

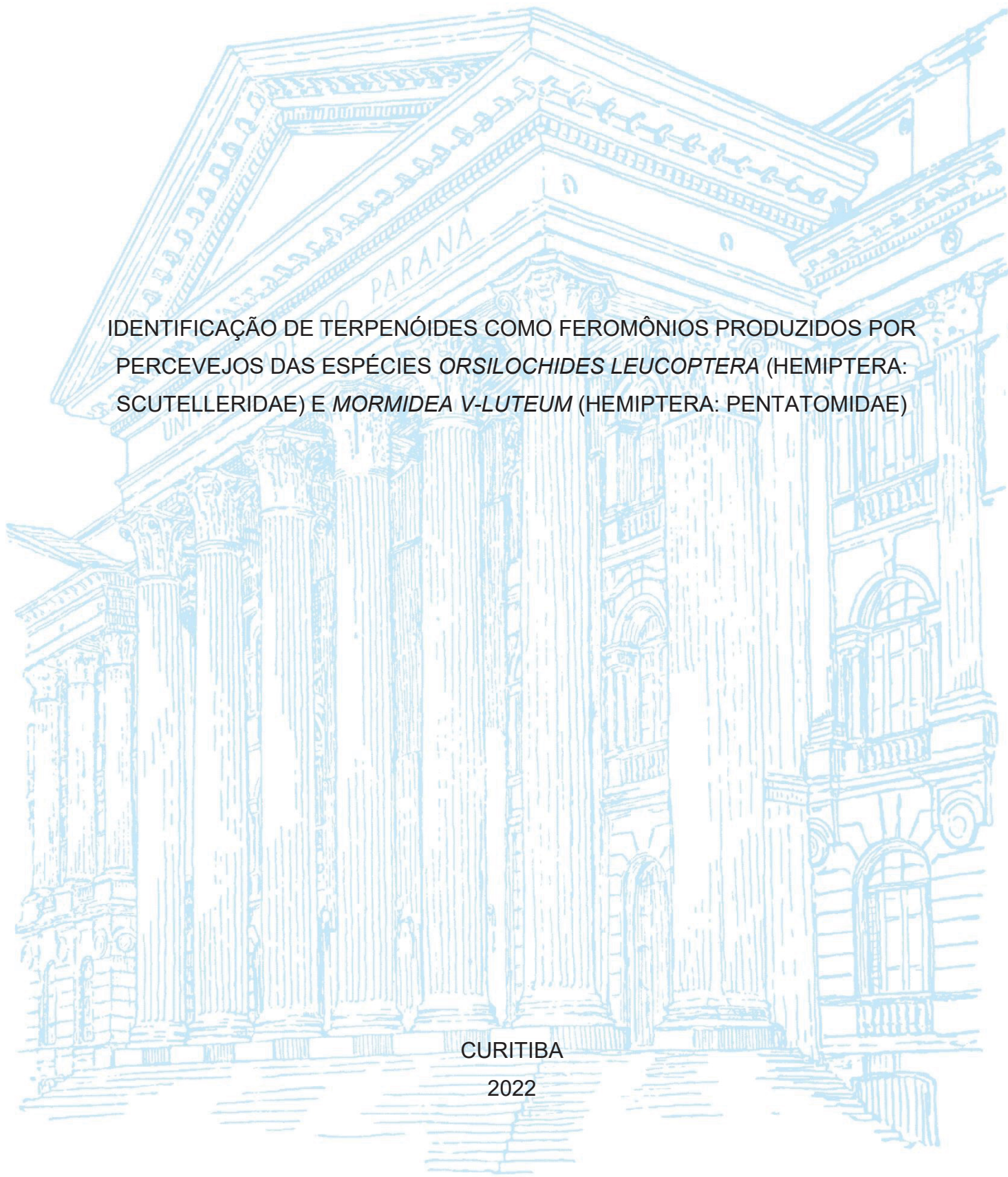
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

DOUGLAS JOSÉ DE MELO

IDENTIFICAÇÃO DE TERPENÓIDES COMO FEROMÔNIOS PRODUZIDOS POR
PERCEVEJOS DAS ESPÉCIES *ORSILOCHIDES LEUCOPTERA* (HEMIPTERA:
SCUTELLERIDAE) E *MORMIDEA V-LUTEUM* (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)

CURITIBA

2022



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

DOUGLAS JOSÉ DE MELO

IDENTIFICAÇÃO DE TERPENÓIDES COMO FEROMÔNIOS PRODUZIDOS POR
PERCEVEJOS DAS ESPÉCIES *ORSILOCHIDES LEUCOPTERA* (HEMIPTERA:
SCUTELLERIDAE) E *MORMIDEA V-LUTEUM* (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Química, Setor de Ciências Exatas, Universidade
Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do
título de Doutor em Química, Área de Concentração
Química Orgânica.

Orientador: Prof. Dr. Paulo H. G. Zarbin

CURITIBA

2022

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

Melo, Douglas José de

Identificação de terpenóides como feromônios produzidos por percevejos das espécies *Orsilochides Leucoptera* (Hemiptera: Scutelleridae) e *Mormidea V-Luteum* (Hemiptera: Pentatomidae) / Douglas José de Melo. – Curitiba, 2022.

1 recurso on-line : PDF.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química.

Orientador: Paulo Henrique Gorgatti Zarbin

1. Feromônios. 2. Percevejo (Inseto). I. Universidade Federal do Paraná. II. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Zarbin, Paulo Henrique Gorgatti. IV . Título.

Bibliotecário: Leticia Priscila Azevedo de Sousa CRB-9/2029

ATA DE SESSÃO PÚBLICA DE DEFESA DE DOUTORADO PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM QUÍMICA

No dia vinte e sete de outubro de dois mil e vinte e dois às 14:00 horas, na sala a definir / híbrido, Centro Politécnico - UFPR, foram instaladas as atividades pertinentes ao rito de defesa de tese do doutorando **DOUGLAS JOSÉ DE MELO**, intitulada: **Identificação de terpenóides como feromônios produzidos por percevejos das espécies Orsilochides leucoptera (HEMIPTERA: SCUTELLERIDAE) e Mormidea v-luteum (HETEROPTERA: PENTATOMIDAE)**, sob orientação do Prof. Dr. PAULO HENRIQUE GORGATTI ZARBIN. A Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação QUÍMICA da Universidade Federal do Paraná, foi constituída pelos seguintes Membros: PAULO HENRIQUE GORGATTI ZARBIN (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ), MOACIR ROSSI FORIM (UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS), LEANDRO PIOVAN (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ), IAN CASTRO-GAMBOA (UNIVERSIDADE EST.PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA FILHO/ARARAQUARA), KAHLIL SCHWANKA SALOME (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ). A presidência iniciou os ritos definidos pelo Colegiado do Programa e, após exarados os pareceres dos membros do comitê examinador e da respectiva contra argumentação, ocorreu a leitura do parecer final da banca examinadora, que decidiu pela APROVAÇÃO. Este resultado deverá ser homologado pelo Colegiado do programa, mediante o atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca dentro dos prazos regimentais definidos pelo programa. A outorga de título de doutor está condicionada ao atendimento de todos os requisitos e prazos determinados no regimento do Programa de Pós-Graduação. Nada mais havendo a tratar a presidência deu por encerrada a sessão, da qual eu, PAULO HENRIQUE GORGATTI ZARBIN, lavrei a presente ata, que vai assinada por mim e pelos demais membros da Comissão Examinadora.

CURITIBA, 27 de Outubro de 2022.

Assinatura Eletrônica

31/10/2022 17:14:40.0

PAULO HENRIQUE GORGATTI ZARBIN

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

27/10/2022 18:00:15.0

MOACIR ROSSI FORIM

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS)

Assinatura Eletrônica

28/10/2022 13:58:02.0

LEANDRO PIOVAN

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

27/10/2022 16:20:44.0

IAN CASTRO-GAMBOA

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE EST.PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA FILHO/ARARAQUARA)

Assinatura Eletrônica

28/10/2022 22:28:53.0

KAHLIL SCHWANKA SALOME

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação QUÍMICA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **DOUGLAS JOSÉ DE MELO** intitulada: **Identificação de terpenóides como feromônios produzidos por percevejos das espécies *Orsilochides leucoptera* (HEMIPTERA: SCUTELLERIDAE) e *Mormidea v-luteum* (HETEROPTERA: PENTATOMIDAE)**, sob orientação do Prof. Dr. PAULO HENRIQUE GORGATTI ZARBIN, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 27 de Outubro de 2022.

Assinatura Eletrônica

31/10/2022 17:14:40.0

PAULO HENRIQUE GORGATTI ZARBIN

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

27/10/2022 18:00:15.0

MOACIR ROSSI FORIM

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS)

Assinatura Eletrônica

28/10/2022 13:58:02.0

LEANDRO PIOVAN

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

27/10/2022 16:20:44.0

IAN CASTRO-GAMBOA

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE EST. PAULISTA JÚLIO DE
MESQUITA FILHO/ARARAQUARA)

Assinatura Eletrônica

28/10/2022 22:28:53.0

KAHLIL SCHWANKA SALOME

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Dedico este trabalho

Aos meus pais, por todo amor, carinho e
companheirismo em todos
os momentos

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, por sempre me apoiarem e acreditarem em todos os meus sonhos.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Paulo Henrique Gorgatti Zarbin, por todos os ensinamentos, incentivos, pela amizade e por todas as oportunidades concedidas durante o período da pós-graduação.

Aos professores Drs. Leandro Piovan, Marcelo Gonçalves Montes D'Oca e Carla Fernanda Fávaro por terem se disponibilizado gentilmente em avaliar este trabalho no exame de qualificação.

Aos professores da pós-graduação em química da UFPR que contribuíram fortemente com minha formação.

À Daiane e ao Diogo, por toda amizade e ajuda sempre que necessário, desde meus primeiros dias no laboratório.

Aos Profs. Drs. Glenn Svensson, Chirster Löfstedt e Erik Hedenström por me receberem em seus grupos de pesquisa durante o período de doutorado sanduiche.

Ao meu companheiro Jean, por toda paciência e apoio em todos os momentos.

Aos colegas do Laboratório de Semioquímicos que me acompanharam durante este tempo, por toda ajuda e pelos momentos descontraídos.

Por fim, agradeço a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a execução deste trabalho, incluindo todos os colegas, técnicos e servidores da UFPR e do departamento de química.

RESUMO

Neste trabalho é descrito o estudo de aspectos relacionados à ecologia química de duas espécies de percevejos, abordando a identificação da estrutura e estereoquímica dos compostos macho-específicos, assim como o estudo da bioatividade em laboratório de tais compostos por meio de testes de bioensaio. Assim, a tese apresentada está organizada em dois capítulos. No primeiro são mostrados os resultados gerados a partir do estudo da espécie *Orsilochides leucoptera*, cujos machos produzem os terpenoides (*R*)-cânfora e (*R*)-borneol. Tais compostos mostraram alta atratividade para as fêmeas da espécie, indicando tratar-se de um feromônio sexual. Nas glândulas metatorácicas (MTG) de machos e fêmeas foram identificados 7 compostos já descritos para outras espécies de percevejos, além de (*R*)- α -terpineol detectado apenas na MTG de machos, sugerindo que este composto pode ter relação à biossíntese da cânfora e borneol. O segundo capítulo trata dos estudos realizados com *Mormidea v-luteum*. Nesta espécie foram identificados 6 compostos macho-específicos, os quais tiveram suas estruturas propostas a partir dos seus espectros de massas e infravermelho. As estruturas sugeridas para tais compostos foram zingiberenol (2 isômeros), murgantiol (3 isômeros) e sesquiperitol (1 isômero), sendo todas confirmadas por meio da comparação do perfil cromatográfico dos voláteis naturais e dos produtos da síntese dos respectivos racematos. A determinação da estereoquímica dos isômeros do zingiberenol e murgantiol foi realizada por meio de diferentes estratégias, sendo identificadas como (1*S*,4*R*,1'*S*)-zingiberenol, (1*R*,4*R*,1'*S*)-zingiberenol, (1*R*,4*R*,1'*S*,4'*R*)-murgantiol, (1*R*,4*R*,1'*S*,4'*S*)-murgantiol e (1*S*,4*R*,1'*S*,4'*S*)-murgantiol. O sesquiperitol detectado provavelmente é um intermediário biossintético para os outros compostos macho-específicos. Testes de bioensaio com os isômeros de zingiberenol e murgantiol mostraram que estes agem possivelmente como feromônio sexual-agregação, sendo o primeiro relato de todos estes compostos juntos em machos de uma mesma espécie.

Palavras-chave: semioquímicos; percevejos; feromônio; cânfora; zingiberenol; murgantiol.

ABSTRACT

This project describes the study of aspects related to the chemical ecology of two species of bed bugs, approaching the identification of the structure and stereochemistry of male-specific compounds, as well as the study of the bioactivity in the laboratory of such compounds through bioassay tests. Thus, the thesis presented is organized in two chapters. The first chapter shows the results generated from the study of the species *Orsilochides leucoptera*, whose males produce the terpenoids (*R*)-camphor and (*R*)-borneol. These compounds showed high attractiveness for females of the species, indicating that it is a sex pheromone. In the metathoracic glands (MTG) of males and females, 7 compounds already described for other species of bugs were identified, in addition to (*R*)- α -terpineol detected only in the MTG of males, suggesting that this compound may be related to camphor and borneol biosynthesis. The second chapter deals with studies carried out with *Mormidea v-luteum*. In this species, 6 male-specific compounds were identified, which had their structures proposed from their mass and infrared spectra. The suggested structures for such compounds were zingiberenol (2 isomers), murgantiol (3 isomers) and sesquipiperitol (1 isomer), all of which were confirmed by comparing the chromatographic profile of the natural volatiles and the synthesis products of the respective racemates. The determination of the isomers stereochemistry of zingiberenol and murgantiol was performed using different strategies, being identified as (1*S*,4*R*,1'*S*)-zingiberenol, (1*R*,4*R*,1'*S*)-zingiberenol, (1*R*,4*R*,1'*S*,4'*R*)-murgantiol, (1*R*,4*R*,1'*S*,4'*S*)-murgantiol and (1*S*,4*R*,1'*S*,4'*S*)-murgantiol. Sesquipiperitol detected is probably a biosynthetic intermediate for the other male-specific compounds. Bioassay tests with the isomers of zingiberenol and murgantiol showed that they possibly act as a sex-aggregation pheromone, being the first report of all these compounds together in males of the same species.

Key words: semiochemicals; bedbugs; pheromone; camphor; zingiberenol; murgantiol.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura do bombycol, feromônio produzido pelas fêmeas do bicho da seda.....	20
Figura 2: Estrutura da exo-bravicomina	21
Figura 3. Análises de CG dos compostos voláteis liberados por machos e fêmeas de <i>O. leucoptera</i> . A imagem ampliada mostra os picos referentes aos compostos sexuais macho-específicos.....	34
Figura 4. Espectro de massas (A e B) e espectro na região do infravermelho (A' e B') dos compostos naturais (1) e (2).....	35
Figura 5. Análises cromatográficas para determinação da configuração estereoquímica dos compostos naturais cânfora (A) e borneol (B).....	36
Figura 6. Análises de CG dos extratos de MTG de machos e fêmeas de <i>O. leucoptera</i>	37
Figura 7. Bioensaios em olfatômetro em Y	40
Figura 8: Cromatogramas dos compostos voláteis produzidos por machos e fêmeas de <i>Mormidea v-luteum</i> . Na imagem ampliada constam os 6 picos dos compostos macho-específicos.....	55
Figura 9: Espectro de massas (A) e espectro na região do infravermelho (A') do composto natural 1, produzido por machos de <i>M. v-luteum</i>	56
Figura 10: Espectro de RMN de ¹ H (200 MHz, CDCl ₃ , TMS) do composto 3,7-dimetil-2-metileno-oct-6-enal (19)	58
Figura 11: Espectro de RMN de ¹³ C (50 MHz, CDCl ₃) do composto 4-(6-metilhept-5-en-2-il)cicloexen-2-ona (20).....	60
Figura 12: Estereoisômeros do <i>cis</i> - e <i>trans</i> -zingiberenol	61
Figura 13: Comparação dos tempos de retenção em coluna capilar DB-5 por meio de cromatogramas do (A) extrato natural de machos da espécie <i>M. v-luteum</i> ; (B) isômeros do <i>cis</i> -zingiberenol (coeluidos); (C) isômeros do <i>trans</i> -zingiberenol; (D) isômeros do <i>cis</i> -murgantiol; (E) isômeros do <i>trans</i> -murgantiol; e (F) uma mistura de isômeros do sesquipiperitol.	62
Figura 14: Espectro de massas (A) e espectro na região do infravermelho (A') do composto natural 15, produzido por machos de <i>M. v-luteum</i>	64

- Figura 15:** Comparação entre o perfil cromatográfico em fase gasosa e coluna capilar com fase estacionária quiral de: zingiberenos racêmicos (A); zingiberenos da desidratação dos isômeros *cis*- e *trans*-(1'R)-zingiberenol (B); zingiberenos da desidratação dos isômeros *cis*- e *trans*-(1'S)-zingiberenol (C); (4*R*,1'S)-zingibereno presente no óleo essencial de gengibre (* curcumeno presente no óleo essencial de gengibre) (D); e zingibereno produzido pela desidratação do extrato natural de machos da espécie *M. v-luteum* (E).. 66
- Figura 16:** Comparação entre o perfil cromatográfico em coluna capilar com fase enantiosseletiva de epoxi-zingiberenos racêmicos (A); (1'S)-epoxi-zingiberenos sintetizados a partir do (1'S)-murgantiol (B); epoxi-zingiberenos sintetizados a partir do óleo essencial de gengibre (C); e epoxi-zingiberenos gerados na desidratação do extrato natural de machos da espécie *M. v-luteum* (D).. 67
- Figura 17:** Comparação entre os perfis cromatográficos em fase enantiosseletiva (coluna capilar β -DEX-325) dos isômeros (1'S)-murgantiol (A); isômeros *cis*-(1'S,4'R)-murgantiol (B); isômeros *cis*-(1'S,4'S)-murgantiol (C); isômeros *trans*-(1'S,4'R)-murgantiol (D); isômeros *trans*-(1'S,4'S)-murgantiol (E); voláteis naturais produzidos por indivíduos machos de *M. v-luteum* (F). 69
- Figura 18:** Respostas comportamentais de machos e fêmeas adultos e virgens para o extrato de machos de *M. v-luteum* e dieta natural (d.n.) versus controle (hexano) em olfatômetro em Y. (*) diferença estatisticamente significativa, $P \leq 0,05$). 70
- Figura 19:** Respostas comportamentais de bioensaios em olfatômetro em Y com machos e fêmeas virgens da espécie *M. v-luteum* frente a (1'S)-zingiberenol e (1'S)-murgantiol versus controle (hexano). (*) Diferença estatisticamente significativa, $P \leq 0.05$. (ns) Diferença estatisticamente não significativa, $P > 0.05$ 70
- Figura 20:** Respostas de machos e fêmeas virgens de *M. v-luteum* para a mistura de (1'S)-zingiberenol e (1'S)-murgantiol (na proporção 6:4) versus o controle (hexano) (barras acima da linha pontilhada) ou (1'S)-zingiberenol (barras abaixo da linha pontilhada) em bioensaios em olfatômetro em Y. (*) Diferença estatisticamente significativa, $P \leq 0.05$. (ns) Diferença estatisticamente não significativa, $P > 0.05$ 71
- Figura 21.** Espectros de massa na região do infravermelho dos compostos (3) e (4) produzidos na MTG de *Orsilochides leucoptera*. A) Espectro de massas do composto 2-(*E*)-hexenal (3). B) Espectro na região do infravermelho do composto 2-(*E*)-hexenal (3). C) Espectro de massas do composto (*E*)-4-oxo-2-hexenal (4). D) Espectro na região do infravermelho do composto (*E*)-4-oxo-2-hexenal (4) 83

Figura 22. Espectros de massa na região do infravermelho dos compostos (5) e (6) produzidos na MTG de <i>Orsilochides leucoptera</i> . A) Espectro de massas do composto acetato de (<i>E</i>)-hex-2-enila (5). B) Espectro na região do infravermelho do composto acetato de (<i>E</i>)-hex-2-enila (5). C) Espectro de massas do composto (<i>R</i>)-3,7-dimethyl-oct-6-en-3-ol (6). D) Espectro na região do infravermelho do composto (<i>R</i>)-3,7-dimetil-oct-6-en-3-ol (6)	84
Figura 23. Espectros de massa na região do infravermelho dos compostos (7) e (9) produzidos na MTG de <i>Orsilochides leucoptera</i> . A) Espectro de massas do composto (<i>R</i>)- α -terpineol (7). B) Espectro na região do infravermelho do composto (<i>R</i>)- α -terpineol (7). C) Espectro de massas do composto 1-trideceno (9). D) Espectro na região do infravermelho do composto 1-trideceno (9).	85
Figura 24. Análises cromatográficas para determinação da configuração do composto natural (<i>R</i>)-linalol (6).	86
Figura 25. Análises cromatográficas para determinação da configuração do composto natural (<i>R</i>)- α -terpineol (8).	86
Figura 26 Análises cromatográficas de: A) mistura de isoborneol e borneol racêmicos obtidos pela redução da cânfora racêmica; B) mistura de (<i>R</i>)-isoborneol (a) e (<i>R</i>)-borneol (c) obtidos pela redução da (<i>R</i>)-cânfora; C) mistura de (<i>S</i>)-isoborneol (b) e (<i>S</i>)-borneol (d) obtidos pela redução da (<i>S</i>)-cânfora; D) extrato natural de machos.	87
Figura 27. Espectro de massas do composto 3,7-dimetil-oct-6-enal (citronelal) (18).	88
Figura 28. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS) do composto 3,7-dimetil-oct-6-enal (citronelal) (18).	88
Figura 29. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) e DEPT 135 (superior) do composto 3,7-dimetil-oct-6-enal (citronelal) (18).	89
Figura 30. Espectro de massas do composto 3,7-dimetil-2-metileno-oct-6-enal (19).	90
Figura 31. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS) do composto 3,7-dimetil-2-metileno-oct-6-enal (19).	90
Figura 32. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) e DEPT 135 (superior) do composto 3,7-dimetil-2-metileno-oct-6-enal (19).	91
Figura 33. Espectro de massas do composto 4-(6-metilhept-5-en-2-il)cicloexen-2-ona (20).	92
Figura 34. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS) do composto 4-(6-metilhept-5-en-2-il)cicloexen-2-ona (20).	92
Figura 35. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) e DEPT 135 (superior) do composto 4-(6-metilhept-5-en-2-il)cicloexen-2-ona (20).	93

