

BÁRBARA SOARES AMOROSO LIMA

**INTERAÇÃO ENTRE PENTATOMIDAE PREDADOR E FITÓFAGO:  
SECREÇÃO DAS GLÂNDULAS METATORÁDICAS**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-graduação em  
Entomologia, para obtenção do  
título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2018

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

L732i  
2018  
Lima, Bárbara Soares Amoroso, 1991-  
Interação entre Pentatomidae predador e fitófago : secreção  
das glândulas metatorácicas / Bárbara Soares Amoroso Lima. –  
Viçosa, MG, 2018.  
vi, 25 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: José Eduardo Serrão.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 20-25.

1. *Podisus nigrispinus*. 2. *Euschistus heros*. 3. Reações  
químicas. 4. Insetos - Comportamento. I. Universidade Federal  
de Viçosa. Departamento de Biologia Geral. Programa de  
Pós-Graduação em Entomologia. II. Título.

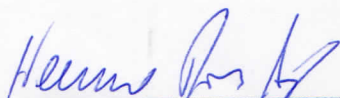
CDD 22. ed. 595.754

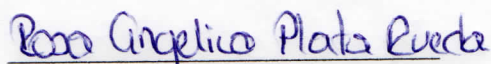
BÁRBARA SOARES AMOROSO LIMA

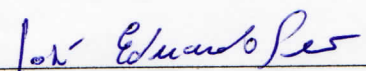
**INTERAÇÃO ENTRE PENTATOMIDAE PREDADOR E FITÓFAGO:  
SECREÇÃO DAS GLÂNDULAS METATORÁDICAS**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-graduação em  
Entomologia, para obtenção do  
título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 31 de julho 2018.

  
\_\_\_\_\_  
Hernane Dias Araújo

  
\_\_\_\_\_  
Rosa Angelica Plata Rueda

  
\_\_\_\_\_  
José Eduardo Serrão  
(Orientador)

**Aos meus amados pais Janete e José  
Eduardo, aos meus irmãos, Sillas,  
Camilla e Nívea**

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por guiar meus passos segundo a sua vontade, pelos Seus planos e misericórdia em cada momento da minha vida.

A UFV, por manter suas portas abertas, por acolher e fornecer suporte necessário ao nosso desenvolvimento como profissionais.

Ao Departamento de Entomologia, pela oportunidade de realização deste trabalho.

A FAPEMIG pela concessão da bolsa e demais órgãos de fomento, por viabilizarem a pesquisa.

Aos integrantes da banca, Angélica e Hernane, por aceitarem o convite para colaboração do trabalho.

Ao professor Serrão, pela orientação e carinho durante esse período, por ir além de orientador e nos ensinar a agregar valores humanos à nossa ciência.

Ao professor Eugênio, do Laboratório de Fisiologia e Neurobiologia de Invertebrados, e professor Zanuncio, do Laboratório de Controle Biológico, por me conceder os insetos. A Angélica, por dispor do seu tempo para ajudar no desenvolvimento do trabalho e compartilhar de seu conhecimento.

Ao Luis Carlos, por tamanha paciência durante o desenvolvimento da pesquisa, por compartilhar de seu conhecimento e dedicar seu tempo a mim e a todos os colegas de trabalho.

Aos companheiros do Laboratório de Ultraestrutura Celular, por tornarem nossa pesquisa menos árdua e construirmos um ambiente agradável e de paz para nosso trabalho.

Aos meus pais, Janete e José Eduardo, por acreditarem que meus sonhos eram possíveis, por multiplicarem suas forças em prol dos meus estudos, por serem sempre meu espelho e minha referência de caráter, honestidade e amor.

Aos meus irmãos, Sillas, Camilla e Nívea, que estiveram sempre ao meu lado em cada etapa, por sempre me fazerem sentir o que é ser família quando ninguém mais estava por perto. Por termos aprendido desde crianças a nobreza da partilha e a dimensão a que se pode chegar um amor fraterno.

A minha avó e minhas tias, que sentiram comigo minha ansiedade, e que sempre oraram pelo meu trabalho.

As meninas da República, pelas conversas no fim do dia, por aprendermos juntas a dividir muito além de um mesmo lar, mas sim alegrias e momentos difíceis, construindo sempre um ambiente de amizade e paz.

Aos amigos da Entomologia, por vencermos esses anos juntos, por compartilharmos dos mesmos medos e dúvidas, por cada encontro que amenizava nossa carga diária.

Aos meus amigos de Viçosa e Tocantins, por fazerem meus dias mais felizes e por torcerem por mim. Vocês têm parte em cada momento que vivi.

## SUMÁRIO

Resumo.....	v
Abstract .....	vi
1. Introdução .....	1
2. Material e métodos .....	3
Insetos.....	3
Extratos das glândulas metatorácicas .....	3
Resposta comportamental.....	5
3. Resultados .....	6
4. Discussão .....	17
Referências bibliográficas.....	20

## RESUMO

LIMA, Bárbara Soares Amoroso, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2018. **Interação entre Pentatomidae predador e fitófago: secreção das glândulas metatorácicas.** Orientador: José Eduardo Serrão.

Os Pentatomidae são representados pelos percevejos que produzem em suas glândulas metatorácicas, substâncias químicas voláteis com odores desagradáveis que funcionam como feromônios de alarme e alomônios de defesa contra inimigos naturais. O conteúdo glandular dos percevejos fitófago *Euschistus heros* e predador *Podisus nigrispinus* foi analisado com o objetivo de comparar a interação química e comportamental entre as duas espécies provocadas pela secreção glandular. O conteúdo das glândulas foi analisado por meio de uma cromatografia de fase gasosa acoplada a um espectrômetro de massas (GC/MS), e a uma cromatografia de fase gasosa acoplada a um detector de ionização de chama (GC/FID). As respostas comportamentais das espécies às secreções glandulares foram observadas através de um sistema de rastreamento de vídeo. Em *P. nigrispinus*, foram identificados dezessete compostos sendo o tridecano o mais abundante (16,43%). Em *E. heros*, foram identificados vinte e dois compostos, dos quais o dodecano se apresentou como o mais abundante (21,74%). Não houve diferença qualitativa nas substâncias produzidas por machos e fêmeas de mesma espécie. (*E*)-hex-2-enal, tridecano e tetradecano foram encontrados em ambas as espécies. A secreção das glândulas de *P. nigrispinus* e *E. heros*, mostraram efeitos subletais repelentes e irritantes entre as espécies e entre os sexos, o que comprova a funcionalidade defensiva das glândulas metatorácicas e suas ações como feromônios ou alomônios. A variedade, a associação entre os compostos e a diferença nas abundâncias de cada um podem explicar a diferença no odorante dos fitófagos e predadores, bem como entre machos e fêmeas coespecíficos. Os compostos podem, dessa forma, contribuir com estudos futuros avaliando os efeitos de compostos isolados e em sinergismo, testar a toxicidade das moléculas em outros insetos e atuar como uma potencial fonte alternativa de inseticidas ou repelentes, colaborando para o desenvolvimento de estratégias sustentáveis para controle de pragas agrícolas.

## ABSTRACT

LIMA, Bárbara Soares Amoroso, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2018. **Interaction between predator and phytophagous Pentatomidae: metathoracic glands secretion.** Adviser: José Eduardo Serrão.

Pentatomidae are stink bugs that produce volatile chemicals in their metathoracic glands with unpleasant odors that function as alarm pheromones and defense against natural enemies. The metathoracic glandular content of the phytophagous insect *Euschistus heros* and its predator *Podisus nigrispinus* was analysed to compare the chemical and behavioral interactions between these species. Glandular content was evaluated by gas chromatography coupled to a mass spectrometer (GC/MS), and gas chromatograph analysis equipped with a flame ionization detector (GC/FID). The behavioral responses of these species to the glandular secretions were analysed with video tracking system. In *P. nigrispinus*, 17 compounds were identified and tridecane was the most abundant (16.43%). In *E. heros*, 22 compounds were identified with dodecane with higher proportion (21.74%). There were no qualitative composition differences in the substances produced by males and females of the same species. (*E*)-hex-2-enal, tridecane and tetradecane were found in both species. The glands secretion of the glands of *P. nigrispinus* and *E. heros* showed repugnant and irritating effects between the species and between the sexes, which proves the defensive function of the metathoracic glands secretion as pheromone or allomone. The variety, the association between chemical compounds and differences in proportions of each one, may explain the difference in the odorant of phytophagous and predators, as well as between males and females. The metathoracic gland secretion may contribute to future studies evaluating the effects of isolated compounds and in synergism, to test the toxicity of the molecules in other insects and to act as a potential alternative source of insecticides or repellents, in order to the development of sustainable strategies for control of agricultural pests.

## 1. Introdução

Os insetos frequentemente possuem várias estratégias de defesa contra predadores ou invasores, como: respostas do sistema imunológico, mimetismo, estratégias de defesa coletiva, autotomia (auto-mutilação), camuflagem, aposematismo (sinais de alarme como coloração), defesa química dentre outros. Os compostos químicos de defesa têm papel vital em muitos aspectos do comportamento de Coleoptera, Heteroptera, Hymenoptera e Lepidoptera (Gullan & Cranston, 2014).

Hemiptera inclui além de outros insetos os percevejos, formando uma ordem com muitas espécies predadoras, sugadoras de plantas (algumas, pragas importantes de cultivos) e vetores de doenças humanas e veterinárias (Triplehorn & Johnson 2011). Dentre os Hemiptera, os representantes de Heteroptera apresentam glândulas dorsais abdominais nos estágios ninfais e glândulas metatorácicas nos adultos, comumente conhecidas como glândulas de cheiro (Staddon, 1979; Carver et al., 1994).

Essas glândulas produzem substâncias químicas voláteis que atuam principalmente nas estratégias de defesa contra inimigos naturais e/ou microorganismos, feromônio de alarme e podem também agir como feromônio de agregação (Remold, 1963; Staddon, 1979; Pareja, 2007). Em percevejos adultos, as substâncias químicas voláteis são produzidas por um par de glândulas odoríferas e secretadas através do sistema torácico eferente externo (Staddon, 1979). O sistema torácico eferente externo é composto por ostíolo, peritrema e evaporatório (Staddon, 1979; Martínez et al., 2017). No interior do metatórax, há um par de glândulas odoríferas de origem epidérmica revestida por uma cutícula contínua (Staddon, 1979; Martínez et al., 2017).

As mudanças do odorante produzido pelas glândulas odoríferas metatorácicas, podem ocorrer devido ao tipo de alimento que consomem e ao grau de especialização alimentar (Aldrich, 1988; Pareja et al., 2007; Khan et al., 2008). A intensidade do odorante e a quantidade de substâncias que compõem o extrato glandular pode diferir entre percevejos hematófagos, fitófagos, zoófagos, fitozoófagos ou zoofitófagos (Aldrich, 1988; Khan et al., 2008).

