na concentração desses últimos compostos voláteis nos extratos preparados com corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 segundos com/sem anestesia prévia e corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 minutos sem anestesia prévia.

A comparação das médias, pelo teste F a 5% de probabilidade, do efeito do gênero dentro de métodos de extração da cutícula de *P. torridus* em relação às concentrações dos compostos químicos orgânicos presentes nos extratos, encontra-se na Tabela 5. Com relação ao composto (E)-4-(oxo)-2-Hexenal, houve diferença significativa apenas para as concentrações dos extratos obtidos do corpo

todo do inseto imerso em Hexano durante 10 segundos sem anestesia prévia e 10 minutos com anestesia prévia, onde as concentrações desse composto volátil nos extratos dos machos com corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 segundos sem anestesia prévia foram maiores que nos extratos das fêmeas. Enquanto que, nos extratos preparados com corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 minutos com anestesia prévia as fêmeas obtiveram maiores concentrações. Os compostos químicos Tridecano e Acetato de (Z,Z)-2,7-octadien-1-ol diferiram significativamente nas concentrações dos extratos obtidos do corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 minutos com anestesia prévia, uma vez que foram identificados apenas nos extratos dos machos. Ambos os compostos não estavam presentes em extratos elaborados com corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 segundos com anestesia prévia.

A distribuição das porcentagens das médias das concentrações dos compostos químicos orgânicos dos métodos de extração da cutícula de *P. torridus* de acordo com o gênero, encontra-se na Tabela 6.

Todas as estruturas químicas dos compostos identificados nos extratos analisados, no presente trabalho, encontram-se na Figura 2. Cabe lembrar que, o composto A₈ não consta na figura pelo fato de ser desconhecido.

Figura 2 – Estruturas químicas dos compostos identificados nos extratos. Legenda: A1: (E)-2-Hexenal; A2: (E)-4-(oxo)-2-Hexenal; A3: Acetato de (E)-2-hexenila; A4: (E)-2-Octenal; A5: Undecano; A6: Dodecano; A7: 1-Trideceno; A9: Tridecano; A10 (Acetato de (Z,Z)-2,7-octadien-1-ol; A11: Tetradecano e A12: Tetradecanal. Métodos de extração: A – corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 segundos sem anestesia prévia; B - corpo todo do

inseto imerso em Hexano durante 10 segundos com anestesia prévia; C - corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 minutos sem anestesia prévia; D - corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 minutos com anestesia prévia. **Fonte:** Autores, 2019.

Os tempos de retenção dos compostos identificados encontram-se na Tabela 7

Os componentes voláteis majoritários, de *Pachycoris stallii* (Uhler, 1863) (Hemiptera: Scutelleridae), identificados por Williams, Evans e Bowers (2001), obtidos das secreções das glândulas metatorácicas (em adultos) foram os mesmos compostos principais de *P. torridus* apresentados no presente estudo. Em fêmeas sem posturas da espécie *P. stallii*, no reservatório mediano da glândula metatorácica a distribuição dos componentes identificados foi: Tridecano (63%), (E)-2-Hexenal (31%) e (E)-4-(oxo)-2-Hexenal (4%). Enquanto que, a distribuição dos compostos detectados nos machos da mesma espécie correspondeu a: 77% de Tridecano, 18 % de (E)-2-Hexenal e 3% de (E)-4-(oxo)-2-Hexenal. Contudo nos reservatórios laterais dos tubos secretores das glândulas metatorácicas cada sexo se restringiu a um composto, ou seja, as fêmeas apresentaram 100% de (E)-2-Hexenal e os machos 100% de Tridecano.

Esta diferença é possível, isto porque as pragas *Pachycoris torridus* e *Pachycoris stallii* não correspondem à mesma espécie, seus extratos foram obtidos de partes diferentes (a primeira todo o corpo e a segunda dos reservatórios das glândulas metatorácicas), o reagente extrator também foi diferente (na primeira espécie Hexano e na segunda espécie Acetato de etila), foram obtidas de localidades diferentes (na primeira espécie Alagoas, Brasil e a segunda espécie Baja California, Mexico), hospedeiras de plantas diferentes (na primeira espécie *Jatropha curcas* e na segunda espécie *Croton californicus*), apesar das culturas pertencerem à mesma família Euforbiaceae.

Na literatura há trabalhos que caracterizam substâncias cuticulares de insetos sociais (abelhas, formigas e vespas) e mosquitos. Entretanto, não foi observado esse tipo de avaliação em percevejos. Sabe-se que as substâncias cuticulares desempenham um papel importante na vida social dos insetos, com sinais e pistas químicas, além da resistência a dessecação (KROISS; SVATOŠ; KALTENPOTH, 2011). Como os percevejos não são insetos sociais há um desinteresse em estudar seus compostos cuticulares. No entanto, as substâncias cuticulares podem atuar também como: moduladoras, provocando mudanças

imediatas e reversíveis no comportamento de outro organismo, e desencadeadoras agindo em longo prazo no reconhecimento de indivíduos da mesma espécie e na distinção de indivíduos intrusos (WILSON, 1963; BREED 1983, SINGER et al., 1998, BLOMQUIST et al., 1998, NUNES, 2008).