Figura 36. Espectro de massas do composto 4-[1,5-dimetilhex-4-enil]-1-metilciclohex-2-en-1-ol (zingiberenol) (21).	94
Figura 37. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS) do composto 4-[1,5-dimetilhex-4-enil]-1-metilciclohex-2-en-1-ol (zingiberenol) (21).	94
Figura 38. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) e DEPT 135 (superior) do composto 4-[1,5-dimetilhex-4-enil]-1-metilciclohex-2-en-1-ol (zingiberenol) (21).	95
Figura 39. Espectro de massas do composto 4-[5'-(5',5'-dimetiloxiran-4'-il)-1'-metilpropil]-1-metilciclohex-2-en-1-ol (murgantiol) (15).	96
Figura 40. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS) do composto 4-[5'-(5',5'-dimetiloxiran-4'-il)-1'-metilpropil]-1-metilciclohex-2-en-1-ol (murgantiol) (15).	96
Figura 41. Espectro de massas do composto 3-metil-6-(6-metilhept-5-en-2-il)ciclohex-2-enol (sesquipiperitol) (14).	97

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1: Síntese do racemato (8 estereoisômeros) do zingiberenol (21)	56
Esquema 2: Mecanismo da reação de Mannich para a formação do aldeído 19	57
Esquema 3: Mecanismo de adição de Michael seguida de condensação aldólica e descarboxilação para a formação da cetona 20.....	59
Esquema 4: Estruturas em ressonância da cetona α,β -insaturada 20.....	60
Esquema 5: Síntese da cetona sesquipiperitona (45), precursor para a síntese do sesquipiperitol (14), via transposição oxidativa do zingiberenol (21)	63
Esquema 6: Síntese do racemato do murgantiol (46) e mecanismo da formação da mistura dos isômeros	64

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Estruturas identificadas em diferentes espécies de percevejos.	23
Tabela 2: Compostos comumente encontrados como compostos defensivos em Pentatomidae.	23
Tabela 3:	25
Tabela 4: Compostos identificados nas Glândulas Metatorácicas de <i>Orsilochides leucoptera</i>	37
Tabela 5. Abundância em ppm (média ± desvio padrão) dos compostos presentes nos extratos de MTG de <i>O. leucoptera</i> usando o teste de normalidade de Shapiro-Wilk, seguido pelo teste de Mann-Whitney ($p < 0.05$).	38

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	19
1. INTRODUÇÃO GERAL	20
1.1 <i>Ecologia química e semioquímicos</i>	20
1.2 <i>Ecologia química de percevejos</i>	22
1.3 <i>Sesquiterpenos e sesquiterpenóides identificados como feromônios em percevejos</i>	24
CAPÍTULO I - Identificação dos Feromônios Sexuais e de Alarme do Percevejo <i>Orsilochides leucoptera</i> (HEMIPTERA: SCUTELLERIDAE)	26
2.1 INTRODUÇÃO	27
2.2 OBJETIVOS	29
2.2.1 <i>Objetivos Gerais</i>	29
2.2.2 <i>Objetivos específicos</i>	29
2.3 MATERIAIS E MÉTODOS	30
2.3.1 <i>Coleta e criação dos insetos</i>	30
2.3.2 <i>Coleta de voláteis dos insetos</i>	30
2.3.3 <i>Extração dos Compostos da Glândula Metatorácica (MTG)</i>	30
2.3.4 <i>Análises Químicas</i>	31
2.3.5 <i>Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectroscopia na Região do Infravermelho (CG-FTIR)</i>	31
2.3.6 <i>Determinação dos Índices de Retenção</i>	31
2.3.7 <i>Cromatografia Gasosa em Fase estacionária Enantiosseletiva</i>	31
2.3.8 <i>Identificação Química</i>	32
2.3.9 <i>Bioensaios</i>	32
2.3.10 <i>Análises estatísticas</i>	33
2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
2.4.1 <i>Identificação dos compostos sexo-específicos produzidos por <i>O. leucoptera</i></i>	34
2.4.2 <i>Identificação dos compostos produzidos nas glândulas metatorácicas de <i>O. leucoptera</i></i>	36
2.4.3 <i>Avaliação comportamental dos insetos frente aos compostos macho-específicos</i>	40
2.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	42

CAPÍTULO II - Identificação dos Feromônios Sexuais do Percevejo <i>Mormidea v-luteum</i> (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)	43
3.1. INTRODUÇÃO	44
3.2 OBJETIVOS	45
3.2.1 <i>Objetivos Gerais</i>	45
3.2.2 <i>Objetivos Específicos</i>	45
3.3 MATERIAIS E MÉTODOS	46
3.3.1 <i>Procedimentos Gerais</i>	46
3.3.2 <i>Coleta e criação dos insetos</i>	47
3.3.3 <i>Cromatografia Gasosa Em Fase Estacionária Quiral</i>	47
3.3.4 <i>Identificação Química</i>	47
3.3.5 <i>Bioensaios</i>	48
3.3.6 <i>Preparação do 3,7-dimetil-oct-6-enal (citronelal) (18)</i>	48
3.3.7 <i>Preparação do 3,7-dimetil-2-metileno-oct-6-enal (19)</i>	49
3.3.8 <i>Preparação do 4-(6-metilhept-5-en-2-il)ciclohex-2-ona (20)</i>	50
3.3.9 <i>Preparação do 4-[1,5-dimetilhex-4-enil]-1-metilciclohex-2-en-1-ol (zingiberenol) (11)</i>	51
3.3.10 <i>Preparação do 4-[5'-(5',5'-dimetiloxiran-4'-il)-1'-metilpropil]-1-metilciclohex-2-en-1-ol (murgantiol) (15)</i>	52
3.3.11 <i>Preparação do 3-metil-6-(6-metilhept-5-en-2-il)ciclohex-2-enol (sesquipiperitol) (14)</i>	53
3.3.12 <i>Microrreações de desidratação</i>	53
3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
3.4.1 <i>Identificação dos compostos voláteis macho-específicos de <i>M. v-luteum</i></i>	55
3.4.2 <i>Determinação da estereoquímica dos compostos 11 e 12 (zingiberenol)</i>	66
3.4.3 <i>Determinação da estereoquímica dos compostos 13, 15 e 16 (murgantiol)</i>	67
3.4.4 <i>Testes de bioensaio em olfátômetro em <i>Y</i></i>	70
3.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	73
4. CONCLUSÃO GERAL	74
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75
6. ANEXO I – ESPECTROS E CROMATOGRAMAS DO CAPÍTULO I	83
7. ANEXO IV – ESPECTROS DO CAPÍTULO II	88

LISTA DE ABREVIATURAS

CG	Cromatografia Gasosa
CG-EM	Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas
CG-FTIR	Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectroscopia na Região de Infravermelho
d.n.	Dieta Natural
EM	Espectrometria de Massas
FID	Detector de ionização em chama (do inglês, <i>flame ionization detector</i>)
HOMO	Orbital molecular ocupado de maior energia (do inglês, <i>Highest Occupied Molecular Orbital</i>)
IR	Índice de Retenção
LUMO	Orbital molecular não ocupado de menor energia (do inglês, <i>Lowest Unoccupied Molecular Orbital</i>)
<i>m</i> -CPBA	Ácido <i>meta</i> -cloroperbenzoico (do inglês, <i>meta-Chloroperoxybenzoic acid</i>)
MTG	Glândula Metatorácica (do inglês, <i>metathoracic gland</i>)
PCC	Clorocromato de piridínio (do inglês, <i>Pyridinium chlorochromate</i>)
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
THF	Tetrahidrofurano
TMS	Tetrametilsilano

APRESENTAÇÃO

A presente tese está dividida em dois capítulos:

CAPÍTULO I - Identificação dos Feromônios Sexuais e de Alarme do Percevejo *Orsilochides leucoptera* (HEMIPTERA: SCUTELLERIDAE).

CAPÍTULO II - Identificação dos Feromônios Sexuais do Percevejo *Mormidea v-luteum* (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1 Ecologia química e semioquímicos

Ecologia química é a ciência que estuda as interações que ocorrem entre os organismos e entre os organismos e seu ambiente por meio de compostos químicos (TRIGO, J. R., et al. 2000). Estas substâncias que transmitem sinais químicos de um organismo para o outro são chamados de semioquímicos, os quais podem desencadear diferentes reações comportamentais ou fisiológicas no receptor. Os semioquímicos geralmente são produzidos pelo próprio organismo a partir de rotas biossintéticas, ou incorporadas por meio da alimentação (CHAPMAN, R. F. 1998). Estes compostos podem ter ação intraespecífica, sendo assim classificados como feromônios, ou ação interespecífica, sendo chamados de aleloquímicos. Os semioquímicos ainda podem ser classificados em relação à espécie beneficiada: os alomônios favorecem o organismo emissor enquanto os cairomônios favorecem o organismo receptor (FERREIRA, J. T. B.; ZARBIN, P. H. G. 1998).

Os insetos são os seres vivos que mais fazem o uso de sinais químicos a fim de desempenhar suas funções vitais, tais como: corte, acasalamento, localização de presas, defesa e agressividade, seleção de plantas hospedeiras e escolha de locais para oviposição (VILELA, E. F.; DELLA LUCIA, T. M. C. 1987).

O primeiro feromônio identificado foi o bombicol, o qual é produzido pelas fêmeas da espécie *Bombyx mori*, uma mariposa conhecida como bicho da seda, e teve sua estrutura determinada por Butenandt e seus colaboradores no ano de 1959 (BUTENANDT, A. et al. 1959). A substância foi isolada e identificada como (10E-12Z)-hexadeca-10,12-dienol (Figura 4), apresentando ação de atração sexual.

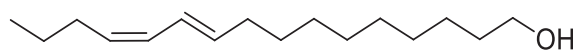


Figura 1: Estrutura do bombicol, feromônio produzido pelas fêmeas do bicho da seda.

Desde então, o estudo de feromônios teve um grande aumento. Foram identificados cerca de 20 feromônios na década de 1960 e, durante a década de 1970, este número passou para mais de 200. No final da década de 1980, já eram conhecidas mais de 1000 estruturas identificados em diferentes espécies de insetos (MOREIRA, M. A. B. et al. 2005). Vários

comportamentos de insetos possuem feromônios como reguladores, entretanto, os de atração sexual são os que apresentam maior potencial de utilização em um programa de controle de pragas (FERREIRA, J. T. et al. 2001).

Dentre os semioquímicos identificados durante a década de 1960, foi relatado o primeiro feromônio opticamente ativo, o (1*R*,5*S*,7*R*)-7-etil-5-metil-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octano, comumente conhecido como *exo*-brevicomina (Figura 2), detectado em besouros da espécie *Dendroctonus brevicomis* como feromônio de agregação (SILVERSTEIN, R. M. 1968).

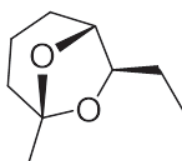


Figura 2: Estrutura da (1*R*,5*S*,7*R*)-7-etil-5-metil-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octano (*exo*-brevicomina).

Devido à pequena quantidade produzida de feromônios pelos insetos (na ordem de μg até ng por indivíduo), dificuldades são encontradas no estudo da determinação da sua estrutura e estereoquímica, impossibilitando o uso de metodologias convencionais para a identificação destes compostos. Assim, uma das formas de contornar esse problema é realizar a síntese enantiosseletiva do feromônio alvo a partir de compostos de configuração conhecida ou indução de quiralidade (MORI, K., 1989).

A determinação da configuração absoluta de um feromônio é de grande importância e deve ser investigada para esclarecer as relações entre estereoquímica e bioatividade (MORI, K.; 1996). Os organismos utilizam a quiralidade para enriquecer e diversificar seu sistema de comunicação e, desta forma, podem produzir compostos nos quais apenas um ou alguns de seus estereoisômeros são biologicamente ativos.

Dentre os compostos quirais, existem muitos casos no qual somente um dos enantiômeros é bioativo, enquanto o outro pode ser inativo ou ainda pode inibir a ação do feromônio. Desta forma, a natureza da estrutura dos feromônios é um fator determinante na percepção dos insetos. Isômeros ópticos ou geométricos podem causar uma grande mudança nos seus comportamentos (MORI, K. 1989).

1.2 Ecologia química de percevejos

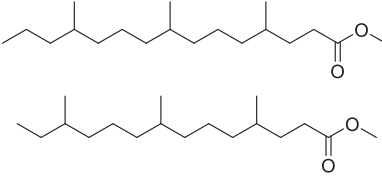
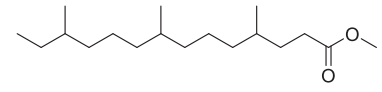
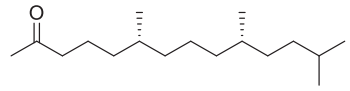
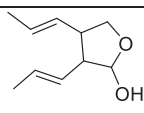
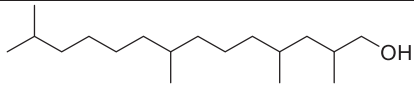
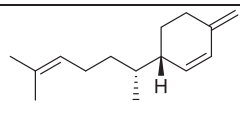
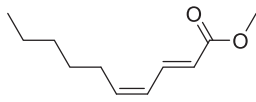
Dentre as famílias de percevejos, a Pentatomidae representa a quarta mais numerosa e diversa entre os hemípteros, distribuídos mundialmente, sendo constituída por aproximadamente 939 gêneros e 4938 espécies (GRAZIA, J. 1999, CARVAJAL, et al., 2019). Tais insetos são conhecidos pela produção de odores desagradáveis que tem por finalidade a defesa contra predação e feromônio de alarme (ALDRICH, J. R. 1988). Embora a família Pentatomidae seja constituída por um grande número de espécies, até 2018 eram conhecidos os feromônios de apenas 43 delas (WEBER, et al., 2018). Em relação à família Scutelleridae, são conhecidas cerca de 450 espécies (Javahery, M. C. W. et al., 2000), porém pouco se sabe sobre a comunicação química desses insetos.

Os pentatomídeos são insetos de vida exclusivamente terrestres, os quais apresentam hábitos fitófagos em sua maioria, alimentando-se de diferentes partes da planta, como sementes, frutos em desenvolvimento ou até flores. Entretanto, a grande maioria se nutre pela extração da seiva das plantas, diretamente de seu sistema vascular, particularmente do floema (GRAZIA, J. 1999).

Na literatura é descrito que os indivíduos machos da classe Hemiptera, em grande maioria, são os responsáveis pela produção e liberação do feromônio sexual, o qual apresenta a função de atrair as fêmeas para sua proximidade (ZGONIK, V., COKL, A., 2014). Também são responsáveis pela produção dos feromônios de agregação para ambos os sexos e ninfas. A exceção foi verificada na espécie *Piezodorus hybneri*, o qual produz aparentemente um feromônio bifuncional, agindo como feromônio sexual ou de agregação, dependendo da época do ano (LEAL, W. S. et al., 1998).

Dentre os feromônios sexuais produzidos por diferentes espécies de percevejos, observa-se uma grande variedade de estruturas, não sendo possível definir um padrão estrutural para estes compostos, como observado para outras famílias ou subfamílias, citando como exemplo os lepidópteros. Estes insetos produzem em sua grande maioria álcoois e seus derivados, assim como hidrocarbonetos de cadeia longa e seus epóxidos derivados. Já para os percevejos, diferentes grupos funcionais são observados em seus feromônios, tais como terpenos, cetonas, epóxidos, aldeídos, hidrocarbonetos, álcoois, dentre outros, como é mostrado na Tabela 1.

Tabela 1: Estruturas identificadas como feromônios em diferentes espécies de percevejos.

Estrutura	Espécie
	<i>Edessa meditabunda</i>
	<i>Edessa meditabunda</i>
	<i>Pallantia macunaima</i>
	<i>Biprotulus bibax</i>
	<i>Pellaea stictica</i>
	<i>Piezodorus guildinii</i>
	<i>Euchistus heros</i>

Em relação aos compostos defensivos já identificados nas principais espécies pragas da família Pentatomidae, é observada uma repetição das estruturas, as quais pertencem majoritariamente aos seguintes grupos funcionais: hidrocarbonetos, aldeídos, oxo-aldeídos e ésteres. O que difere entre as espécies são as proporções entre os compostos detectados (Millar, J. G., 2005). Na Tabela 2 são apresentadas as estruturas dos compostos de defesa mais recorrentes.

Tabela 2: Compostos comumente encontrados como compostos defensivos em Pentatomidae.

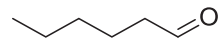
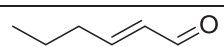
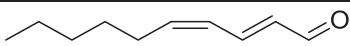
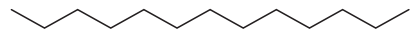
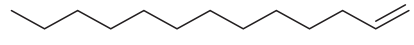
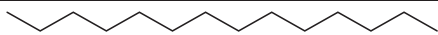
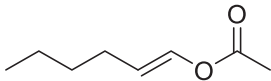
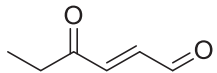
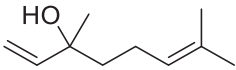
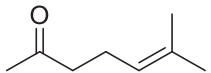
Estrutura	Composto
	Hexanal
	(2E)-hexenal
	(2E,4Z)-decadienal
	Tridecano
	Tridec-1-eno

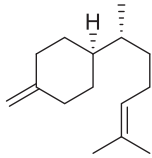
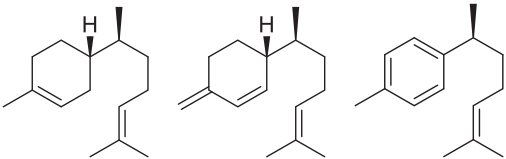
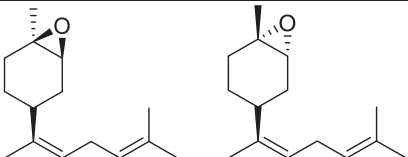
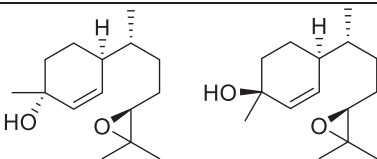
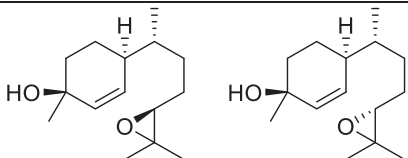
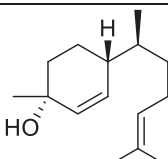
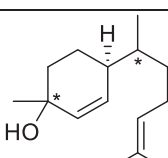
Tabela 2: Compostos comumente encontrados como compostos defensivos em Pentatomidae (continuação).

Estrutura	Composto
	Tetradecano
	Acetato de (2 <i>E</i>)-hexenila
	(4 <i>E</i>)-oxo-2-hexenal
	3,7-dimetilocta-1,6-dien-3-ol
	6-metil-5-hepten-2-ona

1.3 Sesquiterpenos e sesquiterpenoides identificados como feromônios em percevejos

Dentre os feromônios já identificados em percevejos, os sesquiterpenos e sesquiterpenoides constituem um importante grupo, visto que foram detectados em espécies que causam grandes danos a diferentes cultivos. Estes compostos já foram relatados na literatura desencadeando comportamento sexual e de agregação nos indivíduos receptores. Desta forma, estes semioquímicos podem ser aplicados para diferentes propostas, tais como: monitoramento populacional, coleta em massa, confusão sexual, em armadilhas e para manipulação do comportamento de inimigos naturais (COKL, A.; BORGES, M.; 2017). Na Tabela 3 estão contidos os sesquiterpenos e sesquiterpenoides identificados como feromônio em Hemiptera.

Tabela 3: Sesquiterpenos e sesquiterpenoides produzidos por diferentes espécies de Hemiptera como feromônio sexual e feromônio de agregação (COKL, A.; BORGES, M.; 2017).

Estrutura	Espécie(s)
	<p><i>Piezodorus guildinii</i> <i>Piezodorus hybneri</i></p>
	<p><i>Thyanta custator acerra</i></p>
	<p><i>Chinavia</i> sp. <i>Nezara viridula</i></p>
	<p><i>Halyomorpha halys</i></p>
	<p><i>Murgantia histrionica</i></p>
	<p><i>Oebalus poecilus</i></p>
	<p><i>Tibraca limbativentris</i>,</p>

CAPÍTULO I

Identificação dos Feromônios Sexuais e de Alarme do Percevejo *Orsilochides leucoptera*
(HEMIPTERA: SCUTELLERIDAE).

2.1 INTRODUÇÃO

Os percevejos são vastamente conhecidos pela sua capacidade de liberação de altas quantidades de compostos defensivos que são irritantes e com odores desagradáveis quando se sentem ameaçados. Estes compostos odoríficos são produzidos em glândulas epidermais formadas por invaginações conhecidas como glândula metatorácica (do inglês, *metathoracic gland*, MTG) (Aldrich, J. R. 1988). A MTG é uma glândula exócrina com função de sinais defensivos, sexuais, de alarme e de agregação (Aldrich, J. R. 1988; Millar, J. G. *et al.* 2002).

Os compostos defensivos produzidos por percevejos são bastante similares na maioria das espécies e, já foram identificados hidrocarbonetos saturados e insaturados, aldeídos e ésteres (Aldrich, J. R. 1988), como ocorre em *Pallantia macunaima* Grazia (Fávaro, C. F. *et al.*, 2011) e *Agroecus griseus* Dallas (Fávaro, C. F. *et al.*, 2012).

Ao contrário dos compostos defensivos, feromônios de atração sexual são muito mais complexos que os alomônios e eles exibem uma vasta variedade de estruturas químicas (Fávaro, C. F. *et al.*, 2012). Os feromônios sexuais de percevejos são geralmente produzidos em um grupo de glândulas unicelulares, o que dificulta o isolamento de compostos por dissecação e extração (Millar, J. G., 2005; Fávaro, C. F. *et al.*, 2012). Como alternativa, a aeração de insetos vivos é um método mais adequado para a coleta feromônios sexuais de percevejos (Zarbin, P. H. G. *et al.*, 1999).