As glândulas odoríferas metatorácicas de Pentatomidae têm uma elevada atividade secretora, principalmente na produção de hidrocarbonetos (Nagnan et al., 1994; Durak & Kalender, 2009; Martínez et al., 2017). Nos fitófagos, essa secreção é

rica em alcanos C<sub>6</sub>, C<sub>8</sub> e C<sub>10</sub>, enquanto nos predadores, é rica em (*E*)-2-hexenal, (*E*)-2-octenal e monoterpenóides, tornando-se mais complexa a composição do cheiro produzido nos Asopinae (Aldrich et al., 1984; Lockwood & Story, 1985).

*Podisus nigrispinus* Dallas (Heteroptera: Pentatomidae: Asopinae) é uma espécie zoofitófaga, utilizada em programas de controle biológico, culturas agrícolas e ecossistemas florestais. Alimenta-se principalmente de lepidópteros, coleópteros e himenópteros (Moura & Grazia, 2011; Neves et al., 2010, Panizzi et al., 2000; Zanuncio et al., 1996).

Outros representantes de Asopinae também se destacam pela importância no controle biológico, os quais têm estimulado estudos relacionados ao desenvolvimento, morfologia, reprodução, interação predador-presa, estratégias de alimentação (como a digestão extraoral) e estratégias de ataque ou defesa (Zanuncio et al., 1996; Cohen, 1998, Lemos et al., 2001, 2005; Moura & Grazia, 2011; Martínez et al., 2014, 2016, 2017).

*Euschistus heros* Fabricius (Hemiptera: Pentatomidae: Pentatominae) é praga-chave da cultura de soja em várias regiões do Brasil (Panizzi & Slansky Jr., 1985). Esse inseto é considerado de importância econômica pois suga diretamente os tecidos das sementes, resultando em uma redução do conteúdo de óleo e taxa de germinação, o que conseqüentemente afeta a produção e a qualidade dos grãos (Panizzi & Slansky Jr., 1985; Panizzi et al., 2000; Depieri & Panizzi, 2011; Azambuja et al., 2013; Castellanos et al., 2017).

*Podisus nigrispinus* é encontrado na soja durante todo o ciclo da cultura e tem uma relação natural de predação principalmente pelos ovos e ninfas de *E. heros*. São capazes de se estabelecer e se manter presentes na cultura mesmo com a população de pragas-chave em baixa, atuando como bons controladores (Saini, 1994; Medeiros et al., 1997; Zanuncio et al., 1997).

Os odorantes liberados pelas glândulas metatorácicas mediam a relação entre predador e fitófago e baseado nesse fato hipotetizamos que, existem diferenças na composição química entre eles. Nesse sentido, este estudo comparou a interação química e comportamental entre *P. nigrispinus* e *E. heros* mediada pela secreção das glândulas metatorácicas, contribuindo para a compreensão das relações ecológicas entre o predador e fitófago.

## 2. Material e métodos

### Insetos

Adultos de *P. nigrispinus* foram obtidos da criação massal no Laboratório de Controle Biológico do Instituto de Biologia Aplicada à Agricultura e Pecuária (Bioagro, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil), mantida a  $25 \pm 2$  °C, umidade relativa de  $75 \pm 5\%$  e 12 h fotofase. Esses insetos foram mantidos em gaiolas e alimentados com pupas de *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae) e folhas de *Eucalyptus grandis* (W. Hill ex. Maiden) *ad libitum* (Lemos et al., 2005).

Adultos de *E. heros* foram obtidos da criação massal do Laboratório de Fisiologia e Neurobiologia de Invertebrados (Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil), mantidos a  $27 \pm 2$  °C,  $70 \pm 10\%$  de umidade relativa, e fotoperíodo de 14:10 h luz: escuro. Os insetos foram mantidos em potes grandes de plástico com telas nas tampas, foram alimentados *ad libitum* com vagens de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) e grãos de soja (*Glycine max* L.), amendoim (*Arachis hypogaea* L.) (Fabaceae) e girassol (*Helianthus annuus* L.) (Asteraceae) (Borges et al., 2006).

### Extratos das glândulas metatorácicas

Percevejos adultos machos (n = 25) e fêmeas (n = 25) de cada espécie com idade entre 10-15 dias foram crioanestesiados à -4 °C durante 2 minutos. Os insetos foram colocados individualmente em placa de petri para que as glândulas pudessem ser retiradas. Com uma tesoura de dissecação, cortou-se a cabeça, seguido das pernas e asas. As laterais do corpo foram abertas com o tórax voltado para cima e as glândulas metatorácicas retiradas e transferidas para 100 µL de hexano, sonicadas por 30 min. A seguir, os extratos das glândulas metatorácicas foram analisados em cromatógrafo de fase gasosa (CG-17A, Shimadzu, Kyoto, Japão) equipado com um detector de ionização de chama (FID) em triplicata. As seguintes condições cromatográficas foram utilizadas: uma coluna capilar de sílica fundida DB-5 (30 m x 0,22 mm i.d. x 0,25 µm; Bellefonte, USA), gás transportador N<sub>2</sub> a uma taxa de fluxo de 1,8 mL min<sup>-1</sup>; temperatura do injetor 220 °C; temperatura do detector 240 °C; temperatura da coluna programada para começar a 40 °C (isotérmica restante durante 2 min) e depois aumentada a 3°C/ min<sup>-1</sup> até 240 °C (isotérmica restante a 240 °C

durante 15 min); volume de injeção 1 µL (1% p/v em hexano); razão de divisão 1:10; pressão da coluna 115 kPa.

Os compostos das glândulas metatorácicas foram analisados qualitativamente utilizando um cromatógrafo gasoso acoplado a um detector de massas CG/MS (CGMS-QP 5050A; Shimadzu, Kyoto, Japão). As temperaturas do injetor e do detector foram 220 °C e 300 °C, respectivamente. A temperatura inicial da coluna foi de 40 °C durante 3 min, com um aumento de temperatura programado de 3 °C/min para 300 °C, mantido durante 25 min. A proporção modo “split” foi de 1:10. Um microlitro de cada extrato das glândulas metatorácicas contendo 1% (w/v em hexano) foi injetado, o hélio foi utilizado como gás transportador com uma constante de taxa de fluxo de 1,8 mL<sup>-1</sup> na coluna capilar Rtx®-5MS (30 m, 0,25 mm i.d. x 0,25 µm; Bellefonte, USA), utilizando a fase estacionária Crossbond® (35% difenil- 65% dimetil polissiloxano). O espectrômetro de massa foi programado para detectar massas na gama de 29-450 Da com 70 eV de energia de ionização. Os compostos foram identificados por comparação dos espectros de massa disponíveis nas bibliotecas do “National Institute of Standards and Technology” (NIST08, NIST11), Base de Dados Wiley Spectroteca (7ª edição) e pelos índices de Retenção (índice de Kováts).

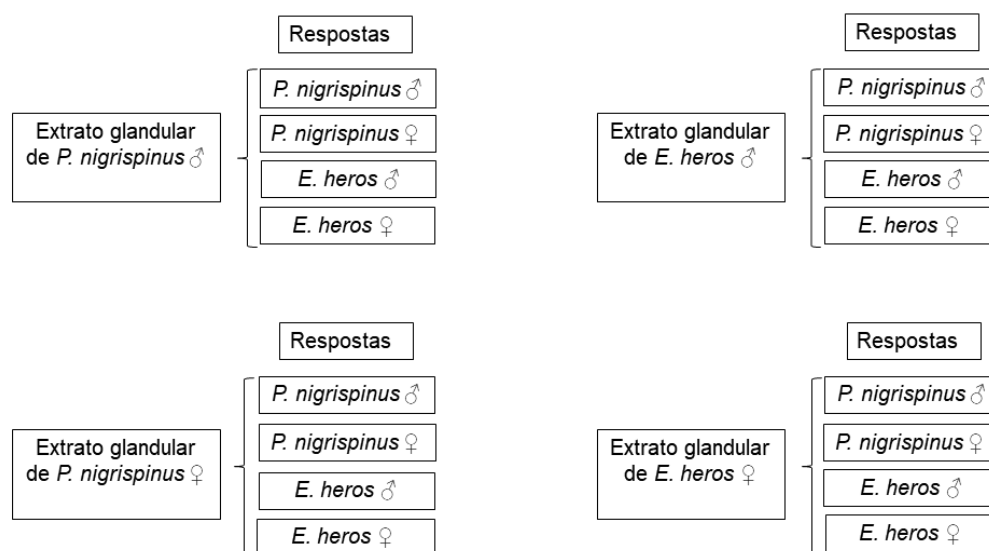
As áreas sob os picos dos cromatogramas foram transformados de acordo com as fórmula  $Z = \ln[A_p/g(A_p)]$ , onde  $A_p$  foi a área do pico, e  $g(A_p)$  é a área média geométrica do pico (Aitchison, 1986). Os dados das áreas dos perfis das moléculas químicas identificadas foram submetidos à análise univariada usando matriz de similaridade (Coeficiente de correlação de Pearson,  $P < 0,05$ ;  $P < 0,01$ ) para conferir a variabilidade da composição do produto das glândulas metatorácicas. As relações entre as moléculas químicas identificadas e a composição do cheiro (entre espécies e o sexo) foram correlacionadas com a Análise de Componentes Principais (ACP) com rotação Varimax e sem a transformação dos dados. Os valores da abundância correspondentes às análises químicas quantitativas e qualitativas foram adicionados como uma variável passiva ao biplot usando seu coeficiente de correlação para o primeiro componente. Em adição, a Análise Fatorial Discriminante (AFD) foi utilizada para classificar quatro grupos (machos, fêmeas e as espécies) usando os perfis das moléculas existentes entre os grupos. Análise do Coeficiente de correlação

de Pearson, ACP e AFD foram realizadas com o programa XLSTAT v. 7.5 para Windows®.