Caputo et al. (2005) identificaram 48 hidrocarbonetos cuticulares do vetor da malária *Anopheles gambiae* (Giles, 1902) (Diptera: Culicidae) e avaliou as mudanças relacionadas ao dimorfismo sexual e idade, as quais mostraram ser indiferentes na análise qualitativa, no entanto apresentou diferenças quantitativas nos perfis de hidrocarbonetos de machos e fêmeas e nas faixas etárias, sendo as variações entre os sexos mais acentuada em indivíduos com idade entre 0-2 dias do que nos mais velhos. Para Polerstock et al. (2002) as diferenças nos perfis dos hidrocarbonetos ocorrerem após o acasalamento ao investigar fêmeas virgens.

Schwander et al. (2013) ao estudarem a divergência de Hidrocarbonetos e reprodução de nove espécies do gênero *Timema* (Ordem: Phasmida), popularmente conhecido como bicho-pau, perceberam que os perfis de hidrocarbonetos cuticulares variaram entre as espécies e populações, e que a mudança mais evolutiva em perfis de hidrocarbonetos ocorreram em associação com eventos de especiação (processo evolutivo pelo qual as espécies vivas se formam). Semelhanças nos perfis de hidrocarbonetos entre as espécies estão correlacionados com propensões de acasalamento interespecíficos, sugerindo que os perfis de hidrocarbonetos cuticulares representam um papel na escolha do companheiro e especiação do gênero *Timema*.

Para Buellesbach et al. (2013) a evolução e manutenção de canais de comunicação intraespecíficas constitui um elemento-chave na sinalização química e comunicação sexual, pois nem sempre a mensagem química enviada pelo remetente é compreendida pelo destinatário. O mesmo grupo de pesquisa observou divergência química em hidrocarbonetos cuticulares entre machos e fêmeas de quatro espécies de vespas, a saber: *Nasonia vitripennis* (Walker, 1836) (Hymenoptera: Pteromalidae), *Nasonia longicornis* (Darling, 1990) (Hymenoptera: Pteromalidae), *Nasonia giraulti* (Breeuwer & Werren, 1990) (Hymenoptera: Pteromalidae), *Nasonia Oneida* (Darling and Werren 1990) (Hymenoptera: Pteromalidae) e concluiu que os perfis das fêmeas foram os que mais divergiram,

como causa de uma extensa mudança evolutiva.

A cutícula é uma camada de material secretada pelas células epidérmicas, que delimita a superfície externa do corpo formando o exoesqueleto, após solidificação (esclerotização) (GALLO, 2002). Tal camada é fina e impermeável (cera), sendo constituída por lipídios, uma mistura de hidrocarbonetos, composta de alcanos e alcenos, lineares e ramificados, de cadeias saturadas e insaturadas com variação de 21 a 70 carbonos. Devido a sua composição química e estrutura funciona como barreira de proteção contra a desidratação e invasão de microrganismo (alguns fungos e nematoides conseguem ultrapassar esta barreira e atingir a hemocela (cavidade do corpo), mas logo são impedidos pelas proteínas, difenóis, carboidratos, melanina, quitina e outros) (DUNN, 1998), regulação da permeabilidade cuticular e realização de movimentos ao atuarem nas articulações (LOCKEY, 1988; FERREIRA, 2012).

Com a evolução dos insetos, surgiu, a função secundária dos hidrocarbonetos, conhecida como feromonal, responsável pela comunicação química, intra e interespecífica, por meio de feromônios superficiais (HOWARD; BLOMQUIST, 2005), durante breves contatos físicos, os quais realizam um papel significativo no reconhecimento dos indivíduos geneticamente relacionados (BREED; BENNETT, 1987; SINGER et al., 1998 JUNGNIKEL et al., 2004). Feromônio é uma mistura de multicomponentes, secretada pelos animais e emitida ao meio ambiente, que gera um alto potencial de especificidade às mensagens (SILVERSTEIN; YOUNG, 1976; HÖLLDOBLER; CARLIN, 1987) e funciona como gatilhos fisiológicos de reações comportamentais específicas (PAIVA; PEDROSA-MACEBO, 1985), sendo classificado de acordo com o comportamento que exerce num indivíduo receptor (FERREIRA, 2012).

Os compostos cuticulares são menos voláteis e, em alguns casos, apresentam alto peso molecular, sendo uma mistura muito complexa de uma variedade de compostos altamente específicos, retidos na superfície do corpo e detectados por quimiorreceptores (SANTOS, 2013), na maioria dos casos presentes na antena. Em algumas espécies de insetos, o processo de comunicação se faz principalmente por meio destes hidrocarbonetos de superfície (BREED; BENNETT, 1987, BLOMQUIST et al., 1998, SINGER; ESPELIE; GAMBOA, 1998, HOWARD; BLOMQUIST, 2005, LE CONTE; HEFETZ, 2008, NUNES, 2009, TANNURE-NASCIMENTO; NASCIMENTO;

ZUCCHI, 2008; TANNURE-NASCIMENTO et al., 2009).