Os percevejos da família Scutelleridae são considerados uma família de percevejos verdadeiros, cujos insetos são coloridos, distribuídos mundialmente com mais de 450 espécies já descritas (Javahery, M. C. W. *et al.*, 2000). *Orsilochides leucoptera* é uma espécie distribuída no Brasil, Peru, Bolívia, Paraguai e Argentina. Esta espécie tem sido encontrada em diferentes plantas hospedeiras, tais como *Croton sp.* (Euphorbiaceae), *Gossypium hirsutum* (Malvaceae) - algodoeiro, *Sorghum bicolor* (Poaceae) – sorgo, milho-zaburo (Eger, J. E. *et al.*, 2015), *Oryza sativa* L. - arroz (Acosta, L. G. *et al.*, 2017) e, neste trabalho, a espécie foi coletada em *Sida sp.* (Malvaceae). *O. leucoptera* não foi registrada como praga em nenhuma cultura porque não foi encontrada alta densidade populacional para esta espécie. Contudo, outras espécies de Scutelleridae são consideradas pragas agrícolas, como por exemplo *Eurygaster integriceps*, que é uma praga de trigo e cevada em países da Ásia Ocidental e Central (Hassani, H. *et al.*, 2010) e *Graphosoma lineatum*, a qual é uma das pragas mais importantes de plantas umbelíferas, tais como salsa, coentro e cenoura (Abad, R. F. P. *et al.*, 2012). Desta forma, destaca-se a importância do estudo da ecologia química de *O. leucoptera* a fim de se obter

informações acerca dos compostos utilizados em sua comunicação e dar os primeiros passos na identificação de feromônios sexuais da família Scutelleridae.

2.2 OBJETIVOS

2.2.1 *Objetivos Gerais*

Identificar os compostos produzidos na Glândula Metatorácica em adultos de *Orsilochides leucoptera*, bem como os feromônios sexuais produzidos por esta espécie.

2.2.2 *Objetivos específicos*

- Identificar as estruturas sexo-específicas candidatas a comunicação da espécie *Orsilochides leucoptera* por meio de técnicas cromatográficas, espectrométricas e espectroscópicas;
- Identificar os compostos produzidos nas glândulas metatorácicas de machos e fêmeas da espécie;
- Determinar a estereoquímica dos compostos identificados;
- Avaliar a bioatividade dos compostos macho-específicos identificados em testes de bioensaio em laboratório.

2.3 MATERIAIS E MÉTODOS

2.3.1 Coleta e criação dos insetos

As ninfas e adultos de *O. leucoptera* foram coletados em plantas *Sida* sp. (Malvaceae) no Campus Centro Politécnico da Universidade Federal do Paraná (UFPR), em Curitiba-PR, Brasil (S25.45, O49.23). Os insetos coletados foram mantidos no Laboratório de Semioquímicos da UFPR, onde foram separados por sexo e mantidos em temperatura de 25 ± 2 °C, umidade relativa de $65 \pm 15\%$ e foto período de 12 h claro e 12 h escuro. Os insetos foram criados em gaiolas plásticas (35 x 20 x 20 cm) e alimentados com plantas *Sida* sp., as quais foram trocadas a cada 72 h.

2.3.2 Coleta de voláteis dos insetos

A coleta dos voláteis liberados por *O. leucoptera* foi realizada em grupos de cinco machos e cinco fêmeas colocados em câmaras individuais de vidro (35 cm de comprimento × 4,5 cm de diâmetro) contendo um ramo da planta *Sida* sp. como alimento. Ar umidificado e filtrado em carvão ativo (fluxo de 1 L min^{-1}) foi passado em cada câmara e os voláteis foram retidos em tubos de vidro contendo 20 mg do polímero HayeSep Q 80–100 mesh (Althech, Lokeren, Bélgica). Os voláteis foram eluídos com 400 µL de hexano bidestilado. As amostras foram coletadas a cada 48 h e armazenadas a -17 °C até a análise. As amostras de machos e fêmeas foram analisadas e comparadas por meio de CG-EM. Os adultos foram mantidos em laboratório por pelo menos três dias antes da coleta de voláteis.

2.3.3 Extração dos Compostos da Glândula Metatorácica (MTG)

As MTG de machos e fêmeas foram extraídas de indivíduos de *O. leucoptera* congelados (12 indivíduos de cada sexo) (30 min a -17 °C), sob microscópio estereoscópico (Fávaro *et al.* 2012). Incisões laterais foram feitas em ambos os lados do abdômen e a MTG foi removida e imersa imediatamente em 100 µL de hexano durante 45 min (1 glândula para cada 100 µL de solvente). Os extratos foram armazenados a -17 °C até a análise.

2.3.4 Análises Químicas

Análises de CG-EM foram realizadas em espectrômetro Shimadzu QP2010 Plus, operando em modo de impacto eletrônico (70 eV) acoplado em um cromatógrafo a gás GC2010 com coluna capilar RTX-5 (30 m x 0,25 mm D.I. e 0,25 μm de espessura de filme; Restek Chromatography Products, Bellefonte, PA, EUA) a 1 mL min^{-1} (He). Os extratos e amostras foram analisados no modo *splitless* com temperatura do injetor de 250 °C. A temperatura inicial da coluna foi de 50 °C, mantida durante 1 min e aumentada a uma taxa de 7 °C min^{-1} até 250 °C. Esta temperatura foi mantida por 10 min.

2.3.5 Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectroscopia na Região do Infravermelho (CG-FTIR)

Os espectros na região do infravermelho foram adquiridos por um sistema de detecção de Espectroscopia Infravermelho com Transformada de Fourier (DiscovIR-GC, 4000-850 cm^{-1} , resolução de 4 cm^{-1} ; Spectra Analysis, Marlborough, MA, EUA) acoplada à cromatografia gasosa em um GC-2010 Shimadzu. O modo de injeção, coluna capilar e programa de temperatura foram os mesmos descritos para as análises de CG-EM.

2.3.6 Determinação dos Índices de Retenção

Os compostos naturais foram coinjetados com uma série de *n*-alcanos com número de carbonos pares (mistura do C-8 a C-16). A temperatura inicial foi de 50 °C e aumentada até 230 °C a uma taxa de 3 °C min^{-1} . As análises foram realizadas em uma coluna capilar RTX-5 (30 m \times 0,25 mm \times 0,25 μm , Restek Chromatography Products). Os índices de retenção foram determinados baseados no método de Van den Dool e Kratz (Vandendool, H.; Kratz, P. D., 1963).

2.3.7 Cromatografia Gasosa em Fase Estacionária Enantiosseletiva

As análises de CG com coluna capilar em fase estacionária quiral foram realizadas em um CG-2030 Shimadzu Nexis, equipado com uma coluna capilar Ciclosil- β (30% heptakis (2,3-di-O-metil-6-O-t-butildimetilsilil)-beta-ciclodextrina, 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm , Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA) e um sistema de detecção FID. A temperatura inicial do

forno foi de 50 °C, mantida durante 1 min. Em seguida, a temperatura foi aumentada até 150 °C a uma taxa de 1 °C min⁻¹, e então aquecida até 220 °C (7 °C min⁻¹), a qual foi mantida durante 5 min. Estas análises foram feitas em modo *splitless* usando hélio como gás de arraste (1 mL min⁻¹).

2.3.8 Identificação Química

Os compostos presentes nas amostras de voláteis coletados e extratos de MTG de *O. leucoptera* foram identificados pelos Índices de Retenção (IR), espectro de massas e espectros na região do infravermelho de cada composto e coinjeção com padrões. O composto 2-(*E*)-hexenal, (*R*)- e (*S*)-cânfora (1,7,7-trimetilbicyclo[2.2.1]heptan-2-ona), (*R*)- e (*S*)-linalool (3,7-dimetil-oct-6-en-3-ol), (*R*)- e (*S*)- α -terpineol (2-(4-metilciclohex-3-enil)-propan-2-ol), dodecano, 1-trideceno e *n*-tridecano foram adquiridos da Acros Organics (Geel, Turnhout, Bélgica) e Sigma Aldrich, EUA. Os compostos acetato de (*E*)-hex-2-enila foi adquirido da Aldrich Chemical Company (Milwaukee, WI, EUA). (*R*)- e (*S*)-borneol (2-(4-metilciclohex-3-enil)-propan-2-ol) foram preparados pela redução da (*R*)- e (*S*)-cânfora, respectivamente, empregando borohidreto de sódio em metanol. A reação gerou uma mistura de isoborneol e borneol na proporção de 9:1, a qual foi purificada por análises de HPLC empregando água deionizada e acetonitrila como fase móvel (6:4) (Nasipuri, D. *et al*, 1993). O composto (*E*)-4-oxo-2-hexenal foi gentilmente doado pelo Dr K. Chauhan da USDA-ARS (Beltsville, MD, EUA) (Feldlaufer, M. F. *et al*, 2010).

2.3.9 Bioensaios

Um olfatômetro de dupla escolha foi utilizado para testar a atração de machos e fêmeas de *O. Leucoptera* com os compostos naturais e comerciais. O olfatômetro consiste em um tubo de vidro na forma de Y (40 cm comprimento x 4 cm d.i.) com dois braços de 20 cm cada. Ar umidificado e filtrado em carvão ativo foi usado a 2 L min⁻¹. As fontes de odor consistiram em peças de papel filtro (2 x 2 cm) impregnados com o composto padrão, extratos naturais ou hexano (controle), os quais foram colocados no final dos braços de vidro do tubo em Y. Ramos de *Sida* sp. também foram colocados nas extremidades de ambos os braços do tubo. Um inseto adulto (fêmea ou macho) foi colocado na base do olfatômetro e o comportamento foi observado durante 5 min. O indivíduo que caminhou contra o fluxo de ar e fez contato com o filtro de papel contendo o tratamento ou o controle foi considerado como uma resposta positiva ou

negativa, respectivamente. O inseto que permaneceu no tubo principal foi considerado sem resposta e foi excluído das análises estatísticas. Cada inseto foi testado apenas uma vez. A fonte de odor foi trocada após cada teste. Após 5 ensaios, o tubo em Y foi lavado com água e solvente para eliminar qualquer resíduo de sinais químicos. O bioensaio foi conduzido durante a fotofase a 25 ± 2 °C com umidade relativa de $65 \pm 15\%$. A solução do extrato ou dos compostos padrões foi aplicada na fonte de odor com volume de 10 μ L. Sete experimentos de bioensaio foram realizados: 1) fêmeas foram testadas com amostra de voláteis coletados de machos durante 48 h e hexano como controle (n = 20); 2) machos foram testados com amostra de voláteis coletados de machos durante 48 h e hexano como controle (n = 31); 3) fêmeas foram testadas com cânfora racêmica (20 ng) e hexano como controle (n = 20); 4) fêmeas foram testadas com (*R*)-cânfora (10 ng) e hexano como controle (n = 20); 5) fêmeas foram testadas com (*S*)-cânfora (10 ng) e hexano como controle (n = 20); 6) fêmeas foram testadas com uma mistura de (*R*)-cânfora e (*R*)-borneol na proporção 7:1 (10 ng) e hexano como controle (n = 20); 7) fêmeas foram testadas com (*R*)-cânfora e (*R*)-borneol na proporção 7:1 (10 ng) em um dos braços do olfatômetro e (*R*)-cânfora (10 ng) no outro braço do olfatômetro (n = 20).

2.3.10 Análises estatísticas

As proporções de machos e fêmeas que foram atraídos pela fonte de odor para os diferentes experimentos (1-7) em cada bioensaio com o olfatômetro em Y foram comparados usando o teste Chi-quadrado com o software BioEstat 5.3. As diferenças na concentração média dos compostos extraídos da MTG entre machos e fêmeas foram analisadas pelo teste de normalidade Shapiro-Wilk, seguido por Mann-Whitney (teste da soma dos pontos de Wilcoxon) usando o software BioEstat 5.3.

2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.4.1 Identificação dos compostos voláteis sexo-específicos produzidos por *O. leucoptera*

Comparações entre as análises de CG-EM das amostras de voláteis de machos e fêmeas de *O. leucoptera* revelaram dois compostos machos específicos (**1** e **2**, na proporção 7:1) (Figura 3). As análises quantitativas em CG (n = 5) empregando amostras padrões de ambos compostos mostraram uma produção de $9,8 \pm 0,7$ ng por dia do composto **1** e $1,4 \pm 0,3$ ng por dia para o composto **2**.

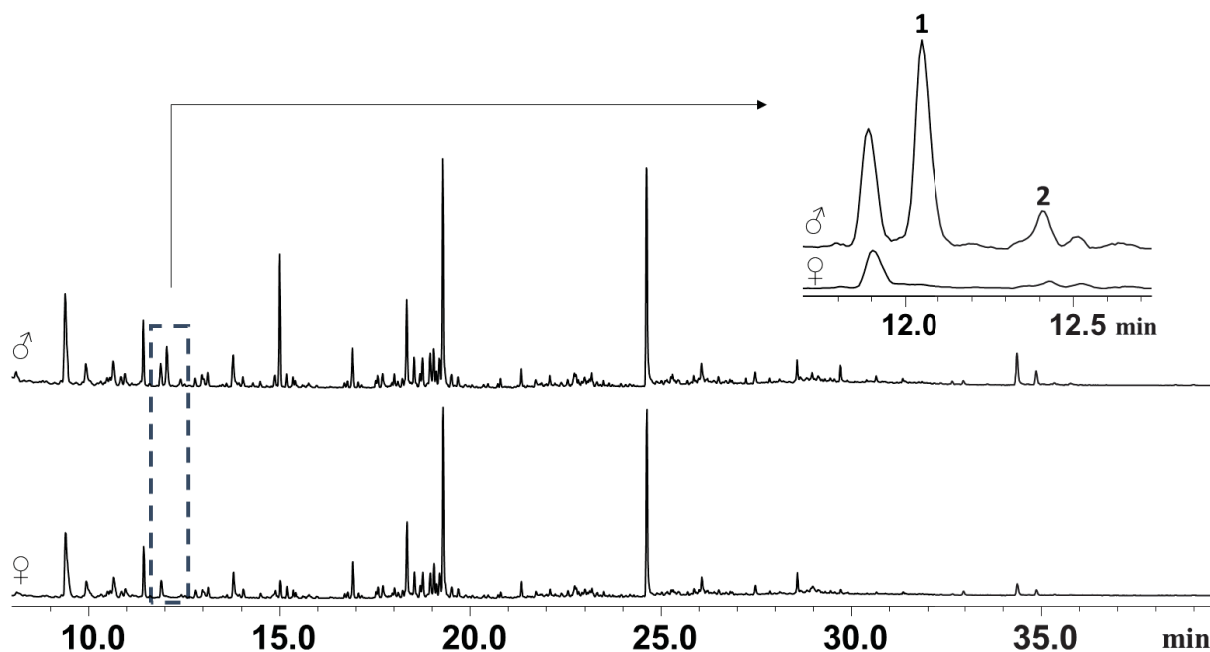


Figura 3: Análises de CG dos compostos voláteis liberados por machos e fêmeas de *O. leucoptera*. A imagem ampliada mostra os picos referentes aos compostos sexuais macho-específicos.

O primeiro composto apresentou um espectro de massas (Figura 4A) contendo um pico base com m/z 95; um índice de retenção de 1157 (RTX-5) e uma banda em 1737 cm^{-1} no espectro no infravermelho (Figura 4A'), os quais sugerem a estrutura do monoterpreno oxigenado cânfora. A confirmação da estrutura foi realizada pela comparação com uma amostra de padrão comercial de cânfora racêmica, sendo o tempo de retenção assim como o espectro de massas idêntico ao do composto **1**. O composto **2** apresentou um índice de retenção próximo ao do primeiro composto (1163, RTX-5) e apresentou o mesmo pico base do composto **1** com m/z 95 (Figura 4B). Contudo, o íon molecular indicou duas unidades de massa atômica

adicionais (m/z 154). Adicionalmente, o fragmento com m/z 136 ($M^{+}-18$) indicou um grupo hidroxila, o qual foi confirmado pela banda larga no espectro no infravermelho em 3325 cm^{-1} (Figura 4B'). Este conjunto de dados sugere fortemente o composto (2) como borneol, um álcool precursor da cânfora. A estrutura do borneol (2) foi confirmada pela comparação do espectro de massas dos compostos natural e sintético, assim como pela sua coinjeção.

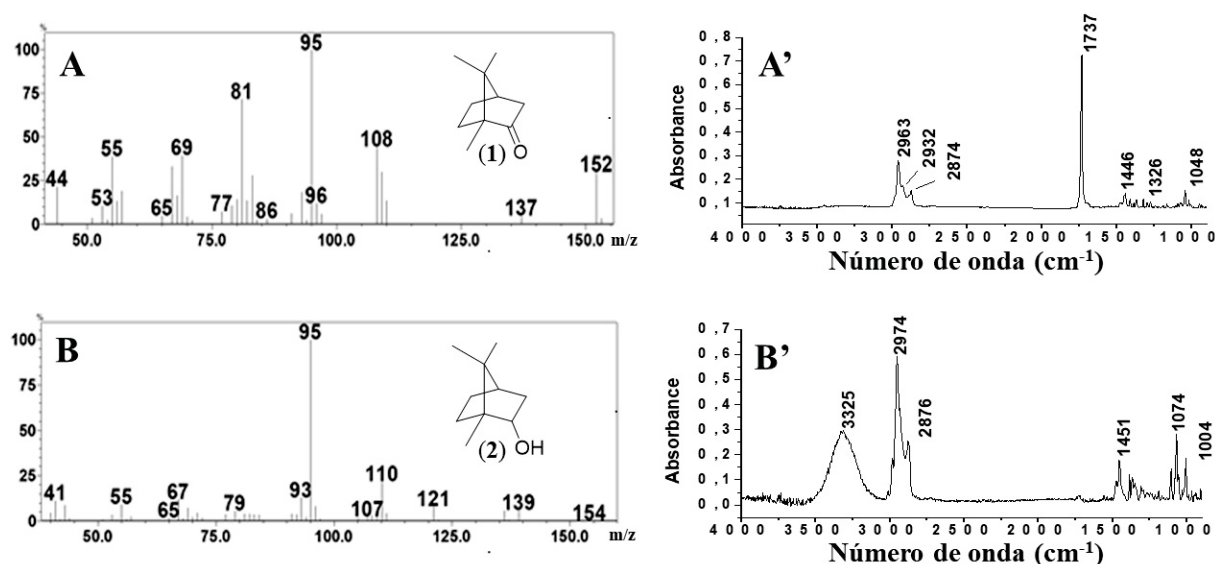


Figura 4: Espectro de massas (A e B) e espectro na região do infravermelho (A' e B') dos compostos naturais (1) e (2).

A cânfora, um terpenóide com forte odor, é geralmente tóxico para insetos e até mesmo usado como repelente (Donkin, R. A. 1999). Contudo, Arakaki *et al.* (2009) descreveram a cânfora como um composto atrativo para *Protaetia pryeri pryeri* (Janson) (Coleoptera: Scarabaeidae). Porém, os autores não descrevem este composto como um feromônio sexual.

As análises cromatográficas em coluna capilar com fase quiral (Ciclosil- β) mostraram a resolução dos dois estereoisômeros de 1 (Figura 5A) e 2 (Figura 5B), permitindo determinar qual dos estereoisômeros é produzido naturalmente pelos machos de *O. leucoptera*. Desta forma pode-se concluir que os insetos produzem as formas enantiopuras de (*R*)-cânfora (1) e (*R*)-borneol (2).

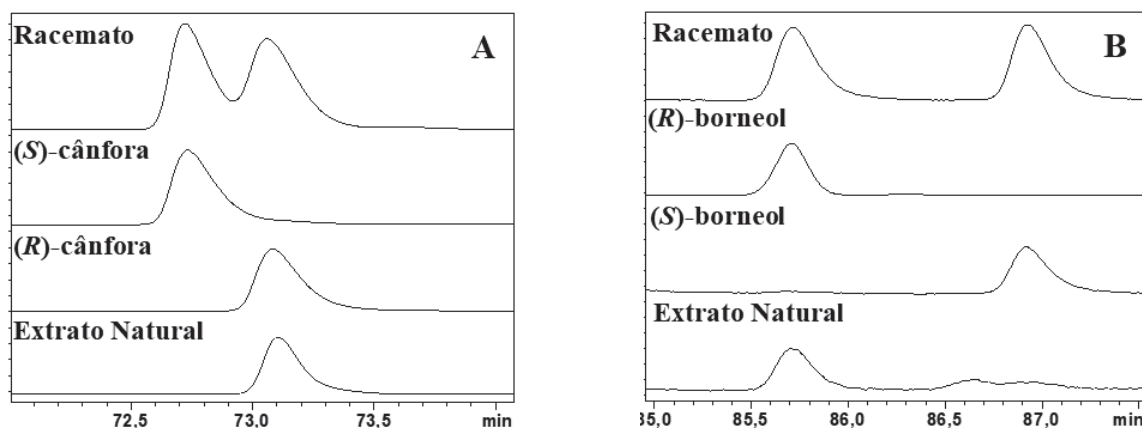


Figura 5: Análises cromatográficas para determinação da configuração estereoquímica dos compostos naturais cânfora (A) e borneol (B).

O composto (*R*)-Borneol (**2**) foi identificado como o composto macho específico minoritário em *O. leucoptera*. Existem alguns estudos relatando espécies que utilizam este álcool no seu sistema de comunicação química. Watanabe e Shimizu (2017) relataram o borneol como feromônio sexual do percevejo do crisântemo, *Corythucha marmorata* (Hemiptera: Tingidae) e uma ativação significativa do comportamento de agrupamento na presença de 0,5 - 1 ng de (*R*)-Borneol.

2.4.2 Identificação dos compostos produzidos nas glândulas metatorácicas de *O. leucoptera*

As análises de CG-EM dos extratos da MTG de machos e fêmeas revelaram a presença de 7 compostos comuns para ambos os sexos, assim como um composto macho específico (**7**) (Figura 6).