### **Resposta comportamental**

Percevejos adultos machos (n = 25) e fêmeas (n = 25) de cada espécie com idade entre 10-15 dias foram crioanestesiados a -4 °C durante 2 minutos e as glândulas metatorácicas dissecadas e transferidas para um frasco contendo 100 µL de hexano e sonicadas por 30 min. Os bioensaios de respostas comportamentais foram realizados para avaliar as interações entre *P. nigrispinus* e *E. heros* expostos aos extratos da glândula metatorácica do macho e fêmea de ambas as espécies (Fig. 1). Um total de 80 insetos (4 percevejos x 5 repetições x 4 tratamentos) de cada espécie e sexo foram utilizados para o teste de escolha dos quatro extratos em delineamento inteiramente casualizado de acordo com métodos previamente descritos (Guedes et al., 2009; Cordeiro et al., 2010). Para a resposta de cada percevejo, foi utilizado um frasco da mistura, ou seja, quatro frascos por tratamento. Os insetos foram transferidos individualmente para uma arena aberta que consistia em placa de Petri (Ø 90 mm × 15 mm de altura) com um papel filtro (Whatman No. 1) fixado com cola branca; as paredes internas foram cobertas com politetrafluoroetileno (PTFE) Teflon® (Dupont, Wilmington, DE, EUA) para evitar a fuga dos insetos. Metade da área da arena foi tratada com 100 µL do extrato da glândula em hexano (Tabela 1). No controle, metade da arena foi tratada com hexano somente. Um adulto de cada espécie foi liberado em seu centro e deixado por 10 min na arena. O movimento de cada inseto dentro da arena durante este período foi gravado usando uma câmera de vídeo Canon® NTSC (XL1 3CCD, Canon EUA, Lake Success, NY), equipada com uma lente de vídeo 16x (zoom XL 5.5-88 mm) e transferida digitalmente a um computador para posterior análise usando sistema de rastreamento de vídeo ViewPoint LifeSciences (Montreal, Quebec, Canadá). As medidas tomadas com o sistema de rastreamento incluíram a distância percorrida e, tempo parado em cada metade da arena. Os insetos que permaneceram menos de um segundo na metade da arena tratada com extrato foram considerados repelidos, enquanto aqueles que permaneceram menos que 50% do tempo na metade tratada, foram considerados irritados (indicados pelas faixas representativas de caminhamento). Não houve mortalidade dos insetos durante o bioensaio comportamental. Os dados de resposta

comportamental foram analisados com Análise de variância (ANOVA One-way) e o teste Honestamente Significativo de Tukey (HSD) também foi usado para comparar as médias dos tratamentos a 5% de significância usando SAS (v. 9.0) para Windows® (SAS Institute, 2002).



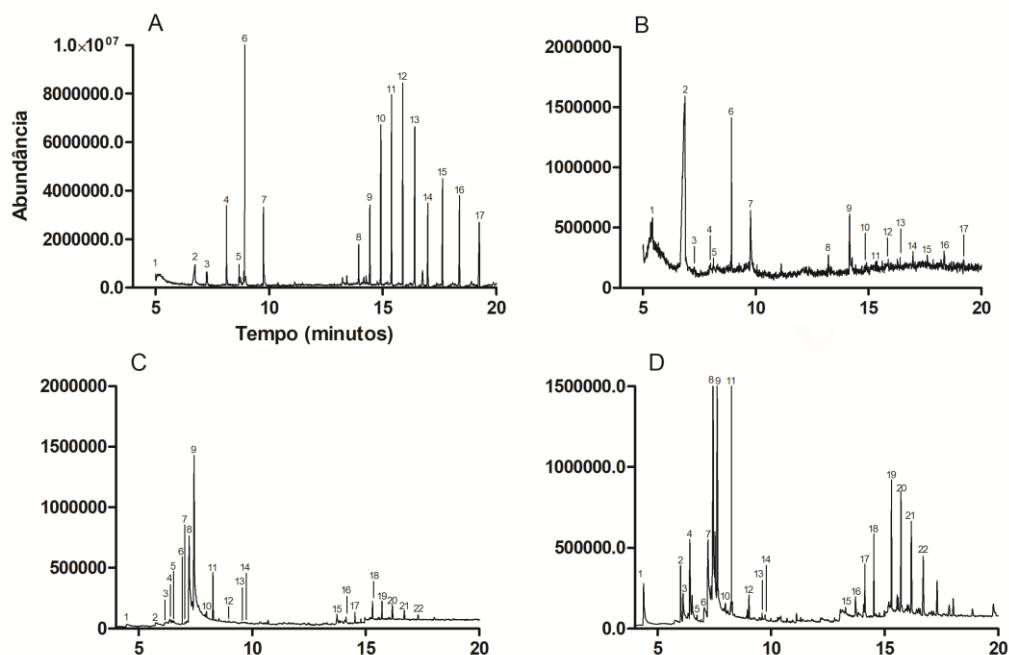
**Figura 1.** Esquema das interações comportamentais intra- e interespecífica entre o percevejo predador *Podisus nigrispinus* e o percevejo fitófago *Euschistus heros* causadas pelos extratos das glândulas metatorácicas.

### 3. Resultados

Na composição da glândula metatorácica de machos e fêmeas de *P. nigrispinus* foram identificados 17 compostos, representando 96,3% da composição total (Figs. 2A-B, tabela 1) sem diferenças qualitativas entre os sexos. Os compostos encontrados foram: tridecano (♂=15,70%; ♀=17,17%), (*E*)-hex-2enal (♂=1,22; ♀=19,91%), 2-metilpentadecano (♂=11,10%; ♀=2,91%), 2-metilheptadecano (♂=10,71%; ♀=3,10%), 2-metiloctadecano (♂=9,21%; ♀=3,23%), hexadecano (♂=9,51%; ♀=2,66%), tetradecano (♂=4,15%; ♀=7,38%), 1,7-nonadien-4-ol, 4,8-dimetil (♂=1,92%; ♀=8,22%), não identificado 16 (♂=5,99%; ♀=3,65%), não identificado 15 (♂=5,59%; ♀=3,67%), alil pentil éter (♂=6,15%; ♀=2,60%), but-3-in-1-ol (♂=0,73%; ♀=7,60%), não identificado 14 (♂=4,37%; ♀=3,46%), não identificado 17 (♂=3,38%; ♀=3,16%), 2-metilundecano (♂=2,19%; ♀=3,48%), alil

metalil éter ( $\sigma^{\text{♂}}=1,22\%$ ;  $\sigma^{\text{♀}}=3,22\%$ ), e ácido (2*E*)-2-hexenóico ( $\sigma^{\text{♂}}=0,85\%$ ;  $\sigma^{\text{♀}}=3,09\%$ ). A diferença quantitativa foi representada pelo (*E*)-hex-2-enal, que ocorreu em maior abundância na fêmea (19,91%) que no macho (1,22%).

Em machos e fêmeas de *E. heros*, um total de 22 compostos foram identificados, representando 98,36% da composição total (Figs. 2C-D, tabela 1) sem diferenças qualitativas entre os sexos. Os compostos foram: dodecano ( $\sigma^{\text{♂}}=29,98\%$ ;  $\sigma^{\text{♀}}=13,51\%$ ), metil 3,6-dimetil-5-oxoheptanoato ( $\sigma^{\text{♂}}=15,60\%$ ;  $\sigma^{\text{♀}}=13,05\%$ ), ácido hexanóico, 2-hexenil éster ( $\sigma^{\text{♂}}=9,44\%$ ;  $\sigma^{\text{♀}}=12,54\%$ ), 2-metiltetracosano ( $\sigma^{\text{♂}}=5,36\%$ ;  $\sigma^{\text{♀}}=7,75\%$ ), heptacosano ( $\sigma^{\text{♂}}=4,21\%$ ;  $\sigma^{\text{♀}}=7,05\%$ ), docosano ( $\sigma^{\text{♂}}=4,72\%$ ;  $\sigma^{\text{♀}}=5,25\%$ ), octadecano, 9-etil-9-heptil- ( $\sigma^{\text{♂}}=3,18\%$ ;  $\sigma^{\text{♀}}=5,54\%$ ), ácido (*E*)-hex-2-enóico ( $\sigma^{\text{♂}}=1,74\%$ ;  $\sigma^{\text{♀}}=4,67\%$ ), nonacosano ( $\sigma^{\text{♂}}=2,56\%$ ;  $\sigma^{\text{♀}}=3,76\%$ ), acetato [(*E*)-undec-2-enil] ( $\sigma^{\text{♂}}=1,13\%$ ;  $\sigma^{\text{♀}}=0,80\%$ ), pentan-1-ol ( $\sigma^{\text{♂}}=1,36\%$ ;  $\sigma^{\text{♀}}=4,70\%$ ), acetato (2*E*)-2-decenil ( $\sigma^{\text{♂}}=3,08\%$ ;  $\sigma^{\text{♀}}=1,38\%$ ), 4-oxo-(*E*)-2-hexenal ( $\sigma^{\text{♂}}=1,02\%$ ;  $\sigma^{\text{♀}}=3,26\%$ ), pentadecan-1-ol ( $\sigma^{\text{♂}}=2,15\%$ ;  $\sigma^{\text{♀}}=1,73\%$ ), óxido 1,2-hexadecano ( $\sigma^{\text{♂}}=2,67\%$ ;  $\sigma^{\text{♀}}=1,13\%$ ), (*E*)-hex-2-enal ( $\sigma^{\text{♂}}=1,89\%$ ;  $\sigma^{\text{♀}}=2,41\%$ ), tridecano ( $\sigma^{\text{♂}}=1,23\%$ ;  $\sigma^{\text{♀}}=1,76\%$ ), [(*Z*)-hex 2-enil]acetato ( $\sigma^{\text{♂}}=1,13\%$ ;  $\sigma^{\text{♀}}=1,81\%$ ), (*E*)-octdec-10-enal ( $\sigma^{\text{♂}}=2,98\%$ ;  $\sigma^{\text{♀}}=3,29\%$ ), tetradecano ( $\sigma^{\text{♂}}=1,36\%$ ;  $\sigma^{\text{♀}}=0,73\%$ ), e octanal ( $\sigma^{\text{♂}}=0,92\%$ ;  $\sigma^{\text{♀}}=0,50$ ). Nessa espécie, a diferença quantitativa foi representada pelo dodecano, com maior abundância no macho (29,98%) que na fêmea (13,51%).



**Figura 2.** Cromatogramas dos compostos das glândulas metatorácicas de *Podisus nigrispinus* macho (A), fêmea (B): but-3-in-1-ol (1), (*E*)-hex-2-enal (2), ácido (2*E*)-2-hexenóico (3), alil pentil éter (4), alil metalil éter (5), tridecano (6), 1,7-nonadien-4-ol, 4,8-dimetil (7), 2-metilundecano (8), tetradecano (9), hexadecano (10), 2-metilpentadecano (11), 2-metilheptadecano (12), 2-metiloctadecano (13), não identificado (14), não identificado (15), não identificado (16) e não identificado (17). *Euschistus heros* macho (C) e fêmea (D): (*E*)-hex-2-enal (1), 4-oxo-(*E*)-2-hexenal (2), [(*Z*)-hex 2-enil]acetato (3), ácido (*E*)-hex-2-enóico (4), (*E*)-oct-2-enal (5), octanal (6), pentan-1-ol (7), metil 3,6-dimetil-5- oxoheptanoato (8), dodecano (9), (2*E*)-2-decenil acetato (10), ácido hexanóico, 2-hexenil éster (11), tridecano (12), (2*E*)-2-undecenil acetato (13), tetradecano (14), óxido 1,2-hexadecano (15), pentadecanal (16), (10*E*)-10-octadecenal (17), docosane (18), 2-miltetracosano (19), heptacosano (20), octadecano, 9-etil-9-heptil- (21), nonacosane (22).