As diferentes combinações qualitativas e quantitativas, destes compostos, dependem da espécie, idade, ou sexo dos insetos (GAMBOA et al., 1986; BLOMQUIST et al., 1998, MONNIN; PEETERS, 1999; SLEDGE et al., 2001; BOOMSMA et al., 2003; ABDALLA et al., 2003), de forma que o perfil químico corresponde uma assinatura química individual, de origem endógena e exógena (CARLIN, 1988, revisado por LORENZI; BAGNÈRES; CLÉMENT, 1996), ou seja, os recém emergidos serão influenciados ao longo do tempo pelo contato destes com material do ninho onde se encontram.

Os compostos cuticulares de percevejos adultos são oriundos dos resquícios das glândulas abdominais, presentes nos estádios iniciais de *P. torridus*, sendo liberadas a cada ecdise nas chamadas exúvias, as quais são descartadas a cada muda, que quando o percevejo atinge a maturidade (fase adulta), tais glândulas são substituídas pela glândula metatorácica (COSTA LIMA, 1940). O mecanismo de muda se estende ao longo do dorso do percevejo, por onde a cutícula se solta mais rapidamente (GALLO, 2002).

De acordo com Williams, Evans e Bowers (2001), as glândulas dorsais abdominais de *Pachycoris stallii* (mesmo gênero da espécie em estudo) só produzem apenas quantidades vestigiais de compostos voláteis, após análise de extratos elaborados a partir da: (1) imersão do corpo do inseto em acetato de etila, durante 3 min, e (2) imersão de glândulas abdominais dissecadas separadamente (anterior (urostenito III-IV), mediana (urostenito IV-V) e posterior (urostenito V-VI)).

Os achados apresentados no parágrafo anterior não condizem com a avaliação desse estudo, uma vez que foram identificados, no presente trabalho, três componentes voláteis em altas concentrações e nove em concentrações inferiores, nos extratos elaborados a partir da imersão do corpo do inseto em Hexano grau HPLC bidestilado, durante 10 segundos e 10 minutos, sendo submetidos ou não a procedimento anestésico (10 minutos no freezer a -20°C), antes da dissecação.

Quando se pretende extrair substâncias cuticulares de insetos, utiliza-se o método por imersão ou banhos do corpo todo do inseto em reagente extrator (Hexano grau HPLC), com tempo de extração reduzido para não obter compostos glandulares presentes em extruturas

internas, como os secretados por glândulas produtoras de compostos de defesa. O tempo geralmente utilizado em metodologias que visam à identificação desses compostos não ultrapassa 5 minutos. Nos percevejos, para extração das glândulas metatorácicas e dorsais, anestesiaramos previamente, por meio do contato com gás carbônico ou temperatura baixa (-20°C), antes da imersão dos mesmos no reagente extrator.

Na extração de hidrocarbonetos cuticulares de abelhas rainhas virgens e operárias da espécie *Melipona marginata* (Lepeletier, 1836) (Hymenoptera: Apinae) utilizou-se 500 mL de Hexano, durante 1 minuto (CALIMAN, 2008). Já em mosquitos da espécie *A. gambiae* foi usado 1 mL de Hexano, durante 5 minutos (CAPUTO, 2005).

Para Zarbin, Ferreira e Leal (1999), a metodologia de coleta de feromônios por meio da extração por solvente é mais prática e rápida, que a aeração. Entretanto, este método irá apresentar mais impurezas (hidrocarbonetos, ácidos graxos), a não ser que localize a glândula secretora do feromônio e elabore extrato apenas com essa região. De acordo com os mesmos autores, o procedimento típico de extração, se faz por meio da imersão dos insetos em solvente durante 5 minutos.

No presente estudo, com a espécie *P. torridus*, a presença de impurezas não afetaram as análises dos compostos, pois a linha de base dos cromatogramas se manteve retilínea, os picos dos compostos bem delimitados e o tempo de extração de 10 segundos para 10 minutos não contribuiu para o aparecimento de outras substâncias, dentre elas as consideradas impuras.

Marques et al. (2007) anestesiaram previamente os percevejos da espécie *Dichelops melacanthus*, numa corrente de CO₂ e mantiveram em freezer até o início da dissecação, para elaboração dos extratos, a fim de minimizar o estresse dos insetos evitando o esvaziamento das glândulas e a perda de material por volatilização. Entretanto, no presente trabalho, observou-se que não houve variação qualitativa nos compostos orgânicos identificados em extratos de percevejos que foram submetidos à anestesia em relação aos que não foram. As variações foram apenas quantitativas, levando a crer que os compostos produzidos pelas glândulas metatorácicas também são produzidos nas glândulas abdominais e que as respostas comportamentais de *P. torridus* estão envolvidas com as concentrações desses compostos.

