

AVALIAÇÃO DO FEROMÔNIO SEXUAL SINTÉTICO DE *Tibraca limbativentris* (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) EM LABORATÓRIO E EM LAVOURA DE ARROZ IRRIGADO

Thais Fernanda Stella de Freitas¹ Josué Sant'Ana² Miguel Borges³ Maria Carolina Blassioli Moraes⁴ Raul A. Laumann⁵

Palavras chave: monitoramento; percevejo-do-colmo; olfatométrica

INTRODUÇÃO

O percevejo-do-colmo é uma das espécies mais prejudiciais à cultura do arroz no Brasil, podendo atacar plantas desde o início da fase vegetativa até o enchimento de grãos (Martins *et al.*, 2004). Mesmo existindo metodologia recomendada para amostragem, (SOSBAI, 2016), a constatação da presença do inseto na lavoura é dificultada pelo fato do percevejo ficar abrigado entre os colmos, próximo ao solo.

O feromônio sexual de *T. limbativentris* é produzido pelo macho (Borges *et al.*, 2006) e constitui-se de dois isômeros do sesquiterpeno 1,10-bisaboladien-3-ol (zingiberenol). Ensaio de olfatométrica evidenciaram que ambos os compostos são atrativos às fêmeas, porém houve resposta maior para o isômero 7S zingiberenol apenas em relação ao controle, não havendo diferença significativa quando o mesmo foi contrastado com o isômero 7R zingiberenol. Contudo, a campo, foram registradas capturas apenas com septos contendo 7R zingiberenol. Apesar dos resultados positivos para este grupo (7R), é necessário a avaliação de outras misturas de isômeros que potencializem as capturas. Este trabalho objetivou avaliar as respostas de fêmeas de *T. limbativentris* a septos de borracha impregnados com quatro misturas de diastereoisômeros do zingiberenol, combinados 2 a 2, em testes de laboratório e campo.

MATERIAL E MÉTODOS

Adultos de *T. limbativentris* foram coletados em diversas lavouras de arroz irrigado do Rio Grande do Sul. A criação ocorreu em sala climatizada no Laboratório de Etologia e Ecologia Química (LEEQI) da UFRGS, adaptando a metodologia proposta por Silva *et al.* (2004). Septos de borracha impregnados com as misturas feromonais foram fornecidos pelo Dr. Ashot Khirikian, do Invasive Insect Biocontrol and Behavior Laboratory do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (Maryland-USDA). Estes foram impregnados com 4 mg de dois dos isômeros do zingiberenol ou hexano (controle) totalizando cinco tratamentos: a) zingiberenol 1 (3S,6S,7R + 3R,6R,7R); b) zingiberenol 2 (3R,6S,7R + 3S,6R,7R); c) zingiberenol 3 (3S,6S,7S + 3R,6R,7S); d) zingiberenol 4 (3R,6S,7S + 3S,6R,7S) e e) controle. Estas misturas foram avaliadas em testes de campo e em laboratório, com testes de olfatométrica.

Olfatométrica - Os ensaios foram conduzidos com fêmeas virgens de *T. limbativentris* com idade entre 15 e 30 dias. O comportamento quimiotático foi observado em olfatômetro "Y" de vidro de dupla escolha, com diâmetro de 6,5 cm, arena inicial de 22 cm, bifurcada em dois braços de 8 cm cada. Uma fêmea foi colocada na extremidade inicial do olfatômetro e os septos de borracha no final dos braços, sendo as fêmeas submetidas à escolha entre o controle e um dos tratamentos contendo os isômeros do zingiberenol, além do contraste entre todos os diastereoisômeros. As respostas foram consideradas positivas quando os insetos percorreram, pelo menos, 4 cm dentro dos braços contendo os tratamentos e

¹ Eng. Agr., Dra., Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 7712, CEP 91540-000 – Porto Alegre, RS, thaisfs@gmail.com