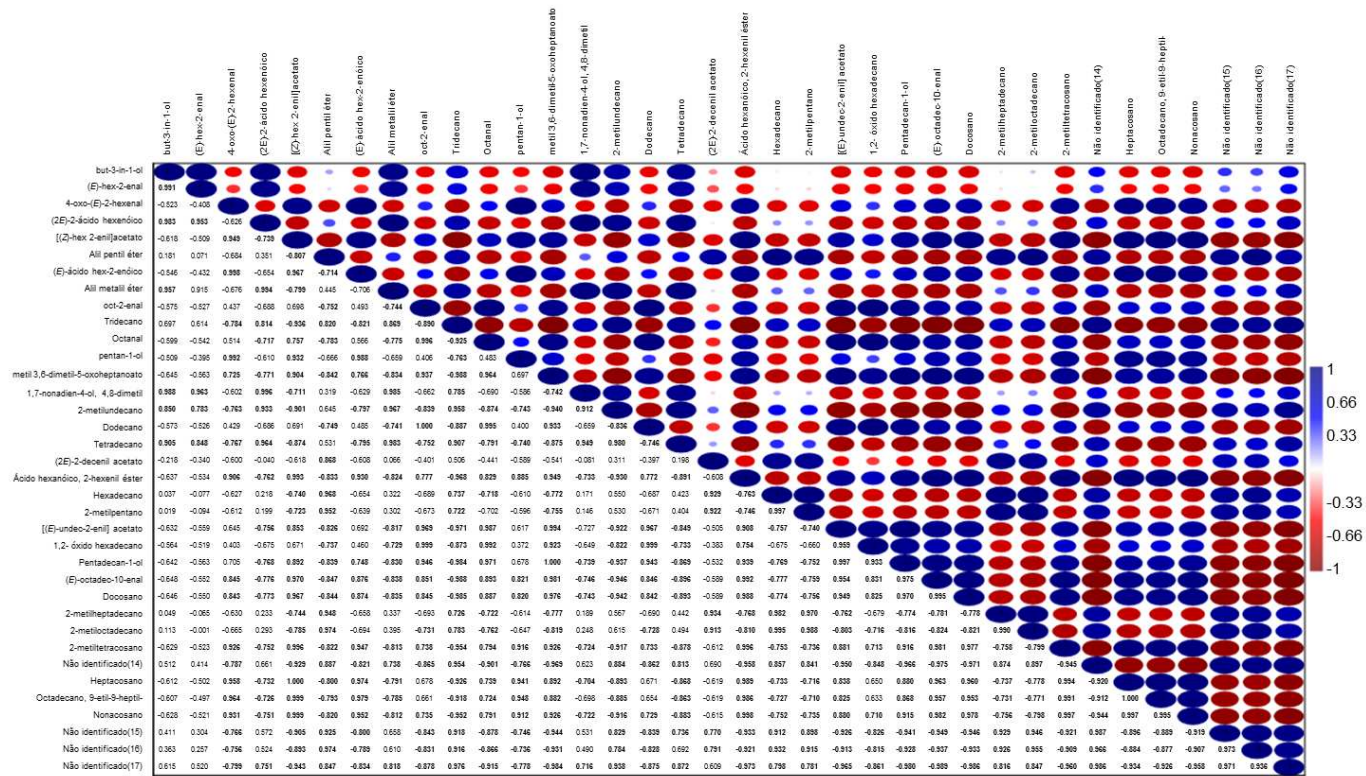
**Tabela 1.** Composição química das glândulas metatorácicas de *P. nigrispinus* e *E. heros*. Ri, índice de retenção; A, abundância relativa (%); Rt, tempo de retenção; MM, massa molecular; *m/z*, massa do fragmento/carga (+1)

Composto	<i>P. nigrispinus</i>		<i>E. heros</i>		Ri	Rt	MM	<i>m/z</i>
	A ♂	A ♀	A ♂	A ♀				
but-3-in-1-ol	0.73±0.07	7.60±0.36	-	-	807	5.108	71	70.09
( <i>E</i> )-hex-2-enal	1.22±0.12	19.9±0.57	1.89±1.49	2.41±0.05	814	4.233	98	98.14
4-oxo-( <i>E</i> )-2-hexenal	-	-	1.02±0.03	3.26±0.07	1431	5.617	177	103.0
(2 <i>E</i> )-2-ácido hexenóico	0.85±0.09	3.09±0.15	-	-	2112	7.133	290	93.00
[( <i>Z</i> )-hex 2-enil]acetato	-	-	1.13±0.03	1.81±0.04	982	5.892	142	142.1
Alil pentil éter	6.15±1.01	2.60±0.12	-	-	1313	7.433	184	128.1
( <i>E</i> )-ácido hex-2-enóico	-	-	1.74±0.05	4.67±0.10	1042	6.083	114	114.1
Alil metalil éter	1.22±1.12	3.22±0.15	-	-	1212	8.000	154	112.1
oct-2-enal	-	-	1.64±0.05	0.75±0.01	1045	6.267	126	126.1
Tridecano	15.7±1.30	17.1±0.40	1.23±0.04	1.76±0.04	1300	8.158	184	184.3
Octanal	-	-	0.92±0.03	0.50±0.01	1247	6.592	128	128.2
pentan-1-ol	-	-	1.36±0.44	4.70±0.10	1248	6.950	116	88.15
metil 3,6-dimetil-5-oxoheptanoato	-	-	15.6±0.49	13.0±0.29	1349	7.150	186	101.0
1,7-nonadien-4-ol, 4,8-dimetil	1.92±0.44	8.22±0.40	-	-	1182	9.625	168	67.05
2-metilundecano	2.19±0.22	3.48±0.16	-	-	1349	13.85	198	170.3
Dodecano	-	-	29.9±0.48	13.5±0.34	1200	7.400	170	170.3
Tetradecano	4.15±0.42	7.38±0.21	1.36±0.44	0.73±0.01	1400	9.450	268	198.3
(2 <i>E</i> )-2-decenil acetato	-	-	3.07±0.09	1.38±0.03	1109	7.558	170	198.3
Ácido hexanóico, 2-hexenil éster	-	-	9.44±0.30	12.5±0.27	1389	7.892	198	100.0
Hexadecano	9.51±0.67	2.66±0.12	-	-	1349	14.80	198	226.4
2-metilpentano	11.1±1.44	2.91±0.14	-	-	1349	15.23	198	226.4
[( <i>E</i> )-undec-2-enil] acetato	-	-	1.13±0.03	0.80±0.02	1489	8.850	212	212.3
1,2- óxido hexadecano	-	-	2.67±0.08	1.13±0.02	1702	13.18	240	83.05
Pentadecan-1-ol	-	-	2.15±0.07	1.73±0.04	1690	13.63	170	226.4
( <i>E</i> )-octadec-10-enal	-	-	2.98±0.09	3.29±0.07	1863	13.97	266	266.4
Docosano	-	-	4.72±0.15	5.25±0.40	2200	14.40	352	310.6
2-metilheptadecano	10.7±0.99	3.10±0.15	-	-	1349	15.75	198	254.5
2-metiloctadecano	9.21±0.27	3.23±0.15	-	-	1349	16.27	198	268.5
2-metiltetracosano	-	-	5.36±0.31	7.75±0.17	2456	15.09	496	352.6
Não identificado(14)	4.37±0.44	3.46±0.32	-	-	1349	16.85	198	85.10
Heptacosano	-	-	4.21±0.13	7.05±0.15	2700	15.15	352	380.7
Octadecano, 9-etil-9-heptil-	-	-	3.18±0.10	5.54±0.12	2804	15.43	496	280.8
Nonacosano	-	-	2.56±0.08	3.76±0.08	2900	15.63	380	408.7
Não identificado(15)	5.59±0.56	3.67±0.17	-	-	1746	17.49	254	85.05
Não identificado(16)	5.99±0.50	3.65±0.31	-	-	1746	18.25	254	85.05
Não identificado(17)	3.38±0.34	3.16±0.15	-	-	1746	19.10	254	85.10

Para avaliar a associação entre as moléculas químicas identificadas nas espécies, os perfis dessas moléculas foram analisados pela correlação de Pearson, a qual indicou associações positivas maiores que 0,75 (Fig. 3, tabela 2).

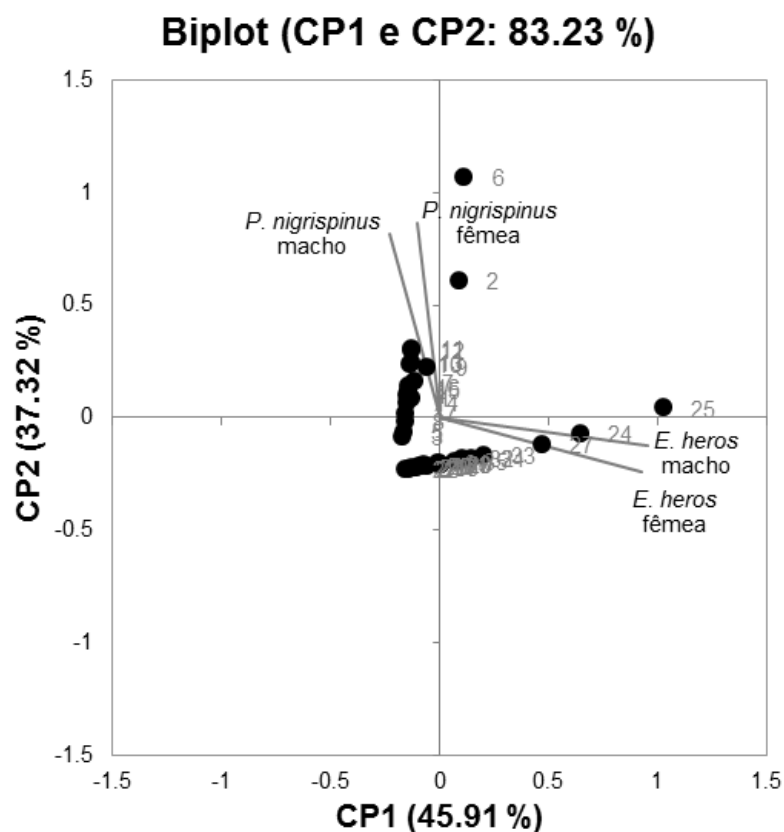
Os componentes principais obtidos a partir da abundância dos compostos representaram 83,23% da variação total. O primeiro componente principal obtido na análise foi determinado pelos constituintes das glândulas metatorácicas de machos e fêmeas de *E. heros* e explicou 45,91% da variância. O segundo componente foi determinado pelos constituintes das glândulas metatorácicas de machos e fêmeas de *P. nigrispinus* e explicou 37,32% da variância. Os constituintes foram separados em dois grupos sendo (*E*)-hex-2-enal, , tridecano e tetradecano associados para ambas as espécies (Fig. 4).