Ao comparar, no presente estudo, o tempo de extração de 10 segundos e 10 minutos dos compostos identificados nos machos, observou-se que em ambos os casos os compostos foram os mesmos, com exceção do (*E*)-2-Octenal, que foi detectado apenas no tempo de 10 segundos. Esse fato chamou atenção, pois se esperava identificar mais compostos químicos à medida que o corpo todo do inseto ficasse mais tempo em contato com agente extrator, de modo a extrair não só os compostos cuticulares, mas os produzidos por estruturas anatômicas internas, como, por exemplo, o conteúdo das glândulas metatorácicas. Além disso, o Acetato de (*E*)-2-hexenila possuiu mais que o dobro da concentração em extratos elaborados com 10 segundos, apesar das concentrações dos demais compostos terem sido maiores nos extratos elaborados com 10 minutos de extração, fato esse já esperado.

Nas fêmeas, ao realizar a mesma comparação do parágrafo anterior, percebeu-se que o composto 1-Trideceno foi identificado no tempo de 10 segundos e o composto Acetato de (*E*)-2-hexenila foi detectado apenas no tempo de extração de 10 minutos, isso implica que o hidrocarboneto 1-Trideceno é característico da cutícula, enquanto que o Acetato de (*E*)-2-hexenila, não é um componente cuticular. Assim, como nos machos as concentrações foram maiores em todos os compostos submetidos a 10 minutos de extração, com exceção do Tridecano, que possuiu concentrações maiores em 10 segundos de extração, esse composto foi detectado em estudos preliminares nas aerações de machos e fêmeas.

A partir de uma análise dos compostos minoritários, identificados no presente trabalho, foi possível comparar quantitativamente à presença desses em outros seres vivos, no banco de dados de ecologia química (Pherobase), com a finalidade de mostrar também a importância dos mesmos. O hidrocarboneto Undecano foi identificado em 153 espécies de seres vivos, das quais, apenas, 10,46% espécies eram percevejos. Bioensaios comportamentais mostraram que a molécula se comportou em 62,09% das espécies como feromônio, 35,95% como alomônio, 1,31% como substância atrativa e 0,65% como caiomônio. O aldeído *E*-2-Octenal foi identificado em 76 espécies de organismos vivos, sendo 68,42% da subordem heteroptera. Maior parte, 44,74%, comportou-se como feromônio, seguidos de alomônio (38,16%), substância atrativa (9,21%) e

caiomônio (7,89%). O hidrocarboneto Dodecano foi identificado em 75 espécies de seres vivos, dentre as quais 37,33% das espécies eram heteropteros. A principal atividade comportamental identificada foi feromônio com 82,67%, em sequência o alomônio com 17,33%.

Em continuidade o semioquímico Tetradecono foi caracterizado em 60 espécies de seres vivos e somente 13,33% espécies eram percevejos. Em relação à atividade comportamental 93,33% se comportaram com feromônios e 6,67% alomônios. O Tetradeconal estava presente em 40 espécies de seres vivos. Apenas 10,00% das espécies que continham este composto eram da subordem Heteroptera. Quanto à atividade comportamental 80% das espécies que apresentaram este composto foram identificadas, por meio de bioensaios, como sendo feromônio; 17,5% alomônios e 2,5% substância atrativa. Apenas quatro espécies de percevejos possuíam este composto. O Acetato de (*E*)-2-hexenila foi encontrado em 28 espécies de seres vivos, das quais 89,29% das espécies pertenceram à subordem Heteroptera. O feromônio foi à atividade comportamental mais observada, seguida do alomônio com 25% e substância atrativa com 14,29%.

4. CONCLUSÕES:

O perfil químico cuticular dos compostos majoritários ((*E*)-2-Hexenal, Tridecano e (*E*)-4-(*oxo*)-2-Hexenal) de machos e fêmeas da espécie *Pachycoris torridus* foi o mesmo. As fêmeas apresentaram concentrações superiores desses componentes em relação aos machos, por serem maiores em tamanho e apresentarem quase o dobro do peso (rendimento por massa), consequentemente maiores glândulas abdominais dorsais. Houve pouca variação nos compostos minoritários (Acetato de (*E*)-2-hexenila, (*E*)-2-Octenal, Undecano, Dodecano, 1-Trideceno, Desconhecido, Acetato de (*Z,Z*)-2,7-octadien-1-ol, Tetradecono e Tetradeconal), no que se refere ao tipo de composto e concentração dos mesmos. Maior parte dos compostos identificados em extratos com 10 segundos foi oriundo dos resquícios das glândulas abdominais dorsais e os compostos obtidos com 10 minutos de extração foram provenientes das glândulas metatorácicas. Quanto ao protocolo de elaboração dos extratos, recomenda-se utilizar na imersão do corpo todo do inseto os dois tempos (10 segundos e 10 minutos) sem anestesia, a fim de ampliar a detecção de compostos.