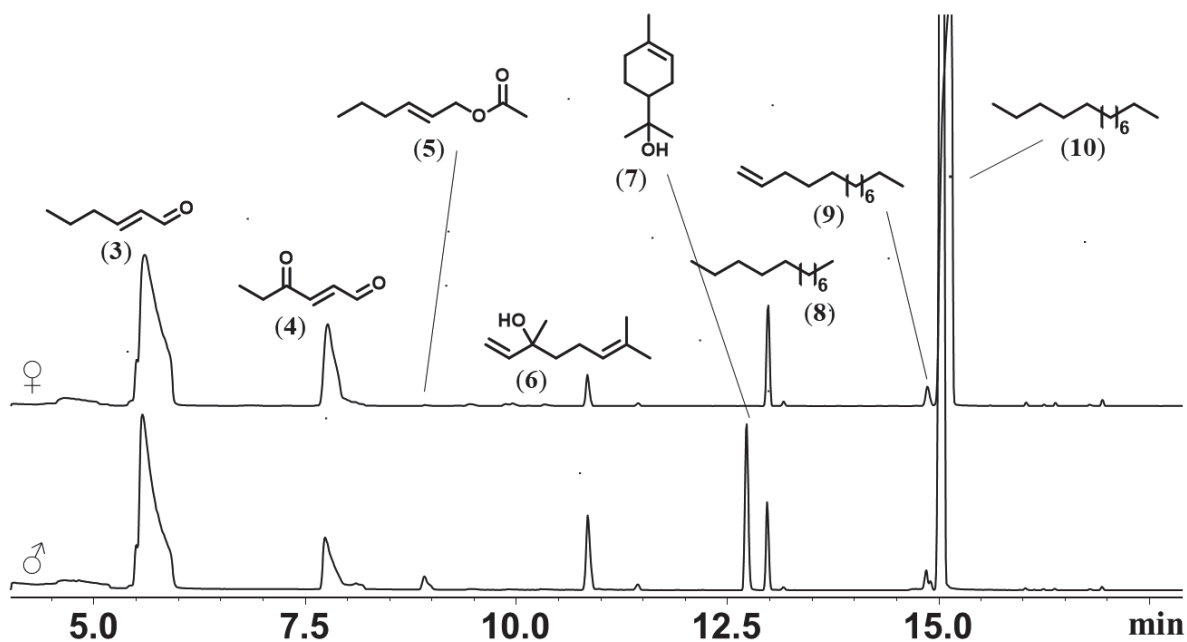


Figura 6: CG dos extratos de MTG de machos e fêmeas de *O. leucoptera*.

Baseado nos espectros de massas, espectros no infravermelho, índices de retenção e coincidência com compostos padrões, os 8 compostos encontrados na MTG de machos e fêmeas foram identificados e constam na Tabela 4.

Tabela 4: Compostos identificados nas Glândulas Metatorácicas de *Orsilochides leucoptera*.

Composto	Índice de Retenção	Estrutura
3	858	2-(<i>E</i>)-hexenal
4	958	(<i>E</i>)-4-oxo-2-hexenal
5	1012	Acetato de (<i>E</i>)-hex-2-enila
6	1102	(<i>R</i>)-linalool
7	1189	(<i>R</i>)- α -terpineol*
8	1200	<i>n</i> -dodecano
9	1295	1-trideceno
10	1300	<i>n</i> -tridecano

* composto encontrado apenas nas MTG dos indivíduos machos.

A maioria destes compostos já foi identificada previamente em outras espécies de percevejos, como por exemplo em *Leptoglossus zonatus* (Inoue, K. M. *et al.*, 2019) e *Pallantia macunaima* (Fávaro, C. F. *et al.*, 2011). A estrutura do 1-tridecano (9) foi confirmada pelo

espectro na região do infravermelho por meio das bandas características de alcenos terminais em 3082 cm^{-1} , 993 cm^{-1} e 913 cm^{-1} . Nenhum traço do isômero (*Z*)-4-trideceno foi detectado, outro composto comumente encontrado em MTG de percevejos (Fávaro, C. F; Zarbin, P. H. G. 2013). Os compostos quirais **6** e **7** foram determinados como sendo as formas enantiopuras do isômero *R* por meio de análises de cromatografia gasosa em fase estacionária enantiosseletiva, utilizando uma coluna capilar ciclosil- β . Os espectros de massas e no infravermelho de todos os compostos identificados na MTG de machos e fêmeas de *O. leucoptera*, assim como a resolução enantiomérica dos compostos quirais são apresentados no Anexo I, Páginas 99-103.

O hidrocarboneto *n*-tridecano (**10**) é o componente majoritário encontrado na MTG de machos e fêmeas. Diferenças estatísticas nas quantidades produzidas dos compostos detectados em ambos os sexos foram encontradas apenas para (*E*)-hex-2-enal (**3**) e *n*-tridecano (**10**), mostrando que as fêmeas produzem quantidades mais altas destes compostos em comparação com os machos. A quantidade média de produção para os compostos de **3** a **10** são mostradas na Tabela 1.

Tabela 5. Abundância em ppm (média \pm desvio padrão) dos compostos presentes nos extratos de MTG de *O. leucoptera* usando o teste de normalidade de Shapiro-Wilk, seguido pelo teste de Mann-Whitney ($p < 0.05$).

Composto	Macho (ppm)	Fêmea (ppm)
2-(<i>E</i>)-hexenal (3)	5054,6 \pm 1766,6 ^a	13057,6 \pm 8272,1 ^b
(<i>E</i>)-4-oxo-2-hexenal (4)	1604,9 \pm 899,7 ^a	2347,0 \pm 369,3 ^a
Acetato de (<i>E</i>)-hex-2-enila (5)	18,8 \pm 4,0 ^a	14,9 \pm 7,7 ^a
(<i>R</i>)-linalool (6)	219,4 \pm 64,6 ^a	650,1 \pm 322,9 ^a
(<i>R</i>)- α -terpineol (7)	266,5 \pm 87,5 ^a	- ^b
Dodecano (8)	637,9 \pm 241,2 ^a	1293,2 \pm 641,6 ^a
1-trideceno (9)	226,6 \pm 58,9 ^a	342,5 \pm 132,8 ^a
<i>n</i> -tridecano (10)	21362,8 \pm 4260,9 ^a	34894,5 \pm 6898,0 ^b

* Letras diferentes em cada linha indicam diferença estatística entre as quantidades.

Os compostos encontrados em glândulas metatorácicas de insetos da ordem Hemiptera apresentam cadeias carbônicas de 2 a 15 átomos de carbono e são em grande maioria aldeídos, cetonas, álcoois, ésteres e ácidos carboxílicos (Staddon, B. W. 1979; Aldrich, J. R. 1988). A

maioria dos compostos identificados na MTG de *O. leucoptera* já havia sido identificada para outras espécies de Hemiptera (Moraes, M. C. B. *et al.*, 2008). O aldeído 2-(*E*)-hexenal age como atrativo em baixas concentrações e como repelentes em altas concentrações (Durak, D.; Kalender, Y. 2007). Este aldeído ainda pode apresentar uma função como defesa contra predadores e uma função como um feromônio de alarme (Calam, D. H.; Youdeowei, A. 1968). Os hidrocarbonetos alifáticos podem atuar como solvente que auxiliam na evaporação de outros compostos (Aldrich, J. R. 1988). Especificamente, o *n*-tridecano já foi descrito como sendo repelente mais efetivo em insetos quando combinado com 2-(*E*)-hexenal. Consequentemente, *n*-tridecano parece ser o *n*-alcano ideal para trabalhar em sinergismo com os outros compostos odoríficos (Zarbin, P. H. G. *et al.*, 2000). O composto (*E*)-4-oxo-2-hexenal pode induzir um comportamento dispersivo entre conspecíficos, e paralisar ou deter muitos predadores, tais como indivíduos da família Mantidae (Prudic, K. L. *et al.*, 2008) enquanto o acetato de (*E*)-hex-2-enila pode agir como uma substância de alarme (Patenden, G.; Staddon, B. W. 1970) ou feromônio sexual (Durak, D.; Kalender, Y. 2007). O álcool (*R*)-linalool já foi relatado como composto atrativo (Aldrich, J. R. *et al.*, 1984).

Além de compostos defensivos, feromônios de atração podem também ser produzidos e liberados pela MTG em alguns insetos da ordem hemiptera (Millar, J. G. 2005), provavelmente por meio das glândulas acessórias laterais ligadas ao reservatório da MTG (Aldrich J. R. *et al.*, 1997, 1999, 2000). Os feromônios de atração derivados da MTG podem ser produzidos por machos, como em alguns Lygaeidae e Alydidae (Leal, W. S. *et al.*, 1995; Aldrich, J. R. *et al.*, 1997,1999), ou fêmeas, como em Miridae e alguns Alydidae (Smith, R. F. *et al.*, 1991; Leal, W. S. *et al.*, 1996; Millar, J. G. *et al.*, 1997; Aldrich, J. R. *et al.*, 2000; Zhang, Q. H.; Aldrich, J. R. 2003, 2008). Os machos da espécie *Phthia picta* produzem o composto 5,9,17-trimetilhenicosano como um feromônio sexual específico nas glândulas acessórias laterais, o qual foi detectado pelo método da aeração e nos extratos das glândulas laterais da MTG (Soldi, R. A. *et al.*, 2012) indicando o local da produção do feromônio sexual. Contudo, em indivíduos de *O. leucoptera*, o composto (*R*)- α -terpineol foi encontrado apenas na MTG de machos. De forma similar, Durak e Kalender (2007) relataram a produção do esteroide 14-beta-*H*-Pregna apenas em MTG de machos da espécie *Eurygaster maura*. Este composto não age apenas como defensor químico, mas também como feromônio sexual, além de atuar na facilitação de reprodução nos conspecíficos. Desta forma, é possível que (*R*)- α -terpineol (7) tenha uma função semelhante em machos de *O. leucoptera*, assim como pode ser um intermediário biossintético para os feromônios sexuais (*R*)-cânfora e (*R*)-borneol (Banthorpe, D. V. *et al.*, 1971).

2.4.3 Avaliação comportamental dos insetos frente aos compostos macho-específicos

Nos testes de bioensaios em olfatômetro em *Y*, as fêmeas foram fortemente atraídas por voláteis produzidos por machos tendo o hexano como controle no experimento 1 ($\chi^2 = 12,80$, g.l. = 1, $p = 0,0003$), à cânfora racêmica contra hexano como controle no experimento 3 ($\chi^2 = 9,80$, g.l. = 1, $p = 0,0017$), à (*R*)-cânfora contra hexano como controle no experimento 4 ($\chi^2 = 12,80$, g.l. = 1, $p = 0,0003$) e à mistura de (*R*)-cânfora e (*R*)-borneol contra hexano como controle no experimento 6 ($\chi^2 = 16,20$, g.l. = 1, $p < 0,0001$). No experimento 7, a mistura de (*R*)-cânfora e (*R*)-borneol foi significativamente mais atrativa para fêmeas que apenas (*R*)-cânfora ($\chi^2 = 5,00$, g.l. = 1, $p = 0,002$). Contudo, os machos não foram atraídos pelos voláteis liberados por machos no experimento 2 contra hexano como controle ($\chi^2 = 0,29$, g.l. = 1, $p = 0,59$), e as fêmeas não mostraram atração significativa para (*S*)-cânfora contra hexano como controle no experimento 5 ($\chi^2 = 0,80$, g.l. = 1, $p = 0,371$) (Figura 7).

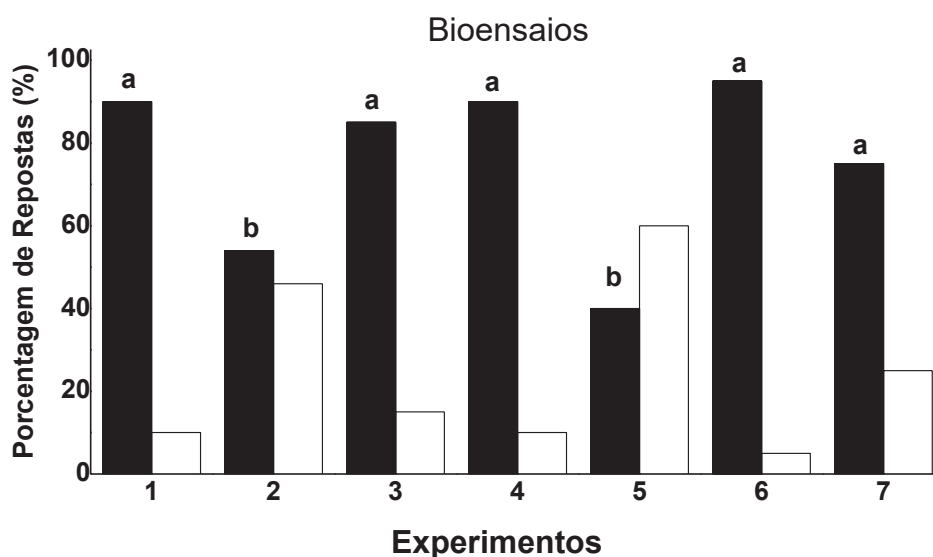


Figura 7: Bioensaios em olfatômetro em *Y*. Resultados em porcentagem mostrando as diferenças entre os experimentos. **a**, diferença estatística no experimento. **b**, nenhuma diferença estatística observada no experimento, $p > 0,05$. Experimentos: 1 – resposta de fêmeas ao extrato dos voláteis de machos (■) contra hexano (□); 2 – resposta de machos ao extrato dos voláteis de machos (■) contra hexano (□); 3 – resposta de fêmeas à cânfora racêmica (■) contra hexano (□); 4 – resposta de fêmeas à (*R*)-cânfora (■) contra hexano (□); 5 – resposta de fêmeas à (*S*)-cânfora (■) contra hexano (□); 6 – resposta de fêmeas à mistura de (*R*)-cânfora e (*R*)-borneol (■) contra hexano (□); 7 – resposta de fêmeas à mistura de (*R*)-cânfora e (*R*)-borneol (■) contra (*R*)-cânfora (□).

Os bioensaios realizados em olfatômetro em Y mostraram que as fêmeas foram altamente atraídas para a amostra de voláteis liberados pelos machos, à cânfora racêmica, à forma enantiopura (*R*)-cânfora e à mistura de (*R*)-cânfora e (*R*)-borneol. A forma enantiopura de (*S*)-cânfora não apresentou atratividade significativa para fêmeas, provando que apenas o estereoisômero (*R*)-cânfora (**1**) é ativo como feromônio sexual enquanto o isômero de configuração *S* não inibe a resposta do estereoisômero ativo *R*. Estes resultados sugerem fortemente que (*R*)-cânfora e (*R*)-borneol são componentes do feromônio sexual em *O. leucoptera*.

2.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho foram identificados os compostos (*R*)-cânfora e (*R*)-borneol como feromônio sexual produzido por machos da espécie *O. leucoptera*, e confirmou-se que uma mistura destes compostos na proporção 7:1 apresenta alta atração para indivíduos fêmeas. Este trabalho apresenta o primeiro relato de cânfora como feromônio em insetos. Além disso, identificaram-se os compostos produzidos na MTG de machos e fêmeas, os quais já foram descritas anteriormente para outras espécies de Hemiptera, incluindo o composto macho específico (*R*)- α -terpineol. Desta forma, foi possível gerar mais informações sobre a família Scutelleridae que, embora seja composta por mais de 450 espécies, pouco ainda se sabe sobre o sistema de comunicação química utilizado. Somado a isso, o estudo demonstrou que o uso dos compostos voláteis machos-específicos podem configurar uma possibilidade para o controle populacional da espécie.

CAPÍTULO II

Identificação do Feromônio Sexual do Percevejo *Mormidea v-luteum* (HEMIPTERA:
PENTATOMIDAE)

3.1 INTRODUÇÃO

A cultura do Arroz (*Oryza sativa* L.) é de abrangência mundial, na qual a produção tem sido liderada pelo continente asiático, o responsável por 90,7% da produção de arroz no mundo. O Brasil ocupa a nona posição na produção desta cultura (Fao, 2018). Independentemente da área de produção, nacional ou internacional, fatores edafoclimáticos e a ocorrência de pragas podem ocasionar uma oscilação de produtividade. Por exemplo, espécies de percevejos tidos como insetos-praga, que para a cultura mencionada tem sido descrita ocasionando diferentes tipos de danos, seja na parte aérea, na raiz, ou ainda no estágio vegetativo ou de maturação do cultivo (Gallo *et al.*, 2002; Panizzi e Lucini, 2017).

No cultivo do arroz, pode-se apontar diferentes espécies de percevejos fitófagos alimentando-se internamente da planta ao sugar os nutrientes via o aparelho bucal do tipo sugador, como por exemplo, os percevejos das espécies *Mormidea v-luteum* (Lichtenstein, 1796) e *Oebalus poecilus* (Dallas, 1851) os quais geram danos na fase de maturação da cultura do arroz de até 80% (Ferreira e Barrigossi, 2006; Grazia *et al.*, 2015).

As técnicas e fundamentos do Manejo Integrado de Pragas (MIP) surgiram devido ao uso irracional do método convencional de controle de pragas, via aplicação de agrotóxicos (Vilela, 1992; Gallo *et al.*, 2002). Com isso levantam-se sérios problemas de calamidades de forma aguda e crônica na área ambiental, e da saúde pública do Brasil e do mundo (Grützmacher *et al.*, 2008). O uso de feromônios no controle de pragas contribui para reduzir o uso de inseticida, direciona esforços para preservação e conservação ambiental, principalmente de espécies essenciais e benéficas ao meio ambiente e a produtividade na agricultura, visto que são moléculas utilizadas na comunicação exclusiva de machos e fêmeas de uma espécie (Witzgall *et al.*, 2010). Assim, a determinação dos feromônios sexuais e de agregação de *M. v-luteum* possibilita o uso destas moléculas no controle populacional da espécie.

3.2 OBJETIVOS

3.2.1 *Objetivos gerais*

Os objetivos deste trabalho consistiram na identificação e síntese dos compostos produzidos por machos da espécie de percevejo *Mormidea v-luteum*. Também objetivou-se realizar testes comportamentais com os compostos sintéticos, a fim de verificar a potencialidade do uso em armadilhas no campo.

3.2.3 *Objetivos específicos*

- Identificar os compostos macho-específicos da espécie *M. v-luteum*;
- Determinar a estereoquímica dos compostos produzidos pelos machos da espécie;
- Avaliar o comportamento dos insetos frente aos compostos sintéticos em laboratório.

3.3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.3.1 Procedimentos Gerais

Os procedimentos utilizados para a coleta e quantificação dos voláteis, análises químicas, determinação de índice de retenção e análises estatísticas são os mesmos já descritos no Capítulo I.

Os reagentes que necessitaram de tratamento prévio foram purificados por metodologias descritas na literatura (ARMAREGO, W. L. F.; CHAI, C. L. L. 2009). A evaporação dos solventes utilizados nas reações foi realizada com o uso de um evaporador rotatório IKA-10 Basic, à pressão reduzida. A sílica gel utilizada para a purificação e separação dos compostos possuía 230-400 mesh (Sigma-Aldrich). O acompanhamento das reações foi realizado por meio de cromatografia em camada delgada (CCD). Utilizou-se sílica gel 60G Sigma-Aldrich sobre placas de vidro para CCD e a revelação foi realizada com iodo molecular. Os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C foram obtidos em um espectrômetro Bruker DRX-200[®] operando a 200 e 50 MHz, respectivamente. O solvente utilizado foi clorofórmio deuterado e tetrametilsilano (TMS) como padrão interno. Os deslocamentos químicos (δ) são expressos em ppm. Para indicar a multiplicidade dos sinais, foram adotadas as seguintes abreviações: s (simpleto); d (duplete); td (triplo duplete); t (triplete); q (quarteto); m (multiplete).

As análises cromatográficas foram realizadas em cromatógrafo em fase móvel gasosa (CG), modelo Shimadzu QP-2010, equipado com detector de ionização de chama (FID) e com coluna capilar DB-5 (30 m x 0,25 mm D.I. x 0,25 μm de filme) (J & W Scientific, Folsom, Califórnia, EUA). O injetor foi operado a 250 °C com modo de injeção em split com taxa de 50. O forno da coluna foi programado com temperatura inicial de 100 °C por 1 minuto, aumentando 10 °C min^{-1} até 250 °C, permanecendo a esta temperatura por 10 minutos e hélio foi usado como gás de arraste com fluxo de 1 mL min^{-1} .

Os espectros de massas foram obtidos por meio de análises dos compostos químicos em um cromatógrafo em fase móvel gasosa acoplado ao espectrômetro de massas (CG-EM) modelo Shimadzu QP- 2010 Plus com ionização por impacto de elétrons (70 eV). A coluna capilar e as condições de análises foram iguais às utilizadas nas análises de CG e a linha de transferência foi programada para 270 °C.

3.3.2 Coleta e criação dos insetos

As ninfas e adultos de *Mormidea v-luteum* foram coletados em plantas *Paspalum* sp. (Poaceae) no Campus Centro Politécnico da Universidade Federal do Paraná (UFPR), em Curitiba-PR, Brasil (25°45'S, 49°23'). Os insetos coletados foram mantidos no Laboratório de Semioquímicos da UFPR, onde foram separados por sexo e mantidos em temperatura de 25 ± 2 °C, umidade relativa de 65 ± 15% e foto período de 12 h claro e 12 h escuro. Os insetos foram criados em gaiolas plásticas (35 x 20 x 20 cm) e alimentados com plantas *Paspalum* sp. e *Ligustrum lucidum* (Oleaceae), as quais foram trocadas a cada 72 h.

3.3.3 Cromatografia Gasosa Em Fase Estacionária Quiral

Análises de CG em fase estacionária quiral foram realizadas em um CG-2030 Shimadzu Nexis, equipado com uma coluna capilar β -DEX-325 (30% heptakis (2.3-di-O-metil-6-O-t-butildimetilsilil)-beta-ciclodextrina, 30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA) e um sistema de detecção FID. Para a resolução do zingibereno e epoxi-zingibereno, a temperatura inicial do forno foi de 50 °C, mantida durante 1 min. Em seguida, a temperatura foi aumentada até 150 °C a uma taxa de 1 °C min⁻¹, a qual foi mantida durante 50 min. Para a resolução dos isômeros do murgantiol, foi mantido o forno a 50 °C por 1 min, seguido do aumento da temperatura até 150 °C a uma taxa de 0,25 °C min⁻¹, sendo mantida esta temperatura por 200 min. Estas análises foram feitas em modo *splitless* usando hélio como gás de arraste (1 mL min⁻¹).