A classificação baseada na AFD revelou 100% de alocação correta de todos os constituintes selecionados ao grupo predito (Fig. 5), sendo que para ambas as espécies de percevejos e sexos, todos os grupos foram completamente separados. Os compostos (*E*)-hex-2-enal, tridecano e tetradecano discriminaram 100% as espécies e sexos ( $\lambda = 2.39E^{-07}$ ;  $P < 0.0001$ ).

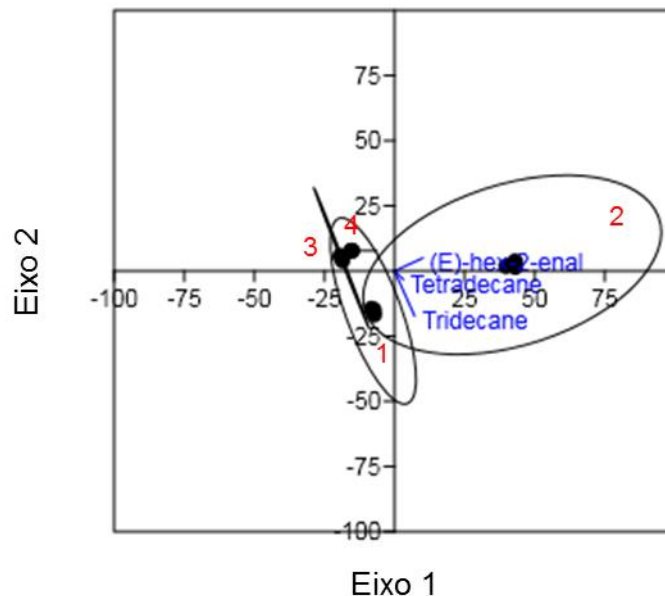


**Tabela 2.** Associação positiva entre os constituintes das glândulas metatorácicas.

Composto	Associações
but-3-in-1-ol	( <i>E</i> )-hex-2-enal, (2 <i>E</i> )-2-ácido hexanóico, alil metalil éter, 1,7-nonadien-4-ol4,8-dimetil, 2-metilundecano e tetradecano
oct-2-enal	Octanal, metil3,6-dimetil-5-oxoheptanoato, dodecano, ácido hexanóico2-hexenil éster, [( <i>E</i> )-undec-2-enil] acetato, 1,2-hexadecano óxido, pentadecanal, ( <i>E</i> )-octadec-10-enal, docosano, 2-metiltetracosano e nonacosano
( <i>E</i> )-hex-2-enal	(2 <i>E</i> )-2-ácido hexenóico , alil metalil éter, 1,7-nonadien-4-ol4,8-dimetil, 2-metilundecano e tetradecano
tridecano	1,7-nonadien-4-ol4,8-dimetil, 2-metilundecano, tetradecano, hexadecano, 2-metilpentadecano, 2-metilheptadecano, 2-metiloctadecano, não identificado 14, não identificado 15, não identificado 16 e não identificado 17
4-oxo-( <i>E</i> )-2-hexenal	[( <i>Z</i> )-hex-2-enil]acetato, ácido ( <i>E</i> )-hex-2-enóico, pentan-1-ol, metil3,6-dimetil-5-oxoheptanoato, ácido hexanóico 2-hexenil éster, ( <i>E</i> )-octadec-10-enal, docosano, 2-metiltetracosano, heptacosano, octadecano9-etil-9-heptil- e nonacosano
octanal	metil3,6-dimetil-5-oxoheptanoato, dodecano, ácido hexanóico 2-hexenil éster, [( <i>E</i> )-undec-2-enil] acetato, 1,2-óxido hexadecane , pentadecanal, ( <i>E</i> )-octadec-10-enal, docosano, 2-metiltetracosano, heptacosano, octadecano9-etil-9-heptil- e nonacosano
(2 <i>E</i> )-2-ácido hexenóico	Alil metalil éter, tridecano, 1,7-nonadien-4-ol4,8-dimetil, 2-metilundecano, tetradecano, não identificado 14
pentan-1-ol	Ácido hexanóico 2-hexenil éster, ( <i>E</i> )-octadec-10-enal, docosano, 2-metiltetracosano, heptacosano, octadecano9-etil-9-heptil-, nonacosano
[( <i>Z</i> )-hex-2-enil]acetato	( <i>E</i> )-ácido hex-2-enóico , octanal, pentan-1-ol, metil3,6-dimetil-5-oxoheptanoato, ácido hexaóico 2-hexenil éster, [( <i>E</i> )-undec-2-enil] acetato, pentadecanal, ( <i>E</i> )-octadec-10-enal, Docosano, 2-metiltetracosano, Heptacosano, octadecano9-etil-9-heptil- e nonacosano
metil3,6-dimetil-5-oxoheptanoato	Dodecano, ácido hexanóico 2-hexenil éster, [( <i>E</i> )-undec-2-enil] acetato, 1,2-hexadecano óxido, pentadecanal, ( <i>E</i> )-octadec-10-enal, docosane, 2-metiltetracosano, heptacosano, octadecano9-etil-9-heptil- e nonacosano
Alil pentil éter	Tridecano, (2 <i>E</i> )-2-decenil acetato, hexadecano, 2-metilpentadecano, 2-metiloctadecano, não identificado (14), não identificado (15), não identificado (16), não identificado (17)
1,7-Nonadien-4-ol4,8-dimetil	2-metilundecano, tetradecano e não identificado 17
Ácido ( <i>E</i> )-hex-2-enóico	pentan-1-ol, metil3,6-dimetil-5-oxoheptanoato, ácido hexanóico 2-hexenil éster, pentadecanal, ( <i>E</i> )-octadec-10-enal, docosano, 2-metiltetracosano, heptacosano, octadecano9-etil-9-heptil- e nonacosano
2-Metilundecano	Tetradecano, não identificado 14, não identificado 15, não identificado 16 e não identificado 17
Alil metalil éter	Tridecano, 1,7-nonadien-4-ol4,8-dimetil, 2-metilundecano, tetradecano, não identificado (14), não identificado (17)
Dodecano	Ácido hexanóico 2-hexenil éster, [( <i>E</i> )-undec-2-enil] acetato, 1,2-óxido hexadecane , pentadecanal, ( <i>E</i> )-octadec-10-enal e docosane, 2-metiltetracosano e nonacosano
(2 <i>E</i> )-2-Decenil acetato	hexadecano, 2-metilpentadecano, 2-metilheptadecano, 2-metiloctadecano, não identificado 15, não identificado 16
Tetradecano	não identificado 14, não identificado 15, e não identificado 17
Ácido hexanóico 2-hexenil éster	[( <i>E</i> )-undec-2-enil] acetato, 1,2-óxido hexadecano , pentadecanal, ( <i>E</i> )-octadec-10-enal e Docosane, 2-metiltetracosano, heptacosano, octadecano9-etil-9-heptil- e nonacosano,
Hexadecano	2-metilpentadecano, 2-metilheptadecano, 2-metiloctadecano, não identificado 14, não identificado 15, não identificado 16 e não identificado 17
2-Metilpentadecano	2-metilheptadecano, 2-metiloctadecano, não identificado 14, não identificado 15, não identificado 16 e não identificado 17
[( <i>E</i> )-undec-2-enil] acetato	1,2-óxido hexadecano, pentadecanal, ( <i>E</i> )-octadec-10-enal, docosano, 2-metiltetracosano, heptacosano, octadecano9-etil-9-heptil- e nonacosano
1,2-óxido hexadecano	pentadecanal, ( <i>E</i> )-octadec-10-enal 2-metiltetracosano, nonacosano
Pentadecanal	( <i>E</i> )-octadec-10-enal, docosano, 2-metiltetracosano, heptacosano, octadecano9-etil-9-heptil- e nonacosano
( <i>E</i> )-octadec-10-enal	Docosane, 2-metiltetracosano, heptacosano, octadecano9-etil-9-heptil- e nonacosano
Docosano	2-metiltetracosano, heptacosano, octadecano9-etil-9-heptil- e nonacosano
2-Metilheptadecano	2-metiloctadecano, não identificado 14, não identificado 15, não identificado 16 e não identificado 17
não identificado 14	não identificado 15, não identificado 16 e não identificado 17
2-Metiloctadecano	identificado 14, não identificado 15, não identificado 16 e não identificado 17
Heptacosano	Octadecano9-etil-9-heptil- e nonacosano
2-metiltetracosano	Heptacosano, octadecano9-etil-9-heptil- e nonacosano
não identificado 15	não identificado 16 e não identificado 17
Octadecano9-etil-9-heptil-	Nonacosano
não identificado 16	não identificado 17



**Figura 4.** Gráfico das coordenadas da análise de componentes principais (ACP) dos valores machos e fêmeas de *P. nigrispinus* e *E. heros*. PC - Principal componente explicando a variância total entre parênteses. Variáveis foram mostradas como vetores, os dos perfis das moléculas químicas foram mostrados como círculos pretos para cada região do biplot. 1) but-3-in-1-ol, 2) (*E*)-hex-2-enal, 3) (*2E*)-2-ácido hexenóico, 4) alil pentil éter, 5) alil metalil éter, 6) tridecano, 7) 1,7-nonadien-4-ol, 4,8-dimetil, 8) 2-metilundecano, 9) tetradecano, 10) hexadecano, 11) 2-metil pentadecano, 12) 2-metilheptadecano, 13) 2-metiloctadecano, 14) não identificado, 15) não identificado, 16) não identificado, 17) não identificado, 18) 4-oxo-(*E*)-2-hexenal, 19) [(*Z*)-hex 2-enil]acetato, 20) ácido (*E*)-hex-2-enóico, 21) (*E*)-oct-2-enal, 22) octanal, 23) pentan-1-ol, 24) metil 3,6-dimetil-5-oxoheptanoato, 25) dodecano, 26) (*2E*)-2-decenil acetato, 27) ácido hexanóico, 2-hexenil éster, 28) (*2E*)-2-undecenil acetato, 29) 1,2- óxido hexadecane, 30) pentadecanal, 31) (*10E*)-10-octadecenal, 32) docosano, 33) 2-metiltetracosano, 33) heptacosano, 35) octadecano, 9-etil-9-heptil-, 36) nonacosano



**Figura 5.** Análise discriminante dos perfis químicos dos constituintes similares encontrados nas glândulas metatorácicas dos percevejos, predador e fitófago: *P. nigrispinus* macho (1), *P. nigrispinus* fêmea (2), *E. heros* macho (3) e *E. heros* fêmea (4).