² Biólogo, Dr., professor do Departamento de Fitossanidade da UFRGS

³ Biólogo, Dr., pesquisador da EMBRAPA Recursos genéticos e Biotecnologia

⁴ Química, Dra., pesquisadora da EMBRAPA Recursos genéticos e Biotecnologia

permaneceram nesta área por, no mínimo, um minuto. Foram considerados não responsivos os que não se movimentaram nos primeiros 5 minutos ou quando não percorreram pelo menos 4 cm em nenhum dos dois braços do olfátômetro, em 10 minutos. Foram realizadas 40 repetições por tratamento. Os resultados foram comparados pelo teste de Qui-quadrado de aderência ($\alpha = 0,05$) utilizando o software Bioestat[®] 5.0.

Teste de campo - O trabalho foi conduzido nas safras 2013/2014 e 2014/2015 em lavoura no município de Eldorado do Sul, RS (30°02'28.4"S; 51°20'29.3"O), de aproximadamente 2 ha cultivado no sistema pré-germinado com Epagri 108. Os experimentos foram instalados cerca de 20 dias após a sementeira e as avaliações foram realizadas até a colheita, resultando em 17 semanas de amostragens no primeiro ano e em 18 no segundo. Armadilhas de garrafas PET de 2 L foram confeccionadas conforme sugerido por Pires *et al.* (2006) e iscadas com um septo de borracha contendo um dos tratamentos. O delineamento experimental foi de blocos casualizados, com quatro repetições. Blocos e tratamentos ficaram equidistantes (30 m). As armadilhas foram rotacionadas dentro de cada bloco a cada 14 dias e os septos foram substituídos a cada 28 dias. As amostragens foram realizadas semanalmente, no turno da manhã. Os percevejos capturados foram LEEQI, onde foram contabilizados, identificados e separados por sexo. Nas mesmas ocasiões das amostragens, também foi estimado o nível populacional de *T. limbativentris* da área, utilizando uma armação de PVC de 1 m², em 4 pontos em cada bloco, previamente sorteados, distantes aproximadamente 10 m das armadilhas. As plantas presentes no quadrado foram examinadas por 5 minutos na fase vegetativa e por 10 na reprodutiva, observando o número de fêmeas, machos e ninfas. O efeito de ano foi avaliado para o número de fêmeas capturadas em cada tratamento e para a população de insetos (apenas número de fêmeas e o somatório de fêmeas, machos e ninfas) observada nas inspeções visuais, utilizando modelo linear generalizado (GLM) com distribuição de Poisson e função de ligação logarítmica. Como não houve diferença entre anos, foi avaliada a média de fêmeas capturadas por tratamento e a média de insetos observada durante as 35 semanas de experimento, utilizando o mesmo modelo estatístico, conforme Pires *et al.* (2006) e Borges *et al.* (2011). O número de fêmeas capturadas em cada tratamento foi comparado com a população total (considerando fêmeas, machos e ninfas de *T. limbativentris*) e com o número de fêmeas que estava nos pontos de amostragem próximos, utilizando o mesmo modelo. Quando houve diferença entre tratamentos, as médias foram contrastadas utilizando a diferença mínima significativa. Todas as análises do teste de campo foram feitas com o software SPSS[®] 17.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No bioensaios em olfatométrica fêmeas de *T. limbativentris* foram mais atraídas pelo tratamento Z1 (7R) em comparação ao hexano ($\chi^2 = 4,9$; gl= 1; P= 0,023). Não houve diferença nos demais contrastes dos diastereoisômeros com hexano ($\chi^2 = 0,4$; gl= 1; P = 0,53) (Figura 1 A). Quando as fêmeas foram expostas a escolha entre isômeros, foram mais atraídas pelo Z1 (3S,6S,7R + 3R,6R,7R) apenas quando contrastadas com Z4 (3R,6S,7S + 3S,6R,7S) ($\chi^2=4,9$; gl=1; P=0,023). Nos demais testes, não houve diferença entre tratamentos (P > 0,05) (Figura 1 B).