3.3.4 Identificação Química

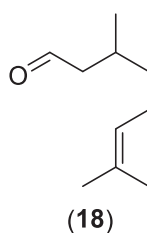
A identificação dos compostos produzidos por machos da espécie *M. v-luteum* foi realizada com base nas análises dos espectros de massas e espectros na região do infravermelho dos extratos, assim como nos respectivos índices de retenção. A confirmação da estrutura do zingiberenol e murgantiol foi realizada por meio da síntese do racemato destes compostos. Para a determinação da estereoquímica do zingiberenol, foi realizada a síntese da mistura dos estereoisômeros (*1'R*)-zingiberenol seguindo o procedimento descrito por Zahn *et al.* (2008), enquanto a mistura dos isômeros (*1'S*)-zingiberenol foi gentilmente cedida pelo professor Dr. Jocelyn G. Millar (University of California, Riverside, USA). Somado a isso, foram realizadas microrreações de desidratação dos estereoisômeros do zingiberenol. A determinação da

estereoquímica dos isômeros do murgantiol foi desenvolvida com base na síntese enantioselectiva promovida por AD-mix- α e AD-mix- β , já descrita por Khirmian *et al.* (2014). Os compostos AD-mix- α e AD-mix- β foram gentilmente doados pelo Prof. Dr. Ronaldo Aloise Pilli (Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Brasil). Também foram utilizadas microrreações de desidratação das misturas de isômeros de murgantiol assim como microrreações de epoxidação do zingibereno presente no óleo essencial de *Zingiber officinale* (gingibre).

3.3.5 Bioensaios

O procedimento utilizado para os testes de bioensaio é o mesmo descrito no Capítulo 1, no tópico 2.3.9. Dez tratamentos foram realizados: (i) extrato de machos e dieta natural *versus* controle (hexano e dieta natural) frente a machos (n = 41); (ii) extrato de machos e dieta natural *versus* controle frente a fêmeas (n = 45); (iii) (1'S)-zingiberenol *versus* hexano frente a fêmeas (n = 20); (iv) (1'S)-murgantiol *versus* hexano frente a fêmeas (n = 20); (v) (1'S)-zingiberenol *versus* hexano frente a machos (n = 20); (vi) (1'S)-murgantiol *versus* hexano frente a machos (n = 20); (vii) (1'S)-zingiberenol e (1'S)-murgantiol *versus* hexano frente a machos (n = 20); (viii) (1'S)-zingiberenol e (1'S)-murgantiol *versus* hexano frente a fêmeas (n = 20); (ix) (1'S)-zingiberenol e (1'S)-murgantiol *versus* (1'S)-zingiberenol frente a fêmeas (n = 20); (x) (1'S)-zingiberenol e (1'S)-murgantiol *versus* (1'S)-zingiberenol frente a machos (n = 20).

3.3.6 Preparação do 3,7-dimetiloct-6-enal (citronelal) (18)



Citronelol (0,15 g, 0,97 mmol) foi dissolvido em diclorometano (1 mL) em um béquer de 10 mL. A solução resultante foi adicionada sobre uma suspensão em agitação magnética balão de fundo redondo de 10 mL do complexo de clorocromato de piridínio (PCC) (0,67 g, 3,15 mmol), acetato de sódio (0,05 g, 0,45 mmol), celite (0,70 g) e diclorometano (3 mL). A mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 3 h. Em seguida foi adicionado éter etílico (8 mL), filtrou-se a vácuo em funil de Büchner contendo celite e lavou-se com porções de éter etílico (3 x 10 mL). O solvente foi removido por meio de rotaevaporação e o composto foi

purificado em coluna cromatográfica utilizando como eluente hexano-acetato de etila (9:1). Foi obtido 0,11 g do citronelal (0,71 mmol) com rendimento de 73%.

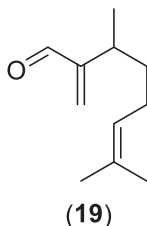
Para a síntese do isômero (*R*)-3,7-dimetil-oct-6-enal foram utilizadas as mesmas proporções descritas para o composto racêmico. Foi obtido 0,12 g de (*R*)-citronelal (0,77 mmol) com 80% de rendimento.

EM (70 eV; *m/z*; Abundância Relativa (%)): 41(99); 51(2); 55(50); 65(3); 69(100); 79(10); 84(21); 93(16); 95(66); 107(4); 111(22); 121(35); 123(3); 139(11); 154(4).

RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃, TMS, ppm): δ 0,97 (d, 3H); 1,20-1,43 (m, 2H); 1,60 (s, 3H); 1,69 (s, 3H); 1,95-2,14 (m, 3H); 2,23 (ddd, 1H, *J*₁ = 15,9 Hz; *J*₂ = 8,1 Hz; *J*₃ = 2,7 Hz); 2,41(ddd, 1H, *J*₁ = 15,8 Hz; *J*₂ = 5,6 Hz; *J*₃ = 1,9 Hz); 5,09 (t, 1H, *J* = 7,3 Hz); 9,75 (t, 1 H, *J* = 2,3 Hz).

RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃, ppm): δ 17,56; 19,77; 25,31; 25,60; 27,68; 36,86; 50,91; 123,97; 131,62; 202,83.

3.3.7 Preparação do 3,7-dimetil-2-metileno-oct-6-enal (**19**)



Dietilamina (0,15 mL, 1,46 mmol) foi adicionada gota-a-gota a temperatura ambiente durante um período de aproximadamente 5 min em um balão de fundo redondo de 25 mL de duas bocas contendo citronelal (0,11 g, 0,71 mmol) acoplado a um condensador vertical de refluxo. O sistema foi aquecido em banho de óleo até a temperatura de 44 °C, mantendo a agitação durante 1 h. Em seguida, o balão foi retirado do banho de óleo e deixou-se resfriar até atingir a temperatura ambiente. Adicionou-se então formaldeído (0,18 mL, 1,8 mmol, solução aquosa a 37%) lentamente, mantendo a temperatura abaixo de 40 °C, seguida pela adição lenta de ácido acético glacial (0,018 mL, 0,31 mmol). A mistura foi agitada de forma magnética durante 18 h à temperatura ambiente e então aquecida a 80 °C durante um período de 90 min. Após este período, a reação foi resfriada à temperatura ambiente, diluída com hexano (10 mL), lavada com solução aquosa de ácido clorídrico (2 mol L⁻¹, 2 x 10 mL), solução saturada de NaHCO₃ (1 x 10 mL) e solução saturada de NaCl (1 x 10 mL). A fase orgânica foi separada, seca com Na₂SO₄ anidro e concentrada a vácuo. O produto foi purificado em coluna

cromatográfica utilizando como eluente hexano e acetato de etila na proporção 9:1. O composto **19** foi obtido com 55% de rendimento (65 mg, 0,39 mmol).

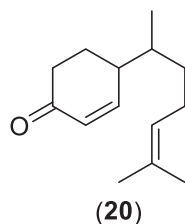
Para a síntese do estereoisômero (*R*)-3,7-dimetil-2-metileno-oct-6-enal, foram utilizados 0,12 g de (*R*)-citronelal (0,77 mmol), dietilamina (0,16 mL, 1,59 mmol), formaldeído (0,19 mL) e ácido acético glacial (0,019 mL, 0,33 mmol). O composto (*R*)-**9** foi sintetizado com 49% de rendimento (62 mg, 0,38 mmol).

EM (70 eV; *m/z*; Abundância Relativa (%)): 41(100); 43(22); 55(80); 56(18); 67(50); 70(8); 81(44); 84(19); 95(38); 98(2); 109(94); 115(1); 123(18); 131(1); 133(10); 146(1); 151(21); 160(1); 166(8).

RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃, TMS, ppm): δ 1,06 (d, 3H, J = 6,9 Hz); 1,38-1,54 (m, 2H); 1,57 (s, 3H); 1,68 (s, 3H); 1,85-2,01 (m, 2H); 2,70 (sext, 1H, J = 6,8 Hz); 5,08 (t, 1H, J = 7,1 Hz); 6,00 (s, 1 H); 6,24 (s, 1H); 9,53 (s, 1H).

RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃, ppm): δ 17,61; 19,52; 25,66; 25,70; 30,92; 35,54; 124,10; 131,63; 133,05; 155,45; 194,67.

3.3.8 Preparação do 4-(6-metilhept-5-en-2-il)cicloexen-2-ona (**20**)



Em um balão de fundo redondo de 25 mL de duas bocas acoplado a um condensador vertical de refluxo e contendo metanol (0,4 mL), foi adicionado sódio (9 mg, 0,39 mmol) e agitou-se magneticamente em temperatura ambiente. Após a dissolução completa do sódio, uma solução de acetoacetato de etila (60 mg, 0,47 mmol) em metanol (0,6 mL) foi adicionada lentamente e a mistura foi agitada durante 30 min. Em seguida, uma solução do aldeído **19** (0,65 mg, 0,39 mmol) em metanol (1 mL) foi também adicionada cuidadosamente. A mistura foi agitada durante 2 h a temperatura ambiente e então refluxada durante 2 h. A reação foi resfriada a temperatura ambiente, o solvente foi removido sob vácuo e o resíduo foi diluído em hexano (10 mL). A fase orgânica foi lavada com solução saturada de cloreto de amônio (2 x 10 mL), água destilada (1 x 10 mL) e solução saturada de cloreto de sódio (1 x 10 mL), seguida da secagem com Na₂SO₄ anidro e da evaporação do solvente em evaporador rotatório sob vácuo. O produto foi purificado em coluna cromatográfica utilizando hexano e acetato de etila

como eluente (9:1). Foram obtidos 47 mg do composto **20** (0,23 mmol) com 59% de rendimento.

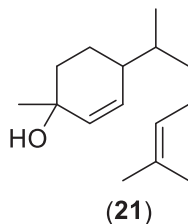
A síntese do composto 4-((*R*)-6-metilhept-5-en-2-il)cicloexen-2-ona foi realizada utilizando 62 mg do aldeído (*R*)-**9** (0,38 mmol) e as mesmas quantidades de sódio, acetoacetato de etila e metanol descritas para a síntese do composto **20** na forma racêmica. Foram obtidos 41 mg da cetona (*R*)-**10** (0,19 mmol) com 52% de rendimento.

EM (70 eV; *m/z*; Abundância Relativa (%)): 41(79); 55(37); 67(39); 69(100); 79(32); 94(30); 109(22); 123(62); 136(15); 149(9); 163(11); 173(4); 191(8); 206(7).

RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃, TMS, ppm): δ 0,90 (d, 3H, J = 6,9 Hz); 0,94 (d, 3H, J = 7,0 Hz); 1,20-1,48 (m, 2H); 1,61 (s, 3H); 1,69 (s, 3H); 1,90-2,15 (m, 4H); 2,25-2,60 (m, 4H); 5,03-5,16 (m, 1H); 5,98-6,07 (m, 1H); 6,80-6,93 (m, 1H).

RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃, ppm): δ 15,99; 16,51; 17,68; 23,96; 25,69; 25,83; 33,90; 34,10; 36,06; 37,50; 37,69; 41,05; 41,61; 124,11; 124,14; 129,67; 138,93; 130,48; 131,81; 131,84; 154,34; 155,43; 200,14.

3.3.9 Preparação do 4-[1,5-dimetilhex-4-enil]-1-metilciclohex-2-en-1-ol (zingiberenol) (**11**)



Uma solução da cetona **20** (47 mg, 0,23 mmol) em THF anidro (5 mL) foi agitada magneticamente sob atmosfera de argônio e resfriada em banho de gelo. Após o período de 5 min nesta condição, cloreto de metilmagnésio (0,38 mL, 1,15 mmol, 5 eq., solução em hexano a 3 mol L⁻¹) foi adicionado lentamente. A mistura foi então agitada durante 3 h, adicionou-se solução saturada de NH₄Cl (5 mL) e extraiu-se com acetato de etila (10 mL). A fase orgânica foi separada e seca com Na₂SO₄ anidro e o produto foi concentrado a vácuo. O composto foi purificado via coluna cromatográfica utilizando como eluente hexano e acetato de etila na proporção 9:1. Zingiberenol foi obtido com 89% de rendimento (45 mg, 0,20 mmol). Os isômeros *cis*- e *trans*-zingiberenol foram separados em coluna cromatográfica com o mesmo eluente na proporção 95:5.

Para a síntese do (1'*R*)-zingiberenol foram utilizados 41 mg da cetona (*R*)-**20** (0,19 mmol), THF (5 mL) e CH₃MgCl (0,32 mL, 0,96 mmol). Os estereoisômeros de (1'*R*)-zingiberenol foram obtidos com 85% de rendimento (36 mg, 0,16 mmol). Os isômeros *cis*- e

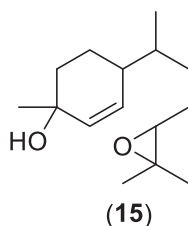
trans-(1'*R*)-zingiberenol também foram separados em coluna cromatográfica com o mesmo eluente descrito para este procedimento com o composto na forma racêmica.

EM (70 eV; *m/z*; Abundância Relativa (%)): 41(40); 55(28); 69(100); 79(20); 93(59); 95(23); 105(28); 119(99); 119(99); 137(24); 138(13); 151(4); 161(20); 189(6); 202(1); 204(11); 222(1).

RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃, TMS, ppm): δ 0,81 (d, 1H, J = 6,7 Hz); 0,86 (d, 1H, J = 6,7 Hz); 1,28 (s, 3H); 1,41-1,50 (m, 5H); 1,60 (s, 3H); 1,69 (s, 3H); 1,81-2,18 (m, 4H); 5,01-5,06 (m, 1 H); 5,46-5,67 (m, 2H).

RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃, ppm): δ 15,69; 16,42; 17,64; 22,35; 24,17; 25,69; 25,94; 25,99; 28,37; 28,42; 33,72; 34,15; 36,25; 36,30; 38,28; 40,10; 40,66; 69,79; 124,69; 130,93; 131,33; 132,09; 134,56; 134,87.

3.3.10 Preparação do 4-[5'-(5',5'-dimetiloxiran-4'-il)-1'-metilpropil]-1-metilciclohex-2-en-1-ol (*murgantiol*) (15)



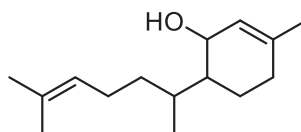
Em um balão de fundo redondo contendo os isômeros *cis*-zingiberenol (10 mg, 0,045 mmol) e solução aquosa de NaHCO₃ (1 mL, 0,5 mol L⁻¹) sob agitação magnética e em banho de gelo foi adicionado ácido 3-cloroperbenzoico - *m*-CPBA (11 mg, 0,045 mmol, ca. 70%) em duas porções com intervalo de 15 min. A mistura foi agitada durante um período de 3 h a 0 °C e então solução saturada de NaCl (10 mL) foi adicionada. A mistura foi extraída com éter etílico (4 x 10 mL), as fases orgânicas foram combinadas e secas com Na₂SO₄ anidro e o solvente foi removido sob vácuo. Os isômeros *cis*-*murgantiol* foram obtidos com 64% de rendimento (7 mg, 0,029 mmol). O mesmo procedimento e quantidades de reagentes foram utilizados para a síntese dos isômeros *trans*-*murgantiol*, partindo-se do *trans*-zingiberenol, obtendo-se 5 mg deste produto (0,022 mmol, 50% de rendimento).

Para a síntese dos isômeros *cis*- e *trans*-(1'*R*)-*murgantiol* foram utilizadas as mesmas quantidades dos reagentes descritas para a síntese racêmica do *murgantiol*. Foram obtidos 7 mg da mistura dos isômeros *cis*-(1'*R*)-*murgantiol* (0,029 mmol, 64% de rendimento) e 6 mg da mistura dos isômeros *trans*-(1'*R*)-*murgantiol* (0,025 mmol, 56% de rendimento).

EM (70 eV; m/z ; Abundância Relativa (%)): 43(76); 55(25); 67(20); 71(56); 79(33); 93(100); 105(49); 119(79); 132(78); 134(39); 145(18); 159(13); 187(6); 202(4); 220(3); 238(1).

RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS, ppm): δ 0,94 (d, 1H, $J = 6,7$ Hz); 0,98 (d, 1H, $J = 6,7$ Hz); 1,25-1,29 (m, 5 H); 1,31 (s, 3 H); 1,45-1,70 (m, 9 H); 1,76-1,90 (m, 1 H); 2,68-2,73 (m, 1 H); 2,99 (t, 1H, $J = 4,3$ Hz); 3,09-3,15 (m, 1H); 5,49-5,71 (m, 1H).

3.3.11 Preparação do 3-metil-6-(6-metilhept-5-en-2-il)ciclohex-2-enol (sesquipiperitol) (14)



(14)

Em um vial de 2 mL, foi adicionado zingiberenol (1 mg, 0,0045 mmol), diclorometano (1 mL) e PCC (5 mg, 0,023 mmol). A mistura foi agitada magneticamente durante 1 h. Em seguida, adicionou-se éter etílico e a mistura foi filtrada em celite para um vial de 2 mL, obtendo-se uma mistura da sesquipiperitona (45). O solvente foi evaporado sob fluxo de ar e então adicionou-se metanol (1 mL) e o vial foi colocado em banho de gelo. Sob agitação magnética, borohidreto de sódio (5 mg, 0,13 mmol) foi adicionado. Após 1 h de reação, adicionou-se solução saturada de cloreto de amônio (0,5 mL) e a fase orgânica foi transferida para outro vial contendo sulfato de sódio anidro. A mistura foi filtrada e concentrada sob vácuo, levando à mistura de isômeros do sesquipiperitol (14).

EM (70 eV; m/z ; Abundância Relativa (%)): 41(33); 53(7); 55(24); 69(61); 77(26); 93(74); 95(21); 105(32); 119(100); 133(22); 137(30); 147(7); 161(24); 164(1); 175 (2); 189(6); 202(1); 204 (11); 222(1).

3.6.12 Microrreações de desidratação

Uma solução de zingiberenol racêmico (0,1 mg mL⁻¹ em hexano, 100 μL) foi concentrado em um vial de 2 mL com fluxo de argônio. Em seguida, uma solução aquosa de H_2SO_4 (0,1 mol L⁻¹, 300 μL) e 50 μL de metanol foi adicionado. A mistura foi agitada em um shaker rotatório (45 °C, 100 rpm) durante 30 min e então hexano foi adicionado (500 μL). A mistura foi filtrada em uma coluna de Na_2SO_4 para remover a água e a fase orgânica foi concentrada

para 100 μL (Oliveira M. W. M., 2013). Para a desidratação de (1'S)-zingiberenol, (1'R)-zingiberneol, racemato de murgantiol, (1'S)-murgantiol, (1'R)-murgantiol e extrato dos voláteis de machos de *M. v-luteum* foi seguido o mesmo procedimento experimental.

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.4.1 Identificação dos compostos macho-específicos de *M. v-luteum*

Os extratos coletados de machos e fêmeas de *M. v-luteum* foram inicialmente analisados por CG-EM. A comparação dos cromatogramas mostrou seis compostos macho-específicos (Figura 8). A quantidade média destes compostos foi determinada com 20 extratos de machos revelando que os compostos **11** e **15** foram majoritários, produzidos em uma proporção 6:4 e representam aproximadamente 78% dos compostos produzidos apenas pelos machos. A produção diária dos seis compostos foi (média \pm desvio padrão): **11** ($6,3 \pm 1,6$ ng); **12** ($0,6 \pm 0,2$ ng); **13** ($0,6 \pm 0,4$ ng); **14** ($1,0 \pm 0,2$ ng); **15** ($4,8 \pm 0,8$ ng); **16** ($0,9 \pm 0,6$ ng).

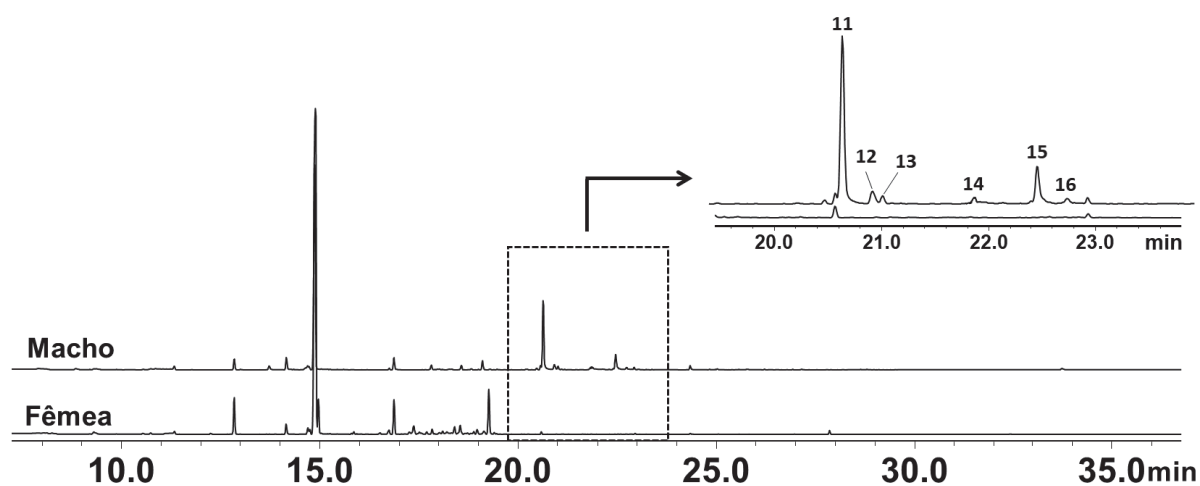


Figura 8: Cromatogramas dos compostos voláteis produzidos por machos e fêmeas de *Mormidea v-luteum*. Na imagem ampliada constam os 6 picos dos compostos macho-específicos.

A análise dos espectros de massas revelou alta similaridade na fragmentação entre os compostos **11** e **12**, indicando tratar-se de possíveis isômeros. O pico base com m/z 119 sugeriu o fragmento etil-metilbenzeno, enquanto o fragmento com m/z 93 foi um indicativo do fragmento metilciclohexadieno. Uma unidade isoprênica pode ser caracterizada por um fragmento intenso com m/z 69, enquanto o fragmento com m/z 204 pode mostrar a perda de uma molécula de água pelo íon-fragmento (m/z 222) (Figura 9A). A existência do grupo hidroxila foi confirmada pelo espectro na região do infravermelho, o qual apresentou uma banda larga em 3363 cm^{-1} (Figura 9A'). O índice de retenção calculado para o composto **11** foi

1623 (RTX-5). Com base neste conjunto de dados, as estruturas dos compostos **11** e **12** foram sugeridas como sendo isômeros do sesquiterpenoide zingiberenol, um composto que já foi previamente identificado como um componente do feromônio sexual em pentatomídeos das espécies *O. poecilus* e *T. limbativentris* (Blassioli-Moraes *et al.*, 2020; Oliveira *et al.*, 2013).