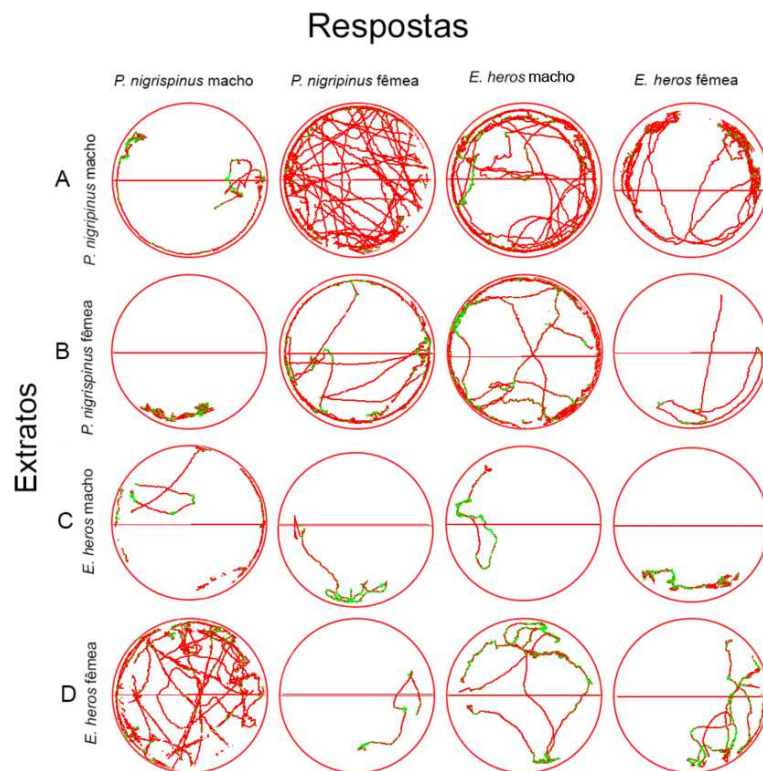
Os machos e as fêmeas de ambas as espécies expostos ao extrato da glândula metatorácica de machos de *P. nigrispinus* tiveram pelo menos uma diferença entre si quanto a distância percorrida de acordo com a análise de variância ( $F_{3,35}=7,21$ ,  $P < 0,001$ ). Fêmeas de ambas as espécies mostraram maior distância de caminamento seguidas pelo macho de *E. heros*. Os Machos de *P. nigrispinus* e *E. heros* tiveram maior tempo de parada, seguidos das fêmeas de *E. heros* e *P. nigrispinus*, com pelo menos um tratamento diferindo dos demais quanto ao tempo de parada ( $F_{3,35}=15,51$ ,  $P < 0,001$ ), (Figs. 6 linha A; figs. 7A-B).

Machos e as fêmeas de ambas as espécies expostos ao extrato da glândula metatorácica de fêmeas de *P. nigrispinus*, tiveram pelo menos uma diferença entre si quanto a distância percorrida ( $F_{3,35}=3,34$ ,  $P < 0,006$ ), com maior distância percorrida para machos de *E. heros* seguido dos demais. Fêmeas de ambas as espécies tiveram maior tempo paradas seguidas dos machos de *P. nigrispinus* e *E. heros*, com pelo

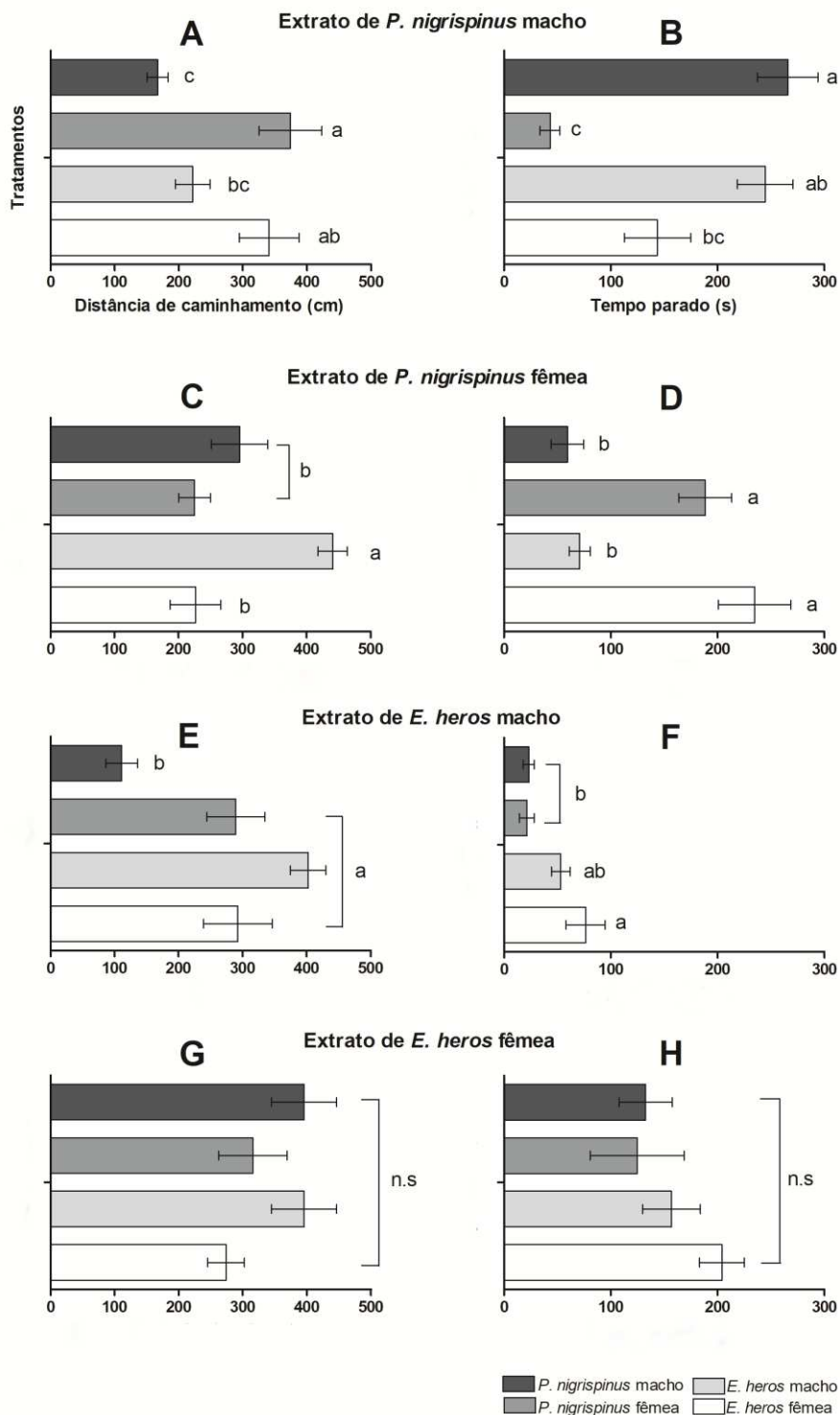
menos uma diferença entre as variáveis quanto ao tempo de parada ( $F_{3,35}=4,33$ ,  $P < 0,001$ ), (Figs. 6 linha B; figs. 7C-D).

Os machos e as fêmeas de ambas as espécies mostraram pelo menos uma diferença entre si quanto a distância percorrida ( $F_{3,35}=2,85$ ,  $P < 0,015$ ). As fêmeas de *P. nigrispinus*, os machos e as fêmeas de *E. heros* mostraram maior distância percorrida em resposta ao extrato da glândula metatorácica de machos de *E. heros* seguidos de *P. nigrispinus* macho. As fêmeas e machos de *E. heros* tiveram maior tempo parados seguidos por machos e fêmeas de *P. nigrispinus* com pelo menos uma diferença entre si ( $F_{3,35}=3,45$ ,  $P < 0,005$ ) (Figs. 6 linha C; figs. 7E-F).

Percevejos expostos ao extrato da glândula metatorácica de fêmeas de *E. heros* não mostraram diferenças na distância percorrida ( $F_{3,35}=1,66$ ,  $P = 0,145$ ) e no tempo parados ( $F_{3,35}=1,45$ ,  $P < 0,215$ ) (Figs. 6 linha D; figs. 7G-H).



**Figura 6.** Faixas representativas mostrando a atividade de caminhamento de machos e fêmeas de duas espécies *P. nigrispinus* e *E. heros* em placas de metade norte tratada com extratos das glândulas metatorácicas. Trajetos vermelhos indicam caminhamento em alta velocidade e trajetos verdes indicam baixa (inicial) velocidade.



**Figura 7.** Distância percorrida e tempo de parada (Média  $\pm$  EP) dos machos e fêmeas de *P. nigrispinus* e *E. heros* submetidos às interações dos extratos das glândulas (valores estimados das interações) por 10 min. Barras com letras diferentes variam pelo teste de separação média de Tukey ( $P < 0,05$ ). ns- não significativo.

#### 4. Discussão

Os compostos identificados nas glândulas metatorácicas de machos e fêmeas de *P. nigrispinus* e *E. heros*, são similares àqueles descritos para outros pentatomídeos, com predomínio de tridecano na maioria das espécies (Pareja, 2007; Fávaro et al., 2011; Fávaro & Zarbin, 2012; Lopes et al., 2015). Nas glândulas metatorácicas de adultos e ninfas de Heteroptera, as principais classes de compostos defensivos incluem cadeias curtas de álcoois, monoterpenos, aldeídos, (*E*)-2-alcanos, 4-oxo-(*E*)-2-alquenos, alcanos, monoterpenos, ésteres e álcoois aromáticos (Millar, 2005).

Dentro de um mesmo grupo de insetos, encontramos variações na composição glandular, embora muitas moléculas se conservem, principalmente devido a suas funções biológicas. Entre espécies predadoras, como *Eocanthecona furcellata* (Hemiptera: Pentatomidae), (*E*)-2-decenal, (*E,Z*)-2,4-decadienal, (*E*)-2-hexenal e (*E,Z*)-2,4-decadienal são os componentes glandulares mais abundantes (Ho et al., 2003). Já entre *P. nigrispinus*, *P. distinctus* e *Supputius cincticeps*, os principais compostos são 4-oxo-(*E*)-2-hexenal, undecano, alfa terpineol, (*E*)-2-decenal e tridecano (Aldrich et al., 1997). Entre percevejos fitófagos, os principais compostos descritos para *Chinavia impicticornis*, *C. ubica*, *Dichelops melacanthus*, *Euschistus heros*, *Piezodorus guildinii*, *Thyanta perditor* e *Tibraca limbativentris* são, 2-alcenais, o isômero *E*, hidrocarbonetos alifáticos saturados e 4-oxo-(*E*)-2-alcenal (Moraes et al., 2008), o que mostra variações entre os compostos das glândulas, mesmo para espécies próximas.