5. REFERÊNCIAS:

1. Abdalla, F. C. et al. Comparative study of the cuticular hydrocarbon composition of *Melipona bicolor* Lepeletier, 1836 (Hymenoptera, Meliponini) workers and queens. *Genetics and Molecular Research*, **2003** v. 2, p. 191–199.
2. Blomquist, G. J. et al. The cuticle and cuticular hydrocarbons of insects: structure, function, and biochemistry. In: *Pheromone communication in social insect* (Vander Meer RK, Breed MD, Winston ML and Espelie KE, eds.). Westview Press, Boulder, **1998**, 35-54 p.
3. Boomsma, J.J. et al. Informational constraints on optimal sex allocation in ants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **2003**. vol. 100, p.8799-8804.
4. BREED, M. D. Nestmate recognition in honeybees. *Animal Behaviour*, **1983**.v.31, p.86– 91,
5. Breed, M. D.; Bennett, B. Kin recognition in highly eusocial insects. In: FLETCHER, D. J. C., MICHENER, C. D. (Eds.), *Kin Recognition in Animals*. John Wiley & Sons, Chichester, **1987**.p. 243–285.
6. Buellesbach, J. et al. Evolutionary shifts in chemical communication channels? *J Evolutionary Biology*, **2013**. v. 26, n. 11, p. 1–18, doi:10.1111/jeb.12242.Cuticular,.
7. Cabrini, Isaias. **2013** “Desenvolvimento de metodologia para imobilização de dípteros e avaliação de aduldicas – validação com mosquitos (Diptera – Culicidae) e moscas (Diptera – Chloropidae)”. Tese de doutorado. Universidade estadual de Campinas.
8. Caliman, M. J. F. “Caracterização do perfil de hidrocarbonetos cuticulares de operárias, rainhas virgens e rainhas fisogástricas de *Melipona marginata* Lepeletier, 1836.” (Hymenoptera, Apinae, Meliponini). **2008**.
9. Caputo, B. et al. Identification and composition of cuticular hydrocarbons of the major Afrotropical malaria vector *Anopheles gambiae* s.s. (Diptera: Culicidae): analysis of sexual dimorphism and age-related changes. *Journal of mass spectrometry: JMS*, , **2005**. v. 40, n. 12, p. 1595–604, doi:10.1002/jms.961.
10. Carlin, N. F. Discrimination between and within colonies of social insects: Two null hypotheses. *Netherlands Journal of Zoology*, **1988**.v. 39, p. 86-100.
11. Choe, D.H; Park, H; Claudia V , Knyshev, A. Chemically Mediated Arrestment of the Bed Bug, *Cimex lectularius*, by Volatiles Associated with Exuviae of Conspecifics. *Plos one*. DOI:10.1371. **2016**. p.1-14.
12. Costa Lima, A. C. Insetos do Brasil, 2o tomo, capítulo 22, Hemípteros. Série Didática Núm. 3. Escola Nacional de Agronomia, Rio de Janeiro, **1940**, 351p.
13. Ferreira, D. F. Programa Sisvar: sistema de análise de variância. Versão 4,6 (Build 6,0), Lavras, DEX/UFLA, **2003**.
14. Ferreira, P. V. Estatística experimental aplicada à agronomia. 3. Ed. Maceió: EDUFAL, **2000**. 422 p.
15. Ferreira, A. C. Da vespa *Mischocyttarus consimilis* (HYMENOPTERA: VESPIDAE) por cromatografia gasosa, **2012**.
16. Gallo, D. et al. Entomologia agrícola. vol. 10 ed. FEALQ: Piracicaba, **2002**. p.920.
17. Gamboa, J. G. et al. Kin recognition in social wasps: combining chemical and behavioural evidence. *Animal Behaviour*, **1996**.vol. 51, p. 625-629.
18. Hölldobler, B.; Carlin, N. F. Anonymity and specificity in the chemical communication signals of social insects. *Journal of Comparative Physiology*, **1987**.v. 161A, p. 567-581.
19. Howard, R. W.; Blomquist, G. J. Ecological, behavioral, and biochemical aspects of insect hydrocarbons. *Annual Review of Entomology*, **2005**. vol. 50, p. 371– 393.
20. Jungnickel, H. et al. Chemical basis for inter-colonial aggression in the stingless bees *Scaptotrigona bipunctata* (Hymenoptera: Apidae). *Journal Insect Physiology*, **2004**. v. 50, p. 761-766.
21. Kroiss, J.; Svatoš, A.; Kaltenpoth, M. Rapid identification of insect cuticular hydrocarbons using gas chromatography-ion-trap mass spectrometry. *Journal of chemical ecology*, **2011**. v. 37, n. 4, p. 420–7.
22. Le Conte, Y. & Hefetz, A. Primer pheromones in social hymenoptera. *Annual Review of Entomology*, **2008**. v.