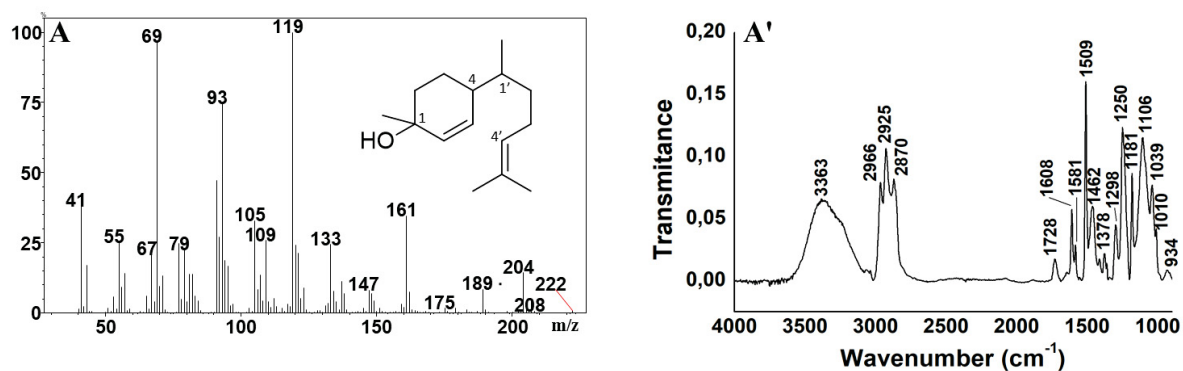
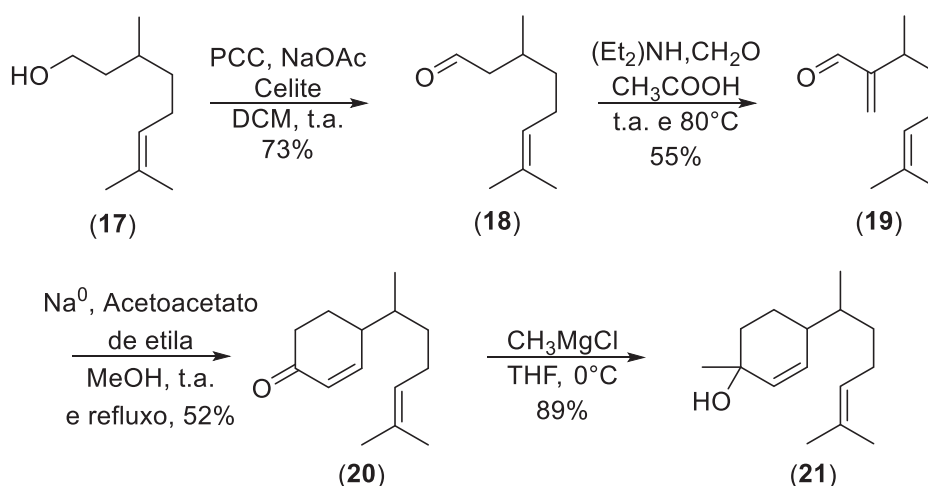


Figura 9: Espectro de massas (A) e espectro na região do infravermelho (A') do composto natural **1**, produzido por machos de *M. v-luteum*.

Para confirmar a estrutura proposta para os compostos naturais **11** e **12**, a síntese racêmica do zingiberenol foi realizada em 4 etapas, utilizando citronelol como material de partida (Esquema 1).

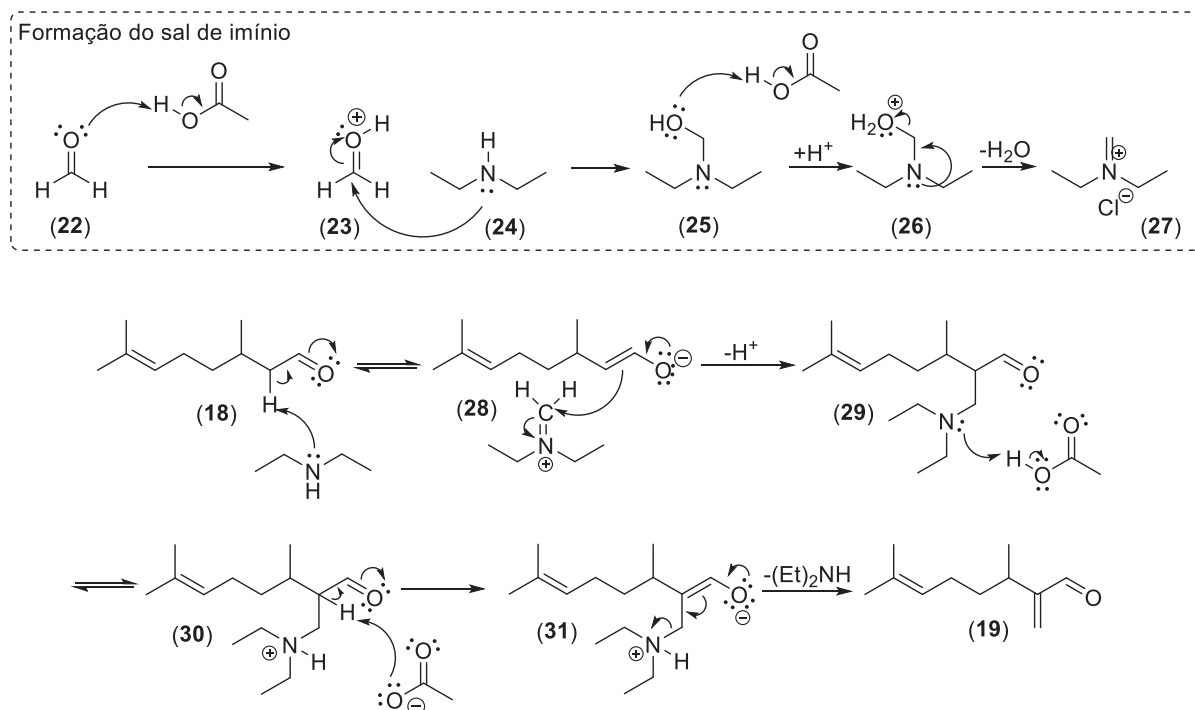


Esquema 1: Síntese do racemato (8 estereoisômeros) do zingiberenol (**21**).

A síntese do zingiberenol foi iniciada com a oxidação do citronelol com PCC, seguida da sua conversão no aldeído α - β -insaturado **19**, por meio de uma reação de α -metilação com formaldeído. A formação do ciclo na estrutura deu-se pelo tratamento do aldeído **19** com

acetoacetato de etila e sódio metálico, via uma reação de adição conjugada seguida de uma condensação aldólica e descarboxilação. A adição de um grupo metila à carbonila utilizando reagente de Grignard (CH_3MgCl) levou à mistura dos 8 estereoisômeros do zingiberenol (**11**). Para a síntese dos isômeros (*1'R*)-zingiberenol, foi realizado o mesmo procedimento sintético desenvolvido para a obtenção do racemato, partindo do composto (*R*)-citronelol. Poucas foram as diferenças observadas nos espectros de massas e de RMN de ^1H e ^{13}C na comparação entre o racemato e a mistura dos isômeros (*1'R*)-zingiberenol, devido ambas serem constituídas por uma mistura de estereoisômeros, visto que apenas um dos estereocentros está definido (posição *1'R*).

A inserção de um grupo metilênico no citronelal deu-se pela reação de Mannich (Esquema 2), a qual ocorreu pela formação inicial do sal de imínio (**27**), gerado pela reação do formaldeído e dietilamina. A reação de Mannich envolve a forma enólica do citronelal, que quando tem seu grupo carbonila restabelecido, ocorre o ataque nucleofílico dos elétrons π (da insaturação $\text{C}=\text{C}$) no átomo de carbono do sal de imínio (**28**), levando a uma amina terciária (**29**), também conhecida como base de Mannich. O átomo de nitrogênio é protonado (formando um bom grupo de saída) e o composto **30** é então convertido no seu íon enolato gerado pela abstração de um próton do carbono na posição α -carbonila (**31**). Por fim, o restabelecimento da carbonila leva à eliminação da dietilamina, gerando o aldeído **19**.



Esquema 2: Mecanismo da reação de Mannich para a formação do aldeído **19**.

A formação do composto **19** pode ser confirmada pelo seu espectro de RMN de ^1H (Figura 10), o qual apresentou um simpleto em 9,53 ppm referente ao átomo de hidrogênio do grupo aldeído (cujo sinal apresenta-se na forma de triplete no espectro de RMN de ^1H do citronelal devido à presença de dois átomos de hidrogênio no carbono α -carbonila). Ainda foram observados dois simpletos, com deslocamentos de 6,00 e 6,24 ppm, com integração para 1 átomo de hidrogênio cada, referente aos hidrogênios metilênicos adicionados à molécula de citronelal.

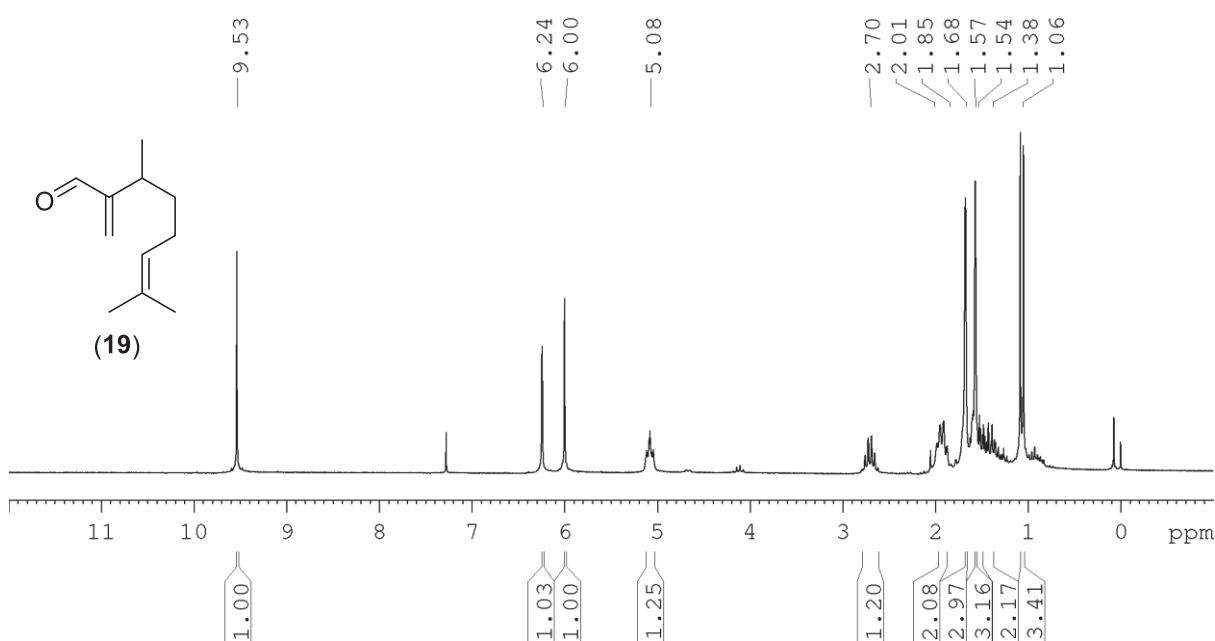
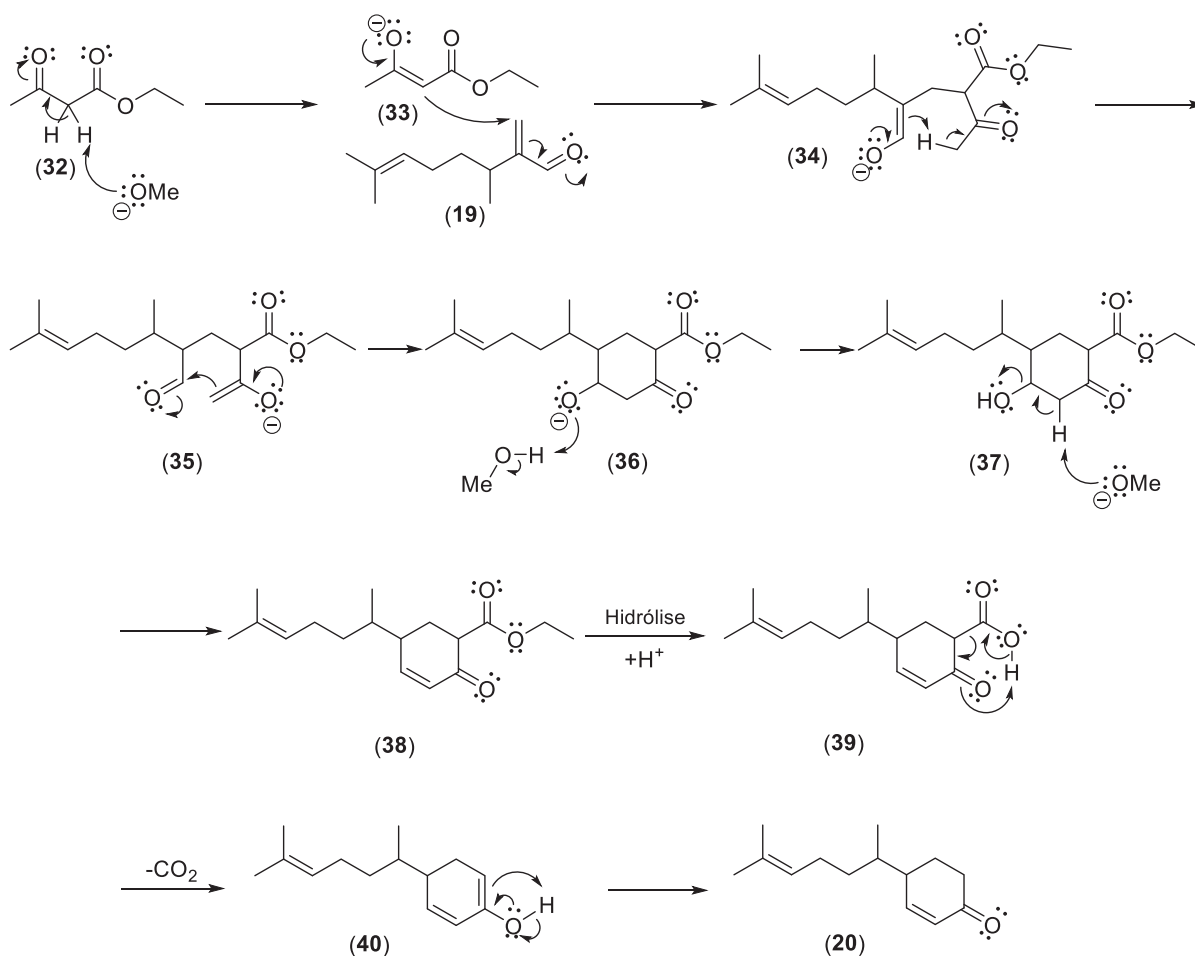


Figura 10: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS) do composto 3,7-dimetil-2-metileno-oct-6-enal (**19**).

Para a formação do ciclo de 6 membros na molécula, realizou-se uma adição de Michael (adição conjugada do ânion enolato do acetoacetato de etila no carbono metilênico do aldeído **19**), seguida de uma condensação aldólica e descarboxilação, formando a cetona **20** (Esquema 3). A reação com sódio metálico e metanol forma o metóxido de sódio, o qual desprotona o acetoacetato de etila, levando ao seu ânion enólico (**33**), o qual é estabilizado por ressonância pelo o grupo cetona e carboxila. O ânion então é adicionado no carbono metilênico de **19**, formando o intermediário **34**, o qual reestabelece o grupo carbonila abstraindo um dos átomos de hidrogênio na posição α -carbonila do grupo cetona, possibilitando a ocorrência de uma reação de adição à carbonila do grupo aldeído, que após uma protonação e desidratação, leva à formação de **38**. Por fim, a hidrólise ácida seguida da descarboxilação leva ao produto desejado, a cetona **20**.



Esquema 3: Mecanismo de adição de Michael seguida de condensação aldólica e descarboxilação para a formação da cetona **20**.

A cetona **20** pode ser caracterizada por meio de seu espectro de RMN de ^{13}C (Figura 11), no qual pode-se observar a presença de um sinal em 200,1 ppm, o qual representa o carbono da função cetona, enquanto os sinais próximos a 155 ppm referem-se ao $\text{C } sp^2$ na posição β -carbonila (o sinal é observado duplicado devido a presença de diastereoisômeros na mistura).

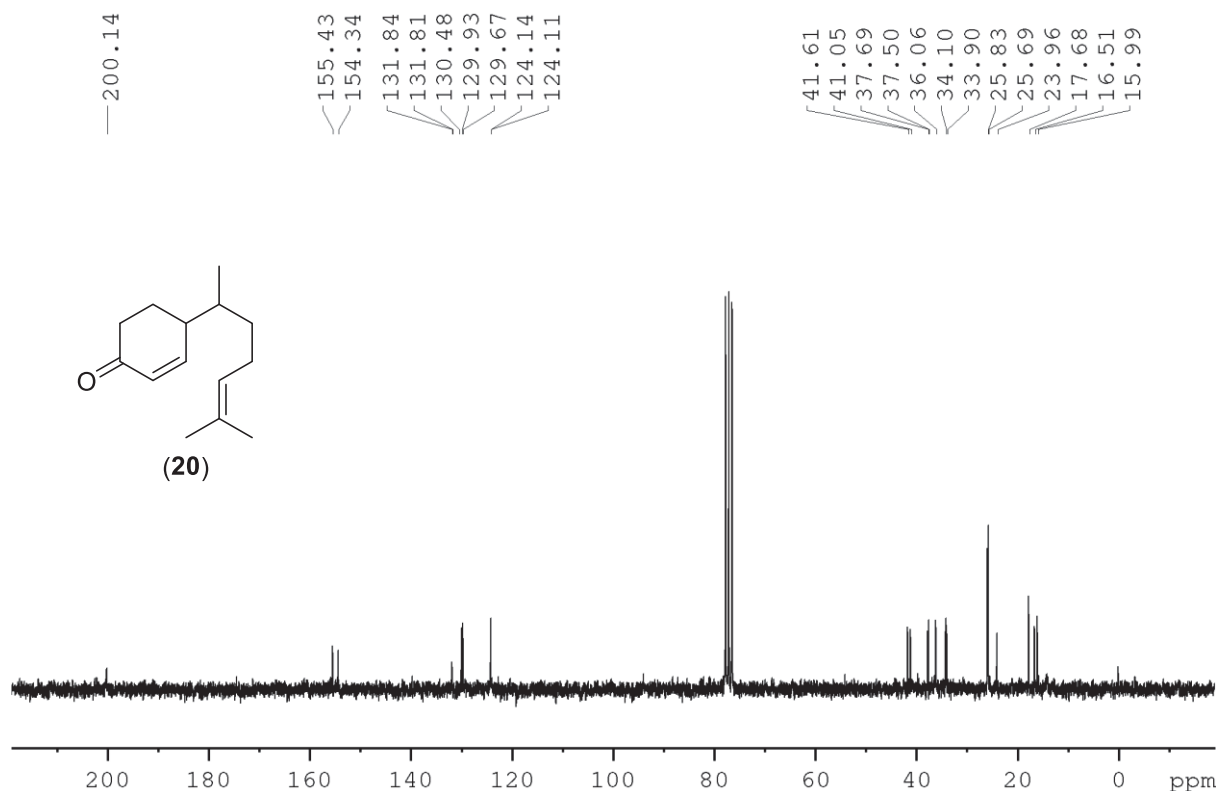
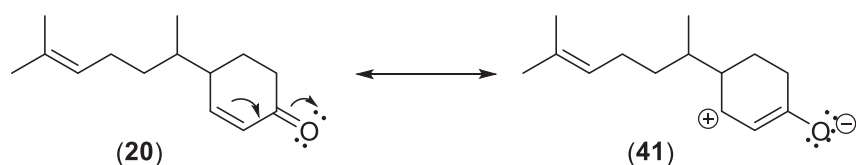


Figura 11: Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) do composto 4-(6-metilhept-5-en-2-il)cicloexen-2-ona (**20**).

O sinal referente ao grupo carbonila apresenta-se menos deslocado em relação à carbonila da ciclohexanona, cujo sinal é observado em 212,1 ppm (Guo, T. *et al.*, 2019). Isto ocorre devido à cetonas α,β -insaturadas apresentarem uma forma de ressonância na qual existe apenas uma insaturação entre o carbono da carbonila e o carbono na posição α a este grupo (**41**) (Esquema 4).



Esquema 4: Estruturas em ressonância da cetona α,β -insaturada **20**.

Nesta estrutura canônica de ressonância **41**, o átomo de oxigênio possui uma carga formal negativa enquanto o átomo de carbono na posição β -carbonila adquire uma carga formal positiva. Desta forma, em cetonas α,β -insaturadas, o efeito de remoção de elétrons por um efeito indutivo exercido pelo átomo de oxigênio no carbono da carbonila é parcialmente

compensado por contribuições de uma forma de ressonância como a descrita anteriormente. Assim, devido ao efeito de deslocalização eletrônica, a blindagem do carbono da carbonila aumentará em relação a de um sistema saturado, levando a sinais com deslocamentos menores em sistemas α,β -insaturados (Gurudata e Stothers, J. B., 1969).

A adição do reagente de Grignard (CH_3MgCl) ao grupo carbonila levou à mistura dos isômeros do zingiberenol, cujos dados de RMN de ^1H e de ^{13}C , assim como seu espectro de massas são iguais aos dados descritos por Zahn *et al.* (2008). Os isômeros sintetizados do zingiberenol podem ser separados em coluna cromatográfica em duas frações, sendo a fração menos polar contendo os isômeros com configuração relativa *cis* enquanto a fração mais polar é composta pelos isômeros *trans* (Figura 12). Tais configurações referem-se à estereoquímica dos carbonos 1 e 4 contidos no anel, sendo que nesse sistema, os isômeros de configuração relativa *cis* são aqueles que apresentam configuração absoluta igual nesses carbonos ($1R,4R$ ou $1S,4S$), enquanto os isômeros *trans* possuem configuração absoluta diferente nos carbonos 1 e 4 ($1R,4S$ ou $1R,4S$) (Khrimian *et al.*, 2014a,b).