Os alcanos representam o grupo com maior número de moléculas nas glândulas metatorácicas de *P. nigrispinus* e *E. heros* e podem ter a função de fixadores de odor. Hidrocarbonetos como hexacosano, tetracosano, tricosano, octacosano, podem funcionar como solventes, modulando a evaporação dos constituintes voláteis, agindo como “fixadores de odor” além de auxiliarem na penetração dos compostos pela cutícula do inseto inimigo (Remold, 1962; Aldrich, 1988).

Os dados mostram que o aldeído (*E*)-2-hexenal ocorre em ambas as espécies estudadas. Essa molécula apresenta maior capacidade de penetração pela cutícula do inseto alvo por ser de cadeia curta e pode agir em sinergismo com o tridecano

(Gunawardena & Herath, 1991) que também ocorre em ambas as espécies, potencializando seus efeitos.

O extrato das glândulas de machos e fêmeas de *P. nigrispinus* apresenta dois éteres, alil pentil éter e alil metalil éter que são reportados pela primeira vez entre os compostos nas glândulas metatorácicas de Heteroptera. Grupos éteres geralmente são pouco reativos, portanto fazem parte de uma classe de substâncias orgânicas amplamente usadas como solventes, sendo voláteis e com toxicidade relativamente baixa comparado a outras classes (Manahan, 2002). O grupo alil é um derivado da degradação da alicina, um composto natural responsável pelo cheiro e gosto peculiar do alho (*Allium sativum*) (Slusarenko et al., 2008).

A alicina é responsável pelas atividades antimicrobianas do alho (Cavallito & Bailey, 1944), apresentam ação antifúngica e antiparasitária (Curtis et al., 2004); há estudos sobre seus efeitos em plantas, em células humanas e animais (Ngo et al., 2007; Borlinghaus et al., 2014). Além disso, podem causar efeitos letais e subletais de repelência, funcionando como inseticidas (Talamini & Stadnik, 2004; Plata Rueda et al., 2017). Considerando tais propriedades deste composto, é provável que seus derivados como os éteres encontrados em *P. nigrispinus*, exerçam funções semelhantes na espécie ou que pelo menos estejam envolvidos em rotas metabólicas que sintetizem compostos como a alicina que exerçam tais funções. (Moraes et al., 2008).

Em *P. nigrispinus*, os compostos (*E*)-2-hexenal, tridecano e tetradecano, já haviam sido identificados, os demais representam a primeira identificação para essa espécie (Aldrich et al., 1997). O (*E*)-hex-2-enal ocorreu em maior abundância nas fêmeas, similar ao reportado nas glândulas metatorácicas de *Podisus maculiventris* (Aldrich, 1984), e pode exercer dupla função: ser atraente em baixas concentrações e repelente em altas concentrações, como encontrado em *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) e alguns Pentatomidae. Além disso, o (*E*)-2-hexenal já foi reportado com atividade antimicrobiana (Borges et al. 1993; Durak, 2008).

Em *E. heros*, há cinco ésteres, os quais podem ter função de feromônio de alarme provocando irritabilidade, como reportado para outros Hemiptera (Remold, 1962; Lockwood & Story 1987; Gunawardana & Herath 1991). O 4-oxo-(*E*)-2-hexenal, tridecano, (*E*)-2-hexenal, dodecano e tetradecano presentes no extrato da glândula de *E. heros*, já haviam sido identificados neste percevejo (Pareja, 2007;

Lopes et al., 2015), os demais compostos aqui identificados são reportados pela primeira vez para esta espécie. O dodecano ocorre em maior abundância nos machos de *E. heros* e em *Graphosoma lineatum* (Hemiptera: Pentatomidae), e assim como o tridecano, foram identificados como irritantes ou repelentes (Zarbin et al., 2000). 4-oxo-(*E*)-2-alceno ocorrem apenas em Heteroptera e a sua função biológica é ainda desconhecida (Cokl & Borges, 2017).

Os três compostos (*E*)-hex-2-enal, tridecano, tetradecano encontrados em comum nas duas espécies, separam as mesmas entre si, e para *P. nigrispinus*, separam machos de fêmeas. A separação desses grupos pelas moléculas correlacionadas pode ser devido a diferença de abundância. Mesmo que as substâncias entre diferentes espécies e sexos se repitam, a proporção dessas moléculas, é capaz de tornar diferente a funcionalidade das glândulas, de modo a existir então, uma especificidade entre espécies como reportado para outros Pentatomidae (Pareja et al., 2007) e provavelmente entre os sexos.

Os compostos destas glândulas funcionam como alomônios, mediando interações interespecíficas que conferem vantagens ao emissor, como repelir o inimigo natural ou emitir alertas impedindo outros perigos e feromônios de alarme entre os coespecíficos (Dicke & Sabelis, 1988). A diferença na abundância das moléculas pode ser dose-dependentes, o que também pode explicar as diferentes respostas entre machos e fêmeas. Em *Nezara viridula*, não foi encontrada atividade biológica para o tridecano (Fucarino et al., 2004). Porém, quando sua concentração foi alterada, o inseto mostrou respostas variadas (Lockwood & Story, 1985; Moraes et al., 2008).

A secreção da glândula metatorácica de machos e fêmeas do predador *P. nigrispinus* macho, mostra efeitos repelentes para ambas as espécies assim como a secreção glandular de *P. nigrispinus* fêmea, que também repele as duas espécies. Já a secreção glandular de *E. heros* macho repele apenas coespecíficos. *Podisus nigrispinus* macho causa irritabilidade em *E. heros* e coespecíficos. *Podisus nigrispinus* fêmea causa irritabilidade em apenas *E. heros* enquanto o extrato de *E. heros* macho causa irritabilidade para *P. nigrispinus* e coespecíficos. Tais respostas, já eram esperadas já que ambas as espécies apresentam compostos com atividades repelentes. Além disso, as respostas positivas comportamentais comprovam a funcionalidade defensiva das glândulas metatorácicas.

Os compostos irritantes de *E. heros* podem ser os ésteres, já em *P. nigrispinus*, a resposta pode ser devido à combinação de moléculas ainda não estudadas. Os odorantes das glândulas metatorácicas mediadoras dessas interações são, então, diferentes quanto a sua composição química, o que afeta diretamente nos efeitos subletais de repelência.

### **Considerações finais**

As diferenças na composição química das glândulas existente entre predador e fitófago, podem contribuir com estudos futuros avaliando os efeitos de moléculas isoladas e em sinergismo. É válido testar a toxicidade das moléculas em outros insetos, e avaliar outros efeitos a nível fisiológico ou comportamental. Os efeitos subletais avaliados positivos indicam que, os compostos podem atuar como uma potencial fonte alternativa de inseticidas ou repelentes, colaborando com o desenvolvimento de estratégias sustentáveis de controle de pragas agrícolas.

### **Referências bibliográficas**

- ALDRICH, J.R., 1988. **Chemical ecology of the Heteroptera**. Annual Review of Entomology, 33: 211–238.
- ALDRICH, J.R., ROSI, M.C., BIN, F., 1995. **Behavioral correlates for minor volatile compounds from stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae)**. Journal of Chemical Ecology, 21: 1907–1920.
- ALDRICH, J.R., ZANUNCIO, J.C., VILELA, E.F., TORRES, J., & CAVE, R. D., 1997. **Field tests of predaceous pentatomid pheromones and semiochemistry of Podisus and Supputius species (Heteroptera: Pentatomidae: Asopinae)**. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, 26(1): 1-14.
- ALDRICH, J.R., KOCHANSKY, J.P., LUSBY, W.R., SEXTON, J.D., 1984. **Semiochemicals from a predaceous stink bug, Podisus maculiventris (Hemiptera: Pentatomidae)**. Journal of the Washington Academy of Sciences, 74: 39–46.
- AITCHISON, J., 1986. **The statistical analysis of composition**. London: Chapman & Hall.
- AZAMBUJA, R., DEGRANDE, P., PEREIRA, F., 2013. **Comparative biology of Euschistus heros (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) feeding on cotton and soybean reproductive structures**. Neotropical Entomology, 42: 359–365.

BORGES, M.; COLAZZA, S.; RAMIREZ-LUCAS, P.; CAUHAN, K.R.; MORAES, M.C.B.; ALDRICH, J.R., 2003. **Kairomonal effect of walking traces from *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae) on two strains of *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae).** *Physiological Entomology*, 28: 349-355.

BORGES, M., LAUMANN, R., SILVA, C., MORAES, M., SANTOS H., RIBEIRO, D., 2006. **Metodologias de criação e manejo de colônias de percevejos da soja (Hemiptera-Pentatomidae) para estudos de comportamento e ecologia química.** Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos.

BORLINGHAUS, J., ALBRECHT, F., GRUHLKE, M.C., NWACHUKWU, I.D., & SLUSARENKO, A.J., 2014. **Allicin: chemistry and biological properties.** *Molecules*, 19(8): 12591-12618.

CARVER, M., GROSS, G.F., WOODWARD, T.E., 1994. Hemiptera. In: Naumann ID (ed) **Systematic and applied entomology.** Melbourne University Press, Melbourne, pp 316–329.

CASTELLANOS N., MARTÍNEZ L.C., SILVA E.H., TEODORO A.V., SERRÃO J.E., OLIVEIRA E.E., 2017. **Ultrastructural analysis of salivary glands in a phytophagous stink bug revealed the presence of unexpected muscles.** *PloS One* 12:e0179478.

CAVALLITO, C.; BAILEY, J., 1944. **Allicin, the antibacterial principle of *Allium sativum*. I. Isolation, physical properties and antibacterial action.** *Journal of the American Chemical Society*, 66: 1950–1951.

COHEN A.C., 1998. **Solid-to-liquid feeding: the inside story of extra-oral digestion in predaceous Heteroptera.** *Entomological Society of America*, 44:103–117.

COHEN, A.C., 1996. **Plant feeding by predatory Heteroptera: evolutionary and adaptational aspects of trophic switching.** In: Wiedenmann, R.N.; Alomar, O. (Ed.). *Zoophytophagous Heteroptera: implications for life history and integrated pest management.* Lanham: Entomological Society of America, p.1–17.

CORDEIRO, E.M.G., CORRÊA, A.S., VENZON, M., GUEDES, R.N.C., 2010. **Insecticide survival and behavioural avoidance in the lacewings *Chrysoperla externa* and *Ceraeochrysa cubana*.** *Chemosphere*, 81:1352–1357.

COKL, A., & BORGES, M. (Eds.), 2017. **Stinkbugs: Biorational Control Based on Communication Processes.** CRC Press.