- 53, p. 523–542.
23. Lockey, K.H. Lipids of the insect cuticle: origin, composition and function. *Comparative Biochemistry and Physiology B*, **1988**. v. 89, p. 595-645.
 24. Lorenzi, M. C.; Bagnères, A. G.; Clément, J. L. The role of cuticular hydrocarbons in social insects: is it the same in paper wasps? In: TURILLAZZI, S. & WEST-EBERHARD, M. J. (eds.) *Natural History and Evolution of Paper Wasps*, Oxford University Press, UK, p. 178-189, **1996**.
 25. Marques, F. A. et al. Identification of Defensive Compounds in Metathoracic Glands of Adults of the Stink Bug *Dichelops melacanthus* (Hemiptera: Pentatomidae). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **2007**. v. 18, n. 6, p. 1242– 1246.
 26. Monnin, T.; Peeters, C. Dominance hierarchy and reproductive conflicts among subordinates in a monogynous queenless ant. *Behavioral Ecology*, **1999**. v. 10, p. 23 – 32.
 27. Nunes, T. M. Nestmate recognition in a stingless bee: does the similarity of chemical cues determine guard acceptance? *Animal Behaviour*, **2008**. v. 75, p. 1165– 1171.
 28. Nunes, T. M. Cuticular hydrocarbons in the stingless bee *Schwarziana quadripunctata* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini): differences between colonies, castes and age. *Genetics and Molecular Research*, **2009**.v. 8, p. 589–595.
 29. Paiva, M. R.; Pedrosa-Macedo, J. H. *Feromonas de Insetos*. Curitiba: Ctgzt, **1985**. 84 p.
 30. PHEROBASE, **2015**. <<http://www.pherobase.com/database/compound/compounds-index.ph>> Disponível em: 07 de abril de 2015. Acesso em: 07 de abril de **2015**.
 31. Polerstock A. R., Eigenbrode S. D., Klowden M. J. Mating alters the cuticular hydrocarbons of female *Anopheles gambiae sensu stricto* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, **2002**.vol.39, p. 545.
 32. Rodrigues, S. R. et al. Aspectos biológicos e danos de *Pachycoris torridus* em pinhão – manso. *Bragantia*, **2011**. v. 70, n. 2, p. 356–360.
 33. Santos, D. C. de J. Divisão de trabalho e sua relação com a dinâmica dos hidrocarbonetos cuticulares em *Melipona scutellaris* Divisão de trabalho e sua relação com a dinâmica dos hidrocarbonetos cuticulares em *Melipona scutellaris* (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). **2013**.
 34. Santos, J.C et al. Ecology and behavior of *Pachycoris torridus* (Hemiptera: Scutelleridae): new host plant, color polymorphism, maternal care and parasitismo. *Lundiana* **2005**. V.6(2), p. 107-111.
 35. Saturnino, H.M. et al. Cultura do pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, **2005**.v.26, n.229, p.44-78.
 36. Schwander, T. et al. Hydrocarbon divergence and reproductive isolation in Timema stick insects. *BMC evolutionary biology*, **2013**.v. 151, n. 1, p. 1-13.
 37. Silverstein, R. M.; Young, J. C. Insects generally use multicomponent pheromones. In: Beroza, M. (Ed.). *Pest Management with Insect Sex Attractants and Other Behavior-Controlling Chemicals*. Washington, D. C.: ACS Symp. series 23, **1976**. p. 1-29.
 38. Singer TL. Roles of hydrocarbons in the recognition systems of insects. *American Zoologist*., **1998**.v. 38, p. 394–405.
 39. Singer, T. L.; Espelie, K. E. & Gamboa, G. J. Nest and nestmate discrimination in independent-founding wasps. In: Vander Meer, R. K.; Breed, M. D.; Winston, M. L. & Espelie, E. K. (Eds.), *Pheromone Communication in Social Insects*. Westview, Boulder, **1998**. pp. 57–78.
 40. Sledge, M. F. et al. Recognition of social parasites as nest-mates: adoption of colony-specific host cuticular odours by the paper wasp parasite *Polistes sulcifer*. *Proceedings of the Royal Society of London Series B – Biol. Sci.*, **2001**.vol. 268, p. 2253 – 2260.
 41. Tannure-Nascimento, I. C.; Nascimento, F. S.; Zucchi, R. The look of royalty: visual and odour signals of reproductive status in a paper wasp. *Proceedings of the Royal Society of London Series B*, **2008**.v. 275, p. 2555–2561.
 42. Tannure-Nascimento, I. C. et al. Decision

- rules for egg recognition are related to functional roles and chemical cues in the queenless ant *Dinoponera quadricaps*. *Naturwissenschaften*, **2009**. v. 96, p. 857–861.
43. Williams, L.; Evans, P. E.; Bowers, W. S. Defensive chemistry of an aposematic bug, *Pachycoris stallii* Uhler and volatile compounds of its host plant *Croton californicus* Muell.- Arg. *Journal of Chemical Ecology*, **2001**.vol. 27, p. 203-216.
44. Wilson, E. Pheromones. *Sci. Amer.* **1963**.Vol. 208, p. 100-114.
45. Zarbin, P. H. G. et al. Alarm Pheromone System of Stink Bug *Piezodorus guildinii* (Heteroptera: Pentatomidae). *Journal of Chemical Ecology*, **2000**. v. 11, n. 4, p. 424– 428.
46. Zarbin, P. H. G.; Ferreira, J. T. B.; Leal, W. S. Metodologias gerais empregadas no isolamento e identificação estrutural de feromônios de insetos. *Química Nova*, **1999**.v. 22, n. 1, p. 263–268.