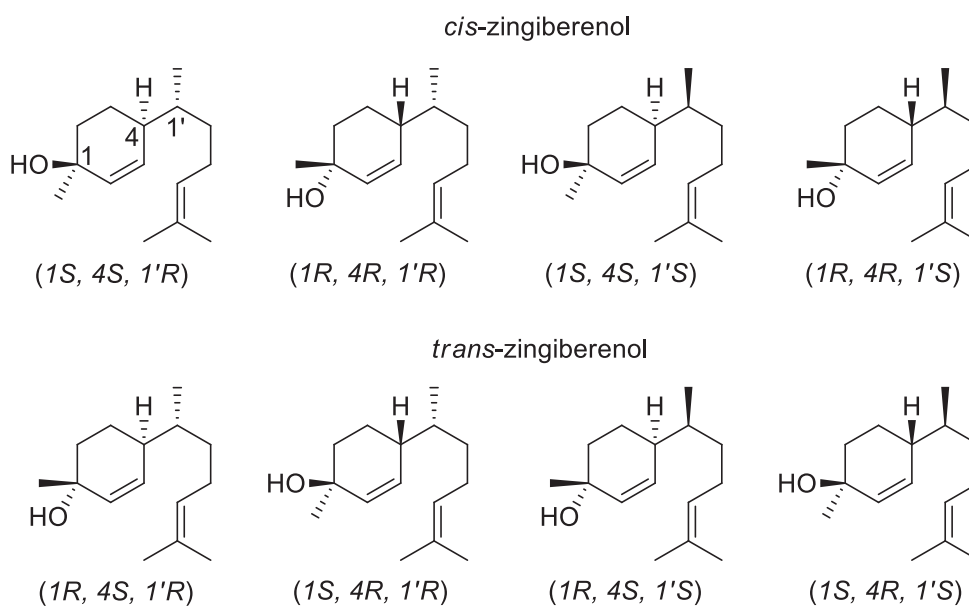


Figura 12: Estereoisômeros do *cis*- e *trans*-zingiberenol.

As identidades dos compostos **11** e **12** foram confirmadas pela comparação dos tempos de retenção (em uma coluna capilar DB-5) de uma mistura dos isômeros sintéticos *cis*- e *trans*-zingiberenol (Figura 13B e 13C). Os espectros de massas dos compostos naturais e sintéticos foram idênticos.

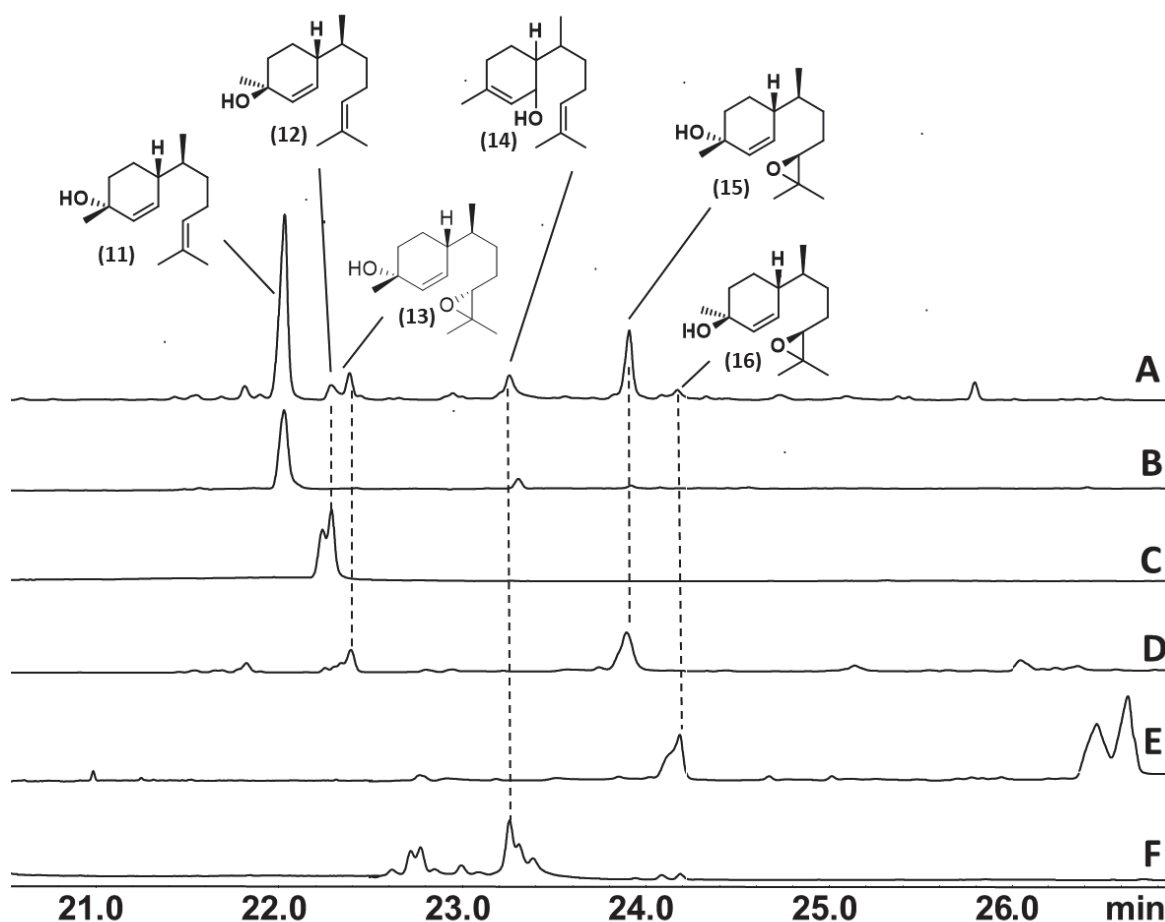
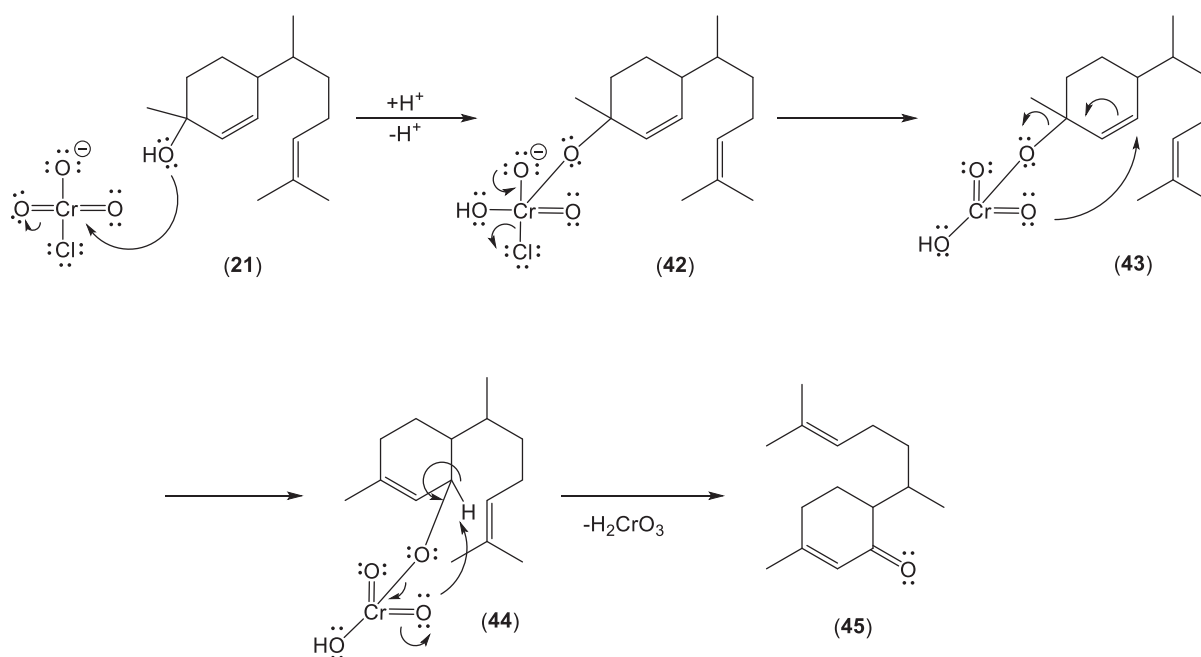


Figura 13: Comparação dos tempos de retenção em coluna capilar DB-5 por meio de cromatogramas do (A) extrato natural de machos da espécie *M. v-luteum*; (B) isômeros do *cis*-zingiberenol (coeluidos); (C) isômeros do *trans*-zingiberenol; (D) isômeros do *cis*-murgantiol; (E) isômeros do *trans*-murgantiol; e (F) uma mistura de isômeros do sesquipiperitol.

O espectro de massas do composto **14** apresentou alta similaridade com os espectros de massas dos compostos **11** e **12**, entretanto o composto **14** não apresentou o mesmo tempo de retenção que um dos isômeros do zingiberenol sintético. Isto também foi observado em extratos de machos de *T. limbativentris* (Blassioli-Moraes *et al.*, 2020), no qual um isômero constitucional do zingiberenol foi identificado, o terpenoide sesquipiperitol. Para confirmar a estrutura do composto **14**, uma mistura de isômeros do sesquipiperitol foi preparada seguindo o procedimento descrito por Lancaster *et al.* (2018), partindo do zingiberenol sintético. Este procedimento foi realizado em duas etapas, sendo a primeira a transposição oxidativa de álcoois terciários alílicos (Esquema 5).



Esquema 5: Síntese da cetona sesquiperitona (45), precursor para a síntese do sesquiperitol (14), via transposição oxidativa do zingiberenol (21).

A cetona 45, também chamada de sesquiperitona, foi submetida à reação de redução com borohidreto de sódio, levando à uma mistura de isômeros do sesquiperitol (14). Um dos isômeros obtidos apresentou o mesmo tempo de retenção que o composto natural 14 (Figura 13F), confirmando a estrutura do composto natural.

Outro grupo de compostos macho-específicos também apresentou espectros de massas com alta similaridade (13, 15 e 16, Figura 14A), sendo o composto majoritário entre eles (15) com um índice de retenção igual a 1740 (RTX-5). No espectro na região do infravermelho de 15, uma banda larga em 3369 cm⁻¹ (Figura 14A') correspondente ao estiramento da ligação O-H de grupo hidroxila, assim como duas bandas em 1255 cm⁻¹ e 919 cm⁻¹ referentes aos estiramentos da ligação C-O, caracterizando um anel oxirânico, foram observadas. Este par de bandas está relacionado com os estiramentos simétrico e assimétrico do anel epóxido, respectivamente (Henbest *et al.*, 1957; Silverstein *et al.*, 2005). Nos espectros de massas, estes compostos apresentaram um pico base com *m/z* 93 e um intenso fragmento com *m/z* 119 em seus espectros de massas, sugerindo que 13, 15 e 16 possuem estruturas relacionadas às dos compostos 11 e 12. As moléculas possuíam aparentemente um íon molecular com *m/z* 220 e um fragmento de baixa intensidade com *m/z* 202 (M⁺-18), sugerindo a perda de uma molécula de água (Figura 14A).

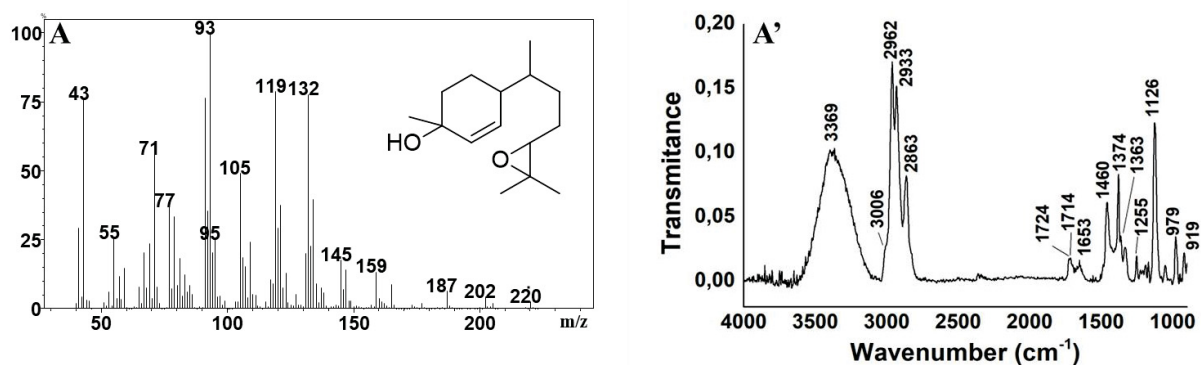
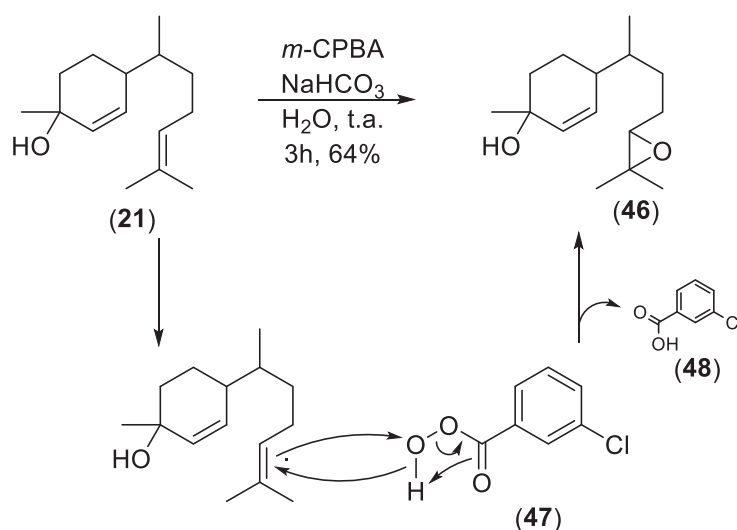


Figura 14: Espectro de massas (A) e espectro na região do infravermelho (A') do composto natural **15**, produzido por machos de *M. v-luteum*.

A comparação do índice de retenção do composto **15** com estruturas derivadas do zingiberenol já descritas na literatura levou à possibilidade de tratar-se do sesquiterpenoide murgantiol. Este composto já foi descrito como macho-específico produzido pelas espécies de percevejos *Murgantia histrionica* (Zahn *et al.*, 2008) e *Halyomorpha halys* (Khrimian *et al.*, 2014a,b), agindo como feromônio de agregação. Portanto, o fragmento com m/z 220 estaria relacionado com a primeira perda de água ($M^+ - 18$), enquanto o fragmento com m/z 202 representa a segunda desidratação ($M^+ - 36$), sendo neste caso o íon molecular correto m/z 238. Um íon com m/z 71 observado no espectro de massas provavelmente representa um fragmento do epóxido ($C_4H_7O^+$), 2,2-dimetiloxirana. A fim de confirmar a identidade deste grupo de moléculas, murgantiol foi sintetizado por meio da epoxidação do zingiberenol, seguindo o procedimento descrito por Zahn *et al.*, (2008) (Esquema 6).



Esquema 6: Síntese do racemato do murgantiol (**46**) e mecanismo da formação da mistura dos isômeros.

A formação de epóxidos utilizando o ácido *meta*-cloroperbenzóico (*m*-CPBA, **21**) ocorre via um mecanismo concertado, como mostrado no Esquema 6. Tal mecanismo consiste no ataque dos elétrons do orbital π do alceno na ligação O–O do peróxido, a qual é fraca, polarizada e eletrofílica. A ligação O–O é então rompida e realiza o ataque ao C sp^2 do alceno inicial, levando ao epóxido (**46**). No *m*-CPBA, uma nova ligação C=O é formada e os elétrons π da antiga ligação carbonílica abstraem o próton (Clayden, J; Greeves, N; Warren, S., 2012), liberando ácido *meta*-clorobenzóico como subproduto (**48**).

Embora o zingiberenol apresente duas insaturações, apenas uma delas reage com *m*-CPBA, caracterizando uma reação regioseletiva. Isto ocorre porque, apesar da insaturação mais substituída ser mais estável, nesse caso ela é mais reativa quando comparada à ligação dupla (menos substituída) devido aos substituintes presentes. Os grupos alquilas ligados aos carbonos 4' e 5' do zingiberenol são doadores de elétrons, aumentando a energia dos elétrons do orbital π da insaturação (HOMO), fazendo com que o alceno torne-se mais nucleofílico e ataque o orbital σ^* da ligação O-O do perácido (LUMO). De forma inversa, o grupo hidroxila próximo à insaturação presente no ciclo do zingiberenol tem um efeito indutivo retirador de elétrons da insaturação, o que leva a um orbital π de menor energia (HOMO) da olefina, dificultando o ataque nucleofílico destes elétrons no orbital σ^* da ligação O-O (Holleben, M. L. A. e Schuch, C. M., 1997; Clayden, J., Greeves, N., Warren, S., 2012).

Ainda que murgantiol e zingiberenol já tenham sido identificados para outras espécies de percevejos como feromônio de agregação e sexual, respectivamente, esta é a primeira vez que se descreve ambos compostos sendo encontrados na mesma espécie de inseto. Além destas moléculas, outros sesquiterpenos e sesquiterpenoides têm sido descritos como feromônios em pentatomídeos, tais como bisaboleno, bisabolol, β -sesquifelandreno e α -curcumeno (Khrimian, *et al.* 2014a,b; Yang *et al.* 2019).

Os espectros de massas obtidos para estes três compostos (**13**, **15** e **16**) foram, na realidade, relacionados a um produto de degradação do murgantiol, a qual ocorre durante o processo de injeção e impacto eletrônico no sistema CG-EM, como também já descrito por Zahn *et al.* (2008, 2012). Portanto, a estrutura do murgantiol foi indiretamente confirmada pelo espectro de massas do produto de degradação e pela coinjeção dos isômeros sintéticos *cis*- e *trans*-murgantiol. Tal fato não anula nem mesmo impede a identificação dos compostos, visto que a degradação ocorreu tanto para os compostos naturais como para os isômeros sintéticos.

3.4.2 Determinação da estereoquímica dos compostos **11** e **12** (zingiberenol)

Para determinar as configurações absolutas dos compostos **11** e **12**, realizou-se a síntese dos isômeros (*1'R*)-zingiberenol, seguindo o mesmo procedimento experimental descrito para a síntese do racemato, partindo do (*R*)-citronelol. Já os isômeros (*1'S*)-zingiberenol foram cedidos pelo Professor Dr. Jocelyn Millar. O extrato dos machos de *M. v-luteum* foi submetido à uma reação de desidratação a fim de formar os isômeros do zingibereno, os quais foram analisados por cromatografia gasosa em fase enantiosseletiva e comparados com o zingibereno presente no óleo essencial de gengibre, cuja configuração já é conhecida na literatura ((*4R,1'S*)-zingibereno) (Kreiser e Körner, 1999). A desidratação dos compostos **11** e **12** gerou um único pico (Figura 15E), o qual apresentou o mesmo tempo de retenção do zingibereno presente no óleo essencial de gengibre (Figura 15D), um dos isômeros presentes a partir da síntese do racemato (Figura 15A) e um dos isômeros gerados na desidratação do (*1'S*)-zingiberenol (Figura 15C). Estes dados indicaram que a configuração relativa dos carbonos 4 e 1' dos compostos naturais **11** e **12** eram *R* e *S*, respectivamente.

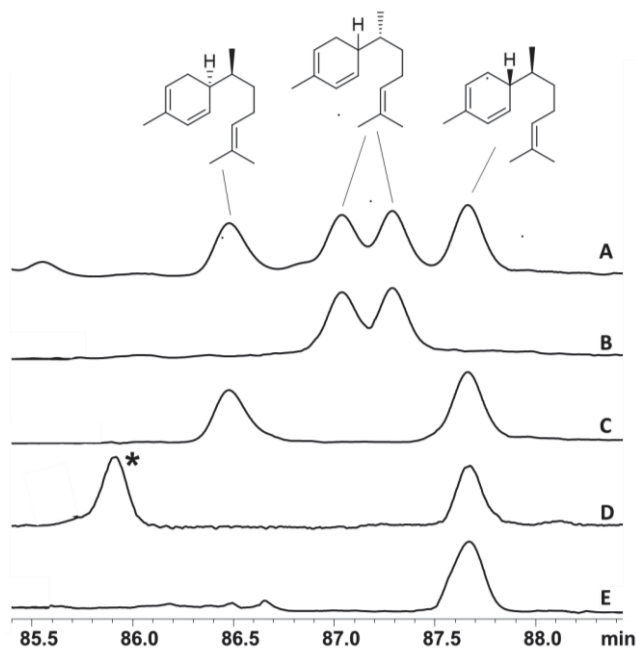


Figura 15: Comparação entre o perfil cromatográfico em fase gasosa e coluna capilar com fase estacionária quiral de: zingiberenos racêmicos (**A**); zingiberenos da desidratação dos isômeros *cis*- e *trans*-(*1'R*)-zingiberenol (**B**); zingiberenos da desidratação dos isômeros *cis*- e *trans*-(*1'S*)-zingiberenol (**C**); (*4R,1'S*)-zingibereno presente no óleo essencial de gengibre (* curcumeno presente no óleo essencial de gengibre) (**D**); e zingibereno produzido pela desidratação do extrato natural de machos da espécie *M. v-luteum* (**E**).

O composto **11** apresentou o mesmo tempo de retenção que um dos isômeros *cis*-zingiberenol, enquanto o composto **12** coeluiu com um dos isômeros do *trans*-zingiberenol. Desta forma, sabendo que os compostos **11** e **12** apresentaram configuração *S* e *R* para os carbonos 1' e 4, respectivamente, pode-se atribuir a estereoquímica do centro quiral presente no carbono 1 para ambos os compostos. Assim, o composto **11** apresenta a estrutura do estereoisômero *cis*-(*1R,4R,1'S*)-zingiberenol, enquanto o composto **12** apresenta a estrutura do estereoisômero *trans*-(*1S,4R,1'S*)-zingiberenol.

Este trabalho descreve pela primeira vez o composto (*1R,4R,1'S*)-zingiberenol (**11**) como produto natural, enquanto o composto **12** é o mesmo estereoisômero descrito para a espécie *O. poecilus* (Oliveira *et al.*, 2013).

3.4.3 Determinação da estereoquímica dos compostos **13**, **15** e **16** (*murgantiol*)

Para determinar a estereoquímica dos isômeros do *murgantiol* foi utilizado um procedimento similar ao descrito para os isômeros do zingiberenol. O extrato natural dos machos assim como os isômeros resultantes da síntese do racemato do *murgantiol* foram submetidos à uma reação de desidratação. O zingibereno do óleo essencial de gengibre foi epoxidado e os epoxi-zingiberenos resultantes foram analisados e comparados por cromatografia gasosa em coluna capilar com fase enantiosseletiva (Figura 16).