Não houve diferença entre as safras 2013/2014 e 2014/2015 para o número de fêmeas coletadas nas armadilhas ($\chi^2 = 0,995$; gl = 1; P = 0,319), para as observadas nas inspeções visuais ($\chi^2 = 0,076$; gl = 1; P = 0,782) e para a população total amostrada nas inspeções visuais ($\chi^2 = 0,258$; gl = 1; P = 0,612). O número de fêmeas coletadas nas armadilhas variou entre tratamentos ($\chi^2 = 32,92$; gl = 4; P < 0,001), sendo maior nas iscadas com o tratamento Z1, que teve média de captura de 5,75 fêmeas (Figura 2). O número de fêmeas/m² observadas nas inspeções visuais também variou de acordo com os tratamentos dos quais estavam próximas ($\chi^2 = 17,099$; gl = 4; P = 0,002), mas não entre blocos ($\chi^2 = 2,870$; gl = 3; P = 0,412). Nas inspeções próximas às armadilhas iscadas com o tratamento Z1, a média

foi de 3,25 fêmeas/m² ($\chi^2 = 6,07$; $P = 0.014$), superior aos das armadilhas iscadas com os demais (Figura 2).

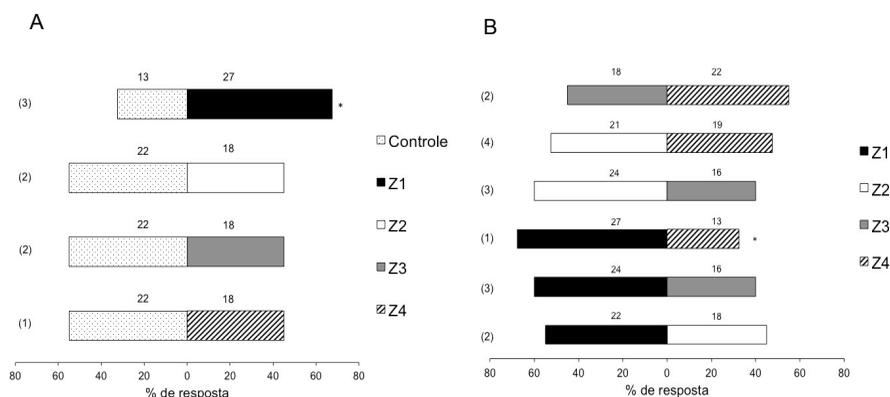


Figura 1. Respostas quimiotáticas (%) de fêmeas de *Tibraca limbativentris* testadas em olfatômetro em Y a septos de borracha impregnados com quatro misturas de diastereoisômeros do zingiberenol, em contraste com o controle (A) e em contraste entre misturas (B). Valores sobre as barras indicam o número de insetos responsivos e, entre parênteses, os não responsivos. Asterisco indica diferença significativa pelo teste de Qui-quadrado ($P < 0.05$).

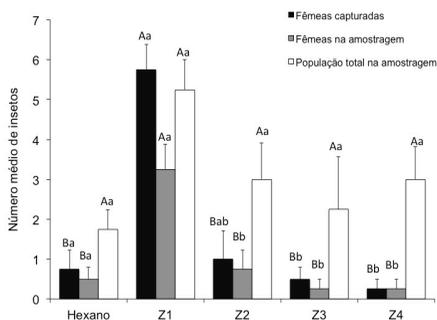


Figura 2. Número médio (\pm EP) de fêmeas de *Tibraca limbativentris* capturadas por armadilha do tipo PET, de fêmeas observadas e da população total (fêmeas + machos + ninfas) observada nos pontos de amostragem próximos às armadilhas iscadas com septos de borracha impregnados com quatro misturas de diastereoisômeros do zingiberenol. Eldorado do Sul, RS, safras 2013/2014 e 2014/2015. Letras maiúsculas indicam a comparação de uma variável entre os tratamentos e minúsculas o efeito de tratamento para diferentes variáveis pelo método de diferença mínima significativa ($P < 0,05$).