Tabela 1 - Análise de variância dos efeitos dos métodos de extração da cutícula e do gênero de *P. torridus* em relação às concentrações dos compostos químicos orgânicos presentes nos extratos.
Dados transformados em arco seno $\sqrt{X(\%)}$

Causa de	GL	QM									
Variação		A ₁	A ₃	A ₄	A ₅	A ₆	A ₈	A ₉	A ₁₁	A ₁₂	
Métodos de Extração da Cutícula (MEC)	3	3.352,52	**0,15 ns	2,53 **	3,78 **	37,11 **	9,98 **	2.761,34 **	7,01 **	10,83 **	
Gênero (G)	1	39,36	**0,12 ns	0,67 ns	0,01 ns	0,01 ns	0,38 ns	0,07 ns	0,13 ns	1,29 ns	
Interação MEC x G	3	0,00 ns	0,09 ns	0,29 ns	0,65 ns	0,21 ns	0,23 ns	9,49 ns	0,22 ns	0,18 ns	
Resíduo	15	4,29	0,13	0,34	0,37	2,14	0,63	3,38	0,38	0,83	

Notas: **: Significativo no nível de 1% de probabilidade pelo teste F. ns: Não significativo no nível de 5 % de probabilidade pelo teste F. A1: (E)-2-Hexenal; A3: Acetato de (E)-2-hexenila; A4: (E)-2-Octenal; A5: Undecano; A6: Dodecano; A8: Desconhecido; A9: Tridecano; A11: Tetradecano e A12: Tetradecanal. Fonte: Autores, 2019

Tabela 2 - Médias dos métodos de extração da cutícula de *P. torridus* em relação às concentrações dos compostos químicos orgânicos presentes nos extratos.

MEC	Médias 1/								
	A ₁	A ₃	A ₄	A ₅	A ₆	A ₈	A ₉	A ₁₁	A ₁₂
A	43,68 b	0,00 a	0,76 ab	0,84 ab	3,24 b	1,30 ab	39,27 b	0,99 a	1,37 ab
B	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
C	44,44 b	0,34 a	0,61 a	1,72 b	5,00 b	2,65 b	39,84 b	2,25 b	3,08 c
D	43,56 b	0,00 a	1,67 b	1,52 b	5,21 b	2,67 b	40,68 b	2,18 b	2,22 bc

Notas: 1/: Nas colunas, as médias com a mesma letra, as quais estão expressas em porcentagem, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. A1: (E)-2-Hexenal; A3: Acetato de (E)-2-hexenila; A4: (E)-2-Octenal; A5: Undecano; A6: Dodecano; A8: desconhecido; A9: Tridecano; A11: Tetradecano e A12: Tetradecanal. A – corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 segundos sem anestesia prévia; B - corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 segundos com anestesia prévia; C - corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 minutos sem anestesia prévia; D - corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 minutos com anestesia prévia. Fonte: Autores, 2019.

Tabela 3 - Médias do gênero de *P. torridus* em relação às concentrações dos compostos químicos orgânicos presentes nos extratos.

Gênero	Médias 1/								
	A ₁	A ₃	A ₄	A ₅	A ₆	A ₈	A ₉	A ₁₁	A ₁₂
Macho	27,26 a	0,00 a	0,44 a	0,87 a	2,86 a	1,24 a	26,04 a	1,05 a	1,17 a
Fêmea	29,88 b	0,14 a	0,78 a	0,99 a	2,82 a	1,50 a	25,93 a	1,20 a	1,64 a

Notas: 1/: Nas colunas, as médias com a mesma letra, as quais estão expressas em porcentagem, não diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade. A1: (E)-2-Hexenal; A3: Acetato de (E)-2-hexenila; A4: (E)-2-Octenal; A5: Undecano; A6: Dodecano; A8: Desconhecido; A9: Tridecano; A11: Tetradecano e A12: Tetradecanal. Fonte: Autores, 2019.

Tabela 4 – Análise de variância do efeito do gênero dentro de métodos de extração a cutícula de *P. torridus* em relação às concentrações dos compostos químicos orgânicos presentes nos extratos.

Dados transformados em arco seno $\sqrt{X}$ (%)

Causa de Variação	QM		
	A ₂	A ₇	A ₁₀
Gênero dentro de A	36,9024 *	1,9154 ns	0,9842 ns
Gênero dentro de B	0,0000 ns	0,0000 ns	0,0000 ns
Gênero dentro de C	8,5761 ns	0,0000 ns	0,1763 ns
Gênero dentro de D	32,3761 *	4,5796 **	4,2849 **
Resíduo	4,9477	0,5108	0,3213

Notas: * e **: Significativo nos níveis de 5 e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente; ns: Não significativo no nível de 5% de probabilidade pelo teste F. A2: (E)-4-(oxo)-2-Hexenal; A7: 1-Trideceno; A10 (Acetato de (Z,Z)-2,7-octadien1-ol; A – corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 segundos sem anestesia prévia; B - corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 segundos com anestesia prévia; C - corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 minutos sem anestesia prévia; D - corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 minutos com anestesia prévia. Fonte: Autores, 2019.