CURTIS, H., NOLL, U., STÖRMANN, J., SLUSARENKO, A.J., 2004. **Broad-spectrum activity of the volatile phytoanticipin allicin in extracts of garlic (*Allium sativum* L.) against plant pathogenic bacteria, fungi and Oomycetes.** *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 65: 79–89.

DEPIERI, R., PANIZZI, A., 2011. **Duration of feeding and superficial and in-depth damage to soybean seed by selected species of stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae).** Neotropical Entomology, 40:197–203.

DICKE, M., SABELIS, M.W., 1988. **Infochemical terminology: based on cost-benefit analysis rather than origin of compounds?** Functional Ecology, 2(2): 131 – 139.

DURAK, D., 2008. **Morphology and chemical composition of metathoracic scent glands in *Dolycoris baccarum* (Linnaeus, 1758) (Heteroptera Pentatomidae).** Acta Zoologica, 89(3): 193-199.

DURAK, D., KALENDER, Y., 2009. **Fine structure and chemical analysis of the metathoracic scent gland secretion in *Graphosoma lineatum* (Linnaeus, 1758) (Heteroptera, Pentatomidae).** Comptes Rendus Biologies, 332: 34–42.

FÁVARO, C.F., RODRIGUES, M.A.D.M., ALDRICH, J.R., ZARBIN, P.H., 2011. **Identification of semiochemicals in adults and nymphs of the stink bug *Pallantia macunaima* Grazia (Hemiptera: Pentatomidae).** Journal of the Brazilian Chemical Society, 22:58–64.

FÁVARO, C.F., ZARBIN, P.H., 2012. **Identificação dos compostos defensivos encontrados nas glândulas metatorácica e abdominais dorsais dos percevejos *Loxa deducta* e *Pellaea stictica* (Heteroptera; Pentatomidae).** Química Nova, 35: 1582–1586.

FUCARINO A., J.G. MILLAR, J.S. MCELFFRESH & S. COLAZZA., 2004. **Chemical and physical signals mediating conspecific and heterospecific aggregation behavior of first instar stink bugs.** Journal of Chemical Ecology, 30: 1257-1269.

GUEDES, N.M.P., GUEDES, R.N.C., FERREIRA, G.H., SILVA, L.B., 2009. **Flight take-off and walking behaviour of insecticide-susceptible and – resistant strains of *Sitophilus zeamais* exposed to deltamethrin.** Bulletin of Entomological Research, 99: 393–400.

GULLAN, P.J., CRANSTON, P.S., 2014. **The insects: an outline of entomology.** John Wiley & Sons.

GUNAWARDENA, N.E., HERATH, H.M.W.K.B., 1991. **Significance of medium chainn-alkanes as accompanying compounds in hemipteran defensive secretions: an investigation based on the defensive secretion of *Coridius janus*.** Journal of Chemical Ecology, 17: 2449–2458.

HO, H. Y., KOU, R., & TSENG, H. K. 2003. **Semiochemicals from the predatory stink bug *Eocanthecona furcellata* (Wolff): Components of metathoracic gland, dorsal abdominal gland, and sternal gland secretions.** Journal of Chemical Ecology, 29(9): 2101-2114.

KHAN, Z.R., JAMES, D.G., MIDEGA, C.A.O., PICKETT J.A., 2008. **Chemical ecology and conservation biological control**. *Biological Control*, 45: 210–224.

LEMOS, W.P., MEDEIROS, R.S., RAMALHO, F.S., ZANUNCIO, J.C., 2001. **Effects of plant feeding on the development, survival, and reproduction of *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae)**. *International Journal of Pest Management*, 27: 89–93.

LEMOS, W.P., RAMALHO, F.S., SERRÃO, J.E., ZANUNCIO, J.C., 2005. **Morphology of female reproductive tract of the predator *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) fed on different diets**. *Brazilian Archives of Biology Technology*, 48: 129–138.

LOCKWOOD, J.A., STORY, R.N., 1985. **Bifunctional pheromone in the first instar of the southern green stink bug, *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae): its characterization and interaction with other stimuli**. *Annals of Entomological Society of America*, 78: 474–79.

LOPES, R.B., LAUMANN, R.A., BLASSIOLI-MORAES, M.C., BORGES, M., FARIA, M., 2015. **The fungistatic and fungicidal effects of volatiles from metathoracic glands of soybean-attacking stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae) on the entomopathogen *Beauveria bassiana***. *Journal of Invertebrate Pathology*, 132: 77–85.

MANAHAN, S., 2002. **Toxicological chemistry and biochemistry**. CRC Press.

MARTÍNEZ, L.C., FIALHO, M.C.Q., BARBOSA, L.C.A., OLIVEIRA, L.L., ZANUNCIO, J.C., SERRÃO, J.E., 2016. **Stink bug predator kill prey with salivary non-proteinaceous compounds**. *Insect Biochemistry Molecular Biology*, 68:71–78.

MARTÍNEZ, L.C., FIALHO, M.D.C.Q., ZANUNCIO, J.C., SERRÃO, J.E., 2014. **Ultrastructure and cytochemistry of salivary glands of the predator *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae)**. *Protoplasma*, 251: 535–543.

MARTÍNEZ, L.C., PLATA-RUEDA, A., ZANUNCIO, J. C., DE SOUZA TAVARES, W., SERRÃO, J.E., 2017. **Comparative morphology of the odoriferous system in three predatory stink bugs (Heteroptera: Asopinae)**. *Protoplasma*, 254: 1965–1972.

MEDEIROS, M.A.; SCHIMIDT, F.V.G.; LOIÁCONO, M.S.; CARVALHO, V.F.; BORGES, M., 1997. **Parasitismo e predação em ovos de *Euschistus heros* (Fab.) (Heteroptera: Pentatomidae) no Distrito Federal, Brasil**. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 26 :397-401.

MILLAR, J. G., 2005. **Pheromones of true bugs**. In *The chemistry of pheromones and other semiochemicals II* (pp. 37-84). Springer Berlin Heidelberg.

MORAES, M.C.B., PAREJA, M., LAUMANN, R.A., BORGES, M., 2008. **The chemical volatiles (semiochemicals) produced by neotropical stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae).** Neotropical Entomology, 37: 489–505.

MOURA, L.A.; GRAZIA, J., 2011. **Record of *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae) preying on *Metrogaleruca obscura* Degeer (Coleoptera: Chrysomelidae).** Neotropical Entomology, 40: 619–621.

NAGNAN, P., CASSIER, P., ANDRE, M., LLOSA, J.F., GUILLAUMIN, D., 1994. **Fine structure and physicochemical analysis of the metathoracic scent glands of *Lincus malevolus* (Rolston) and *L. spurcus* (Rolston) (Heteroptera: Pentatomidae).** International Journal of Insect Morphology and Embryology 23: 355–370.

NEVES R.C.S., TORRES J.B., ZANUNCIO J.C., 2010. **Production and storage of mealworm beetle as prey for predatory stinkbug.** Biocontrol Science and Technology, 20: 1013–1025.

NGO, S.N.T.; WILLIAMS, D.B.; COBIAC, L.; HEAD, R.J., 2007. **Does garlic reduce risk of colorectal cancer? A systematic review.** The Journal of Nutrition, 137: 2264–2269.

PANIZZI A.R., MCPHERSON J.E., JAMES D.G., JAVAHERY M., MCPHERSON R.M., 2000. **Economic importance of stink bugs (Pentatomidae).** In: Schaefer CW, Panizzi AR (eds) Heteroptera of economic importance. CRC, Boca Raton, pp 421–474.

PANIZZI, A.R., SLANSKY F.Jr., 1985. **Review of phytophagous pentatomids (Hemiptera: Pentatomidae) associated with soybean in Americas.** Florida Entomologist, 68(1): 184- 214.

PAREJA M., BORGES M., LAUMANN R.A., MORAES M.C.B., 2007. **Inter- and intraspecific variation in defensive compounds produced by five Neotropical stink bug species (Hemiptera: Pentatomidae)** Journal of Insect Physiology, 53: 639–648.

PLATA-RUEDA, A., MARTÍNEZ, L.C., DOS SANTOS M.H., FERNANDES, F.L., WILCKEN, C.F., SOARES, M.A., SERRÃO, J.E., ZANUNCIO, J.C., 2017. **Insecticidal activity of garlic essential oil and their constituents against the mealworm beetle, *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae).** Scientific Reports, 7:46406.

REMOLD, H., 1963. **Scent-glands of land bugs, their physiology and biological function.** Nature (London), 198: 764–768.

REMOLD, H., 1962. **Über die biologische Bedeutung der Duftdrüsen bei den Landwanzen (Georisae).** – Zeitschrift Fuer Vergleichende Physiologie, 45: 636–694.

SAINI, E., 1994. **Aspectos morfológicos y biológicos de *Podisus connexivus* Bergroth (Heteroptera: Pentatomidae)**. Revista de la Sociedad Entomológica Argentina, 53 :35-42.

SLUSARENKO, A.J., PATEL, A., PORTZ, D., 2008. **Control of plant diseases by natural products: Allicin from garlic as a case study**. European Journal of Plant Pathology, 121: 313–322.

STADDON B.W., 1979. **The scent glands of Heteroptera**. Advances in Insect Physiology, 14: 351–418.

TALAMINI, V.; STADNIK, M.J., 2004. Extratos vegetais e de algas no controle de doenças de plantas, In: TALAMINI, V.; M.J. Stadnik. **Manejo ecológico de doenças de plantas**. Florianópolis: UFSC, p. 45-62.

TRIPLEHORN, C.A. & JOHNSON, N.F., 2011. **Estudo dos insetos**: tradução da 7ª edição de Borror and Delong's introduction to the study of insects. São Paulo, Cengage Learning, p. 809.

ZARBIN, H.G.P., BORGES, M., SANTOS, A.A., OLIVEIRA, A.R.M., SIMONELLI, F. AND MARQUES, A., 2000. **Alarm pheromone system of stink bug *Piezodorus guildinii* (Heteroptera: Pentatomidae)**. – Journal of the Brazilian Chemical Society, 11: 424–428.

ZANUNCIO, T.V., ZANUNCIO, J.C., SAAVEDRA, J.L.D., LOPES, E.D., 1996. **Desenvolvimento de *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) com *Zophobas confusa* Gebien (Coleoptera: Tenebrionidae) comparado a duas outras presas alternativas**. Revista Brasileira de Zoologia, 13(1): 159–164.

ZANUNCIO, J.C.; TORRES, J.B.; BERNARDO, D.L.; CLERCQ, P., 1997. **Effects of prey switching ability on nymphal development of four species of stinkbugs**. Mededelingen Faculteit Landbouwwetenschappen, Universiteit Gent, 62 :483-90.

WEIRAUCH C., SCHUH R.T., 2011. **Systematics and evolution of Heteroptera: 25 years of progress**. Annual Review of Entomology, 56: 487–510.