Os resultados indicam que o tratamento Z1 contém uma mistura feromonal mais atrativa para as fêmeas de *T. limbativentris* que os demais tratamentos. No teste de olfatométrica, a preferência pela mistura Z1 apenas em relação a Z4 evidencia que esta última é a menos atrativa para as fêmeas e que as demais não são diferenciadas quando comparadas à Z1. A não diferenciação ocorreu, provavelmente, porque os insetos percebem de forma diferente os compostos isolados ou em mistura, assim como diferentes misturas com uma mesma substância. Isto também explica o fato de que os isômeros que compunham o tratamento 7S, mais atrativa em relação ao controle do que a 7R nos testes de Borges *et al.* (2006) e Machado (2015), continuam a mistura de isômeros que no presente estudo estão nos

tratamentos Z3 [(3S, 6S, 7S) + (3R, 6R, 7S)] e o Z4 [(3R, 6S, 7S) + (3S, 6R, 7S)]. A mistura Z1 [(3S, 6S, 7R) + (3R, 6R, 7R)] deste estudo estava junto com a Z2 [(3R, 6S, 7R) + (3S, 6R, 7R)] no tratamento 7'R.

No campo, o maior número de capturas de fêmeas nas armadilhas iscadas com o tratamento Z1 corrobora os resultados de laboratório. Em conformidade, houve maior número de fêmeas nos pontos de amostragem próximos às armadilhas iscadas com a mistura Z1 do que nos pontos próximos às demais. Além disso, apenas nas amostragens próximas às armadilhas iscadas com o hexano e Z1 o número de fêmeas foi semelhante ao de insetos na população total (fêmeas + machos + ninfas), evidenciando a maior proporção de fêmeas na população amostrada. Tais resultados também evidenciam a maior atratividade da mistura Z1 às fêmeas de *T. limbativentris*.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos mostraram que um dos isômeros presentes em Z1 é essencial para atração das fêmeas de *T. limbativentris*, tanto no campo como no laboratório. Estudos futuros poderiam conduzir bioensaios com diferentes combinações dos isômeros do zingiberenol para chegar na melhor composição para atração das fêmeas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BORGES, M. *et al.* Sex attractant pheromone from the rice stalk stink bug, *Tibraca limbativentris* Stal. **Journal of Chemical Ecology**, New York. v.32, n.12, p.2749-2761, 2006.

BORGES, M. *et al.* Monitoring the Neotropical brown stink bug *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) with pheromone-baited traps in soybean fields. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v.135, p.68-80, 2011.

MACHADO, R. de C. de M. **ECOLOGIA QUÍMICA DE *Tibraca limbativentris* (HEM: PENTATOMIDAE) e *Telenomus podisi* (HYM: PLATYGASTRIDAE): IMPLICAÇÕES NO MANEJO COM FEROMÔNIO SEXUAL SINTÉTICO E NAS INTERAÇÕES TRITRÓFICAS MEDIADAS POR VOLÁTEIS DE *Oryza sativa* (POACEAE)**. 2015, 66f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

MARTINS, J. F. da S.; GRÜTZMACHER, A. D.; CUNHA, U. S. da. Descrição e manejo integrado de insetos-praga em arroz irrigado. IN: **Arroz Irrigado no sul do Brasil** – Brasília, D.F. Embrapa Informação Tecnológica, 2004. p. 635-675.

PIRES, S.S.P. *et al.* Potencial de uso de armadilhas iscadas com o feromônio sexual do percevejo marrom, *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae), para o monitoramento populacional de percevejos praga da soja. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecología**, Costa Rica, n.77, p.70-77, 2006.

SILVA, C.C.A. *et al.* **Ciclo de vida e metodologia de criação de *Tibraca limbativentris* Stål, 1860 (Heteroptera: Pentatomidae) para estudos de ecologia química**. Brasília, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento). 2004. 16p.

SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO (SOSBAI). **Arroz irrigado: Recomendações Técnicas da Pesquisa para o Sul do Brasil**. Bento Gonçalves, RS: SOSBAI, 2016. 200p.