Tabela 5 - Efeito do gênero dentro de métodos de extração da cutícula de *P. torridus* em relação às concentrações dos compostos químicos orgânicos presentes nos extratos.

Compostos Químicos 1/ Gênero		MEC			
		A	B	C	D
A2	M	21,66 b	0,00 a	14,86 a	13,99 a
	F	16,70 a	0,00 a	17,53 a	19,68 b
A7	M	0,00 a	0,00 a	0,00 a	2,14 b
	F	1,13 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
A10	M	0,00 a	0,00 a	0,00 a	2,07 b
	F	0,81 a	0,00 a	0,38 a	0,00 a

Notas: 1/: Dentro de cada composto, nas colunas, as médias com a mesma letra, as quais estão expressas em porcentagem, não diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade. A2: (E)-4-(oxo)-2-Hexenal; A7: 1-Trideceno; A10 (Acetato de (Z,Z)-2,7-octadien1-ol; A – corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 segundos sem anestesia prévia; B - corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 segundos com anestesia prévia; C - corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 minutos sem anestesia prévia; D - corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 minutos com anestesia prévia.

Tabela 6 - Distribuição (em ordem decrescente) das porcentagens das médias das concentrações dos compostos químicos orgânicos dos métodos de extração da cutícula de *P. torridus* de acordo com o gênero.

Ordem decrescente	A				C				D			
	♂		♀		♂		♀		♂		♀	
	V	%	V	%	V	%	V	%	V	%	V	%
1º	A ₁	45,75	A ₁	50,31	A ₁	46,36	A ₁	50,81	A ₁	47,35	A ₁	47,25
2º	A ₉	39,95	A ₉	40,32	A ₉	45,36	A ₉	38,24	A ₉	44,90	A ₉	40,12
3º	A ₂	13,55	A ₂	8,22	A ₂	6,59	A ₂	9,42	A ₂	5,85	A ₂	11,20
4º	A ₆	0,50	A ₆	0,46	A ₆	0,86	A ₆	0,70	A ₆	0,91	A ₆	0,75
5º	A ₈	0,02	A ₁₂	0,17	A ₁₂	0,29	A ₁₂	0,32	A ₈	0,22	A ₈	0,22
6º	A ₁₂	0,06	A ₈	0,13	A ₈	0,24	A ₈	0,20	A ₅	0,14	A ₁₂	0,17
7º	A ₁₁	0,05	A ₇	0,12	A ₁₁	0,20	A ₁₁	0,13	A ₇	0,14	A ₁₁	0,15
8º	A ₅	0,03	A ₁₁	0,07	A ₅	0,10	A ₅	0,09	A ₁₁	0,14	A ₄	0,09
9º	A ₄	0,03	A ₁₀	0,06	***	***	A ₄	0,05	A ₁₂	0,13	A ₅	0,05
10º	***	***	A ₅	0,06	***	***	A ₃	0,03	A ₁₀	0,13	***	***
11º	***	***	A ₄	0,04	***	***	A ₁₀	0,01	A ₄	0,08	***	***

Notas: A1: (E)-2-Hexenal; A2: (E)-4-(oxo)-2-Hexenal; A3: Acetato de (E)-2-hexenila; A4: (E)-2-Octenal; A5: Undecano; A6: Dodecano; A7: 1-Trideceno; A8: Desconhecido; A9: Tridecano; A10 (Acetato de (Z,Z)-2,7-octadien1-ol; A11: Tetradecano e A12: Tetradecanal. Métodos de extração: A – corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 segundos sem anestesia prévia; C - corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 minutos sem anestesia prévia; D - corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 minutos com anestesia prévia. A distribuição das porcentagens do método de extração B (corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 segundos com anestesia prévia), não consta na tabela por não ter apresentado nenhum composto químico. Fonte: Autores, 2019.

Tabela 7. Tempos de retenção (t_R) e índices de Kovats (KI) calculados para os compostos presentes no conteúdo do corpo todo do inseto imerso em Hexano durante 10 segundos/10 minutos com/sem anestesia prévia de adultos machos e fêmeas da espécie *P. torridus*.

	Compostos	t_R (min)	KI natural
A1	(E)-2-Hexenal	4.374	864
A2	(E)-4-(oxo)-2-Hexenal	5.996	934
A3	Acetato de (E)-2-hexenila	7.713	996
A4	(E)-2-Octenal	8.569	1026
A5	Undecano	10.032	1078
A6	Dodecano	12.082	1155
A7	1-Trideceno	13.770	1222
A8	Desconhecido	14.155	1239
A9	Tridecano	14.388	1249
A10	Acetato de (Z,Z)-2,7-octadien1-ol	16.729	1354
A11	Tetradecano	18.296	1430
A12	Tetradecanal	20.013	1519
Padrão interno	2-Nonadecanona	27.712	1886

Fonte: Autores, 2019.