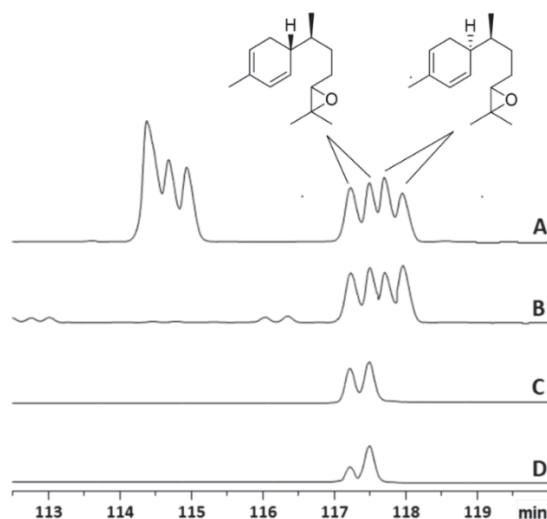


Figura 16: Comparação entre o perfil cromatográfico em coluna capilar com fase estacionária quiral de epoxi-zingiberenos racêmicos (A); (*1'S*)-epoxi-zingiberenos sintetizados a partir do (*1'S*)-*murgantiol* (B); epoxi-zingiberenos sintetizados a partir do óleo essencial de gengibre (C); e epoxi-zingiberenos gerados na desidratação do extrato natural de machos da espécie *M. v-luteum* (D).

Desta forma, pode-se concluir que a configuração dos estereocentros localizados nos carbonos 1' e 4 presentes nos compostos **13**, **15** e **16** são, respectivamente, *S* e *R*, visto que os isômeros dos epoxi-zingiberenos gerados a partir da desidratação do extrato natural apresentaram os mesmos tempos de retenção que os epoxi-zingiberenos provenientes do óleo essencial.

As misturas de isômeros *cis*- e *trans*-zingiberenol foram epoxidadas separadamente utilizando *m*-CPBA levando a misturas dos isômeros *cis*- e *trans*-murgantiol e, estas foram analisadas por cromatografia gasosa. As análises revelaram que o tempo de retenção dos compostos **13** e **15** foram iguais aos dos isômeros *cis*-murgantiol, enquanto o composto **16** pertence ao grupo dos isômeros *trans*-murgantiol (Figura 13D e 13E). Desta forma, pode-se concluir que os compostos **13** e **15** apresentam configuração relativa (*1R,4R,1'S,4'R/S*), diferindo apenas na estereoquímica do carbono 4' do anel epoxido. Já o composto **16** apresenta configuração relativa (*1S,4R,1'S,4'R/S*). A estereoquímica do anel epóxido dos 3 estereoisômeros foi determinada via micro-derivatizações das frações *cis*- e *trans*-zingiberenol separadamente com AD-mix- α e AD-mix- β , os quais levam a formação de epóxidos majoritariamente *R* e *S*, respectivamente (Khrimian *et al.*, 2015). A resolução dos 8 estereoisômeros do (*1'S*)-murgantiol foi realizada em coluna de fase quiral β -DEX-325, sendo possível observar os 8 picos correspondentes no cromatograma e, a partir da comparação dos tempos de retenção dos isômeros do murgantiol sintetizados com ambos AD-mix, foi possível determinar a estereoquímica dos compostos **13**, **15** e **16** (Figura 17).

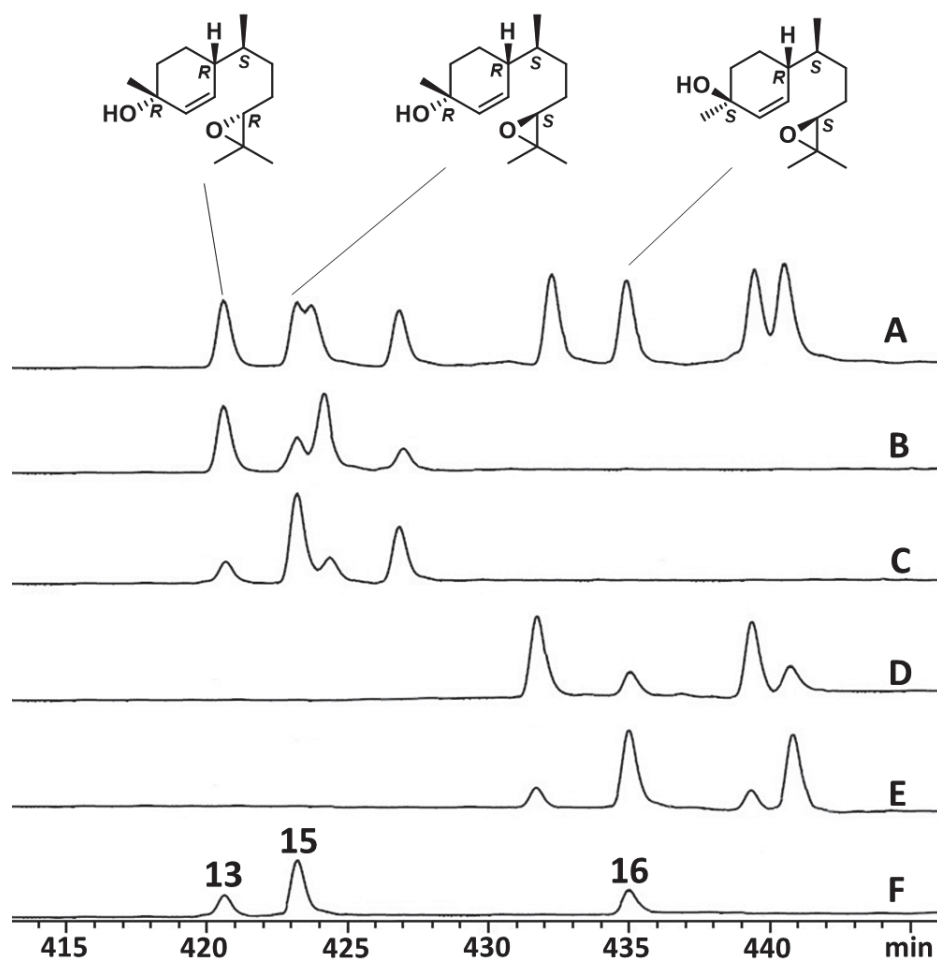


Figura 17: Comparação entre os perfis cromatográficos em fase estacionária quiral (coluna capilar β -DEX-325) dos isômeros (1'S)-murgantiol (**A**); isômeros *cis*-(1'S,4'R)-murgantiol (**B**); isômeros *cis*-(1'S,4'S)-murgantiol (**C**); isômeros *trans*-(1'S,4'R)-murgantiol (**D**); isômeros *trans*-(1'S,4'S)-murgantiol (**E**); voláteis naturais produzidos por indivíduos machos de *M. v-luteum* (**F**).

O composto **13** apresentou o mesmo tempo de retenção que um dos isômeros *cis*-(1'S,4'R)-murgantiol (Figura 17B), indicando que a estereoquímica do carbono 4' desta estrutura é definida como *R*. Desta forma, o composto **13** foi identificado como (1*R*,4*R*,1'S,4'R)-murgantiol. Já o composto **15** foi identificado como sendo o isômero (1*R*,4*R*,1'S,4'S)-murgantiol, visto que o tempo de eluição da coluna foi o mesmo que um dos isômeros *cis*-(1'S,4'S)-murgantiol (Figura 17C). Por fim, o composto **16** teve o mesmo tempo de retenção de um dos isômeros *trans*-(1'S,4'S)-murgantiol, permitindo atribuir sua estrutura como sendo (1*S*,4*R*,1'S,4'S)-murgantiol (Figura 17E).

3.4.4 Testes de bioensaio em olfatômetro em Y

Após a identificação das estruturas dos compostos voláteis macho-específicos da espécie *M. v-luteum*, testes de bioensaio em tubo em Y foram realizados. Os indivíduos machos e fêmeas adultos e virgens de *M. v-luteum* foram atraídos para o extrato natural de machos quando testados contra o controle (hexano e dieta natural – d.n.) (fêmeas: $P < 0,001$ e machos: $P = 0,05$) (Figura 18).

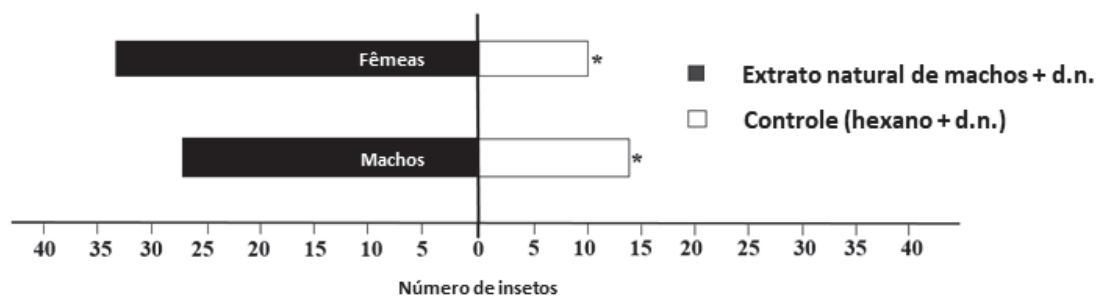


Figura 18: Respostas comportamentais de machos e fêmeas adultos e virgens para o extrato de machos de *M. v-luteum* e dieta natural (d.n.) versus controle (hexano) em olfatômetro em Y. (*) diferença estatisticamente significante, $P \leq 0,05$.

Os bioensaios empregando compostos sintéticos isolados mostraram que fêmeas e machos foram atraídos para (*1'S*)-zingiberenol quando testado contra hexano (fêmeas: $P = 0,001$ e machos: $P = 0,01$). Entretanto, nos bioensaios com (*1'S*)-murgantiol, apenas as fêmeas foram atraídas para o composto sintético ($P = 0,002$), sendo a resposta dos machos não diferente quando comparada ao hexano ($P = 0,422$) (Figura 19).

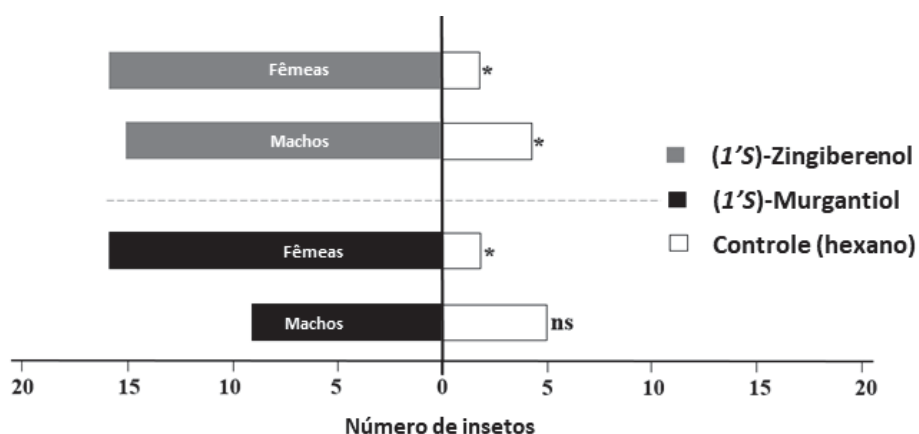


Figura 19: Respostas comportamentais de bioensaios em olfatômetro em Y com machos e fêmeas virgens da espécie *M. v-luteum* frente a (*1'S*)-zingiberenol e (*1'S*)-murgantiol versus controle (hexano). (*) Diferença estatisticamente significante, $P \leq 0,05$. (ns) Diferença estatisticamente não significante, $P > 0,05$.

Os testes empregando uma mistura binária de (*1'S*)-zingiberenol e (*1'S*)-murgantiol frente ao hexano mostraram atratividade para machos ($P=0,004$) e fêmeas ($P=0,004$). Por outro lado, quando a mesma mistura foi testada contra (*1'S*)-zingiberenol, apenas foi observada a atração para as fêmeas ($P\leq 0,001$) para a mistura, enquanto os machos não mostraram distinção entre os dois odores ($P=0,26$) (Figura 20).

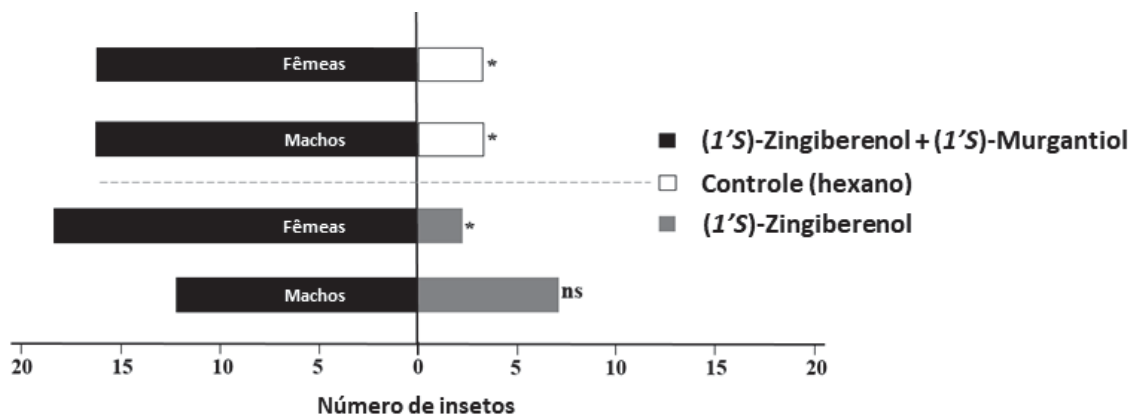


Figura 20: Respostas de machos e fêmeas virgens de *M. v-luteum* para a mistura de (*1'S*)-zingiberenol e (*1'S*)-murgantiol (na proporção 6:4) versus o controle (hexano) (barras acima da linha pontilhada) ou (*1'S*)-zingiberenol (barras abaixo da linha pontilhada) em bioensaios em olfatômetro em Y. (*) Diferença estatisticamente significativa, $P\leq 0.05$. (ns) Diferença estatisticamente não significativa, $P>0.05$.

Compostos macho-específicos são frequentemente emitidos por hemípteras para atrair fêmeas ou ambos os sexos (Aldrich *et al.*, 1991; Bergmann *et al.*, 2009; Blassioli-Moraes *et al.*, 2008). Em *M. v-luteum* foi observado que os compostos macho-específicos desencadeiam diferentes comportamentos; os bioensaios sugeriram que os isômeros de zingiberenol provavelmente agem como feromônio de agregação, atraindo ambos os sexos, enquanto murgantiol é responsável pela atração apenas das fêmeas. Assim, um aparente sinal químico bifuncional resulta da combinação destes produtos naturais, representando um feromônio de agregação-sexual. Uma situação similar ocorre no percevejo da espécie *Piezodorus hybneri*, onde os machos produzem três compostos sexo-específicos. Para esta espécie, os testes em olfatômetro mostraram que ambos os sexos foram atraídos pela mistura dos compostos sintéticos e que machos apresentaram um comportamento pré-copulatório em resposta ao feromônio (Leal *et al.*, 1998).

Pentatomídeos pertencentes à tribo Capricorini geralmente compartilham das mesmas plantas hospedeiras (Garbelotto e Campos, 2014). *T. limbativentris* geralmente alimenta-se de plantas da família do arroz em estágio vegetativo, enquanto *M. v-luteum* é relatado em arroz e grama no estágio de formação da semente (Ferreira e Martins, 1984; Ferreira *et al.*, 2001). *O. poecilus* e *M. v-luteum* são proximamente relatados e têm sido encontrados alimentando-se do mesmo estágio de plantas de arroz (Ferreira *et al.* 2001; Rolston, 1978). Estas três espécies de percevejos produzem e são atraídos por zingiberenol, mas este composto ocorre em diferentes misturas e aparentemente desempenham diferentes papéis como feromônio sexual ou de agregação nestas espécies. Embora as espécies produzam o mesmo composto, um período diferente de alimentação (para *T. limbativentris*) e uma mistura diferente de compostos (*M. v-luteum*) pode evitar uma possível atração interespecífica. Somado a isso, sinais vibracionais e a estereoquímica dos compostos podem desencadear papéis importantes nos hábitos de vida dos pentatomídeos (Cokl e Borges, 2017; McBrien *et al.*, 2002; Virant-Doberlet e Cokl, 2004).

Os bioensaios com os isômeros do murgantiol atraíram apenas as fêmeas de *M. v-luteum*, demonstrando seu papel como feromônio sexual. O mesmo composto é também produzido pelos machos da espécie *M. histriônica* e *H. halys*, mas nestas espécies o murgantiol age como feromônio de agregação (Zanh *et al.*, 2008). Em percevejos da subordem HEMIPTERA, um cenário similar pode ser observado para o sesquiterpeno *trans- α -bergamoteno*. Este composto foi identificado como feromônio sexual em *Leptoglossus zonatus* (Inoue *et al.* 2019), enquanto em *Dolycoris baccarum*, o mesmo composto foi descrito como feromônio de agregação (Yang *et al.*, 2019).

3.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para a espécie *M. v-luteum*, foram detectados seis compostos macho-específicos, identificados como os sesquiterpenoides sesquiperitol, (1*S*,4*R*,1'*S*)-zingiberenol, (1*R*,4*R*,1'*S*)-zingiberenol, (1*R*,4*R*,1'*S*,4'*R*)-murgantiol, (1*R*,4*R*,1'*S*,4'*S*)-murgantiol e (1*S*,4*R*,1'*S*,4'*S*)-murgantiol, os quais agem como feromônio sexual-agregação. Desta forma, o uso destes compostos em armadilhas é uma possibilidade para o controle populacional da espécie. Esta é a primeira vez que todos estes compostos são relatados juntos em machos de uma mesma espécie. A determinação da configuração absoluta dos isômeros do zingiberenol e murgantiol foi realizada por diferentes métodos, não necessitando a síntese isolada de cada um dos isômeros.

4. CONCLUSÃO

O estudo com ambas as espécies de percevejos, *O. leucoptera* e *M. v-luteum*, contribuiu com o conhecimento acerca da ecologia química desses insetos quanto a sua comunicação e comportamento.

A elucidação estrutural foi possível a partir de análises de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas e espectroscopia na região do infravermelho. Os compostos puderam ter sua estrutura confirmada por meio da síntese de compostos de referência, atrelada à comparação de tempos de retenção e espectros de massas e infravermelho.

Para *O. leucoptera*, destaca-se a identificação do primeiro feromônio sexual da família Scutelleridae, (*R*)-cânfora e (*R*)-borneol. Ainda se verificou que os compostos defensivos são também, em sua grande maioria, produzidos por ambos os sexos e por outras espécies de percevejos. (*R*)- α -terpineol foi detectado apenas nas glândulas metatorácicas dos machos, sugerindo tratar-se de um intermediário sintético para o feromônio.

O trabalho com *M. v-luteum* mostrou que machos desta espécie produzem diferentes isômeros de zingiberenol e murgantiol, além de sesquipiperitol. Os dois primeiros já foram identificados de forma isolada em outras espécies de pentatomídeos, porém esta é a primeira vez que são detectados em indivíduos de uma mesma espécie. Embora não tenham sido sintetizados todos os isômeros isolados dessas moléculas, foi possível determinar as suas estereoquímicas a partir de métodos alternativos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abad, R. F. P.; Azhari, S.; Djozan, D.; Hejazi, M. J. Compounds in abdominal and metathoracic scent glands of nymphs and adults of *Graphosoma lineatum* (Linnaeus, 1758) (Het., Scutelleridae) under laboratory conditions. *Munis Entomology & Zoology Journal*. Vol. 7, p. 870–880, 2012.
- Acosta, L. G.; Jahnke, S. M.; Redaelli, L. R.; Pires, P. R. S. Insect diversity in organic rice fields under two management systems of levees vegetation. *Brazilian Journal of Biology*. Vol. 77, N° 4, p 731-744, 2017.
- Aldrich, J. R. Chemical ecology of the Heteroptera. *Annual Review of Entomology*. Vol. 33, p. 211–238, 1988.
- Aldrich, J. R., Chemical ecology of the Heteroptera. *Annu. Rev. Entomol.* 1988, 33, 211-238.
- Aldrich, J. R.; Hoffmann, M. P.; Kochansky, J. P.; Lusby, W. R.; Eger, J. E.; Payne, J. A. Identification and attractiveness of a major pheromone component for nearctic *Euschistus* spp. stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae). *Environmental Entomology*. Vol. 20, p. 477-483, 1991.
- Aldrich, J. R.; Leal, W. S.; Nishida, R.; Khirman, A. P.; Lee, C. J.; Sakuratani, Y. Semiochemistry of aposematic seed bugs. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. Vol. 84, p. 127–135, 1997.
- Aldrich, J. R.; Lusby, R.; Kochansky, W. P.; Abrams, J.C. Volatile compounds from the predatory insect *Podisus maculiventris* (Hemiptera: Pentatomidae): Male and female metathoracic scent gland and female dorsal abdominal gland secretions. *Journal of Chemical Ecology*. Vol. 10, p. 561–568, 1984.
- Aldrich, J. R.; Oliver, J.E.; Taghizadeh, T.; Ferreira, J. T. B.; Liewehr, D. Pheromones and colonization: Reassessment of the milkweed bug migration model (Heteroptera: Lygaeidae: Lygaeinae). *Chemoecology*. Vol. 9, p. 63–71, 1999.
- Aldrich, J. R.; Zhang, A.; Oliver, J. E. Attractant pheromone and allomone from the metathoracic scent gland of a broad-headed bug (Hemiptera: Alydidae). *The Canadian Entomologist*. Vol. 132, p. 915–923, 2000.
- Arakaki, N.; Shimoji, Y.; Wakamura, S. Camphor: An attractant for the cupreous polished chafer, *Protaetia pryeri pryeri* (Janson) (Coleoptera: Scarabaeidae). *Applied Entomology and Zoology*. Vol. 44, p. 621–625, 2009.

- Armarego, W. L. F.; Chai, C. L. L. Purification of Laboratory Chemicals, Elsevier, Canberra, 2009.
- Banthorpe, D. V.; Charlwood, B. V.; Francis, M. J. O. The biosynthesis of monoterpenes. Chemical Reviews. Vol. 72, N° 2, 1972.
- Bergmann, J.; González, A.; Zarbin, P. H. G. Insect pheromone research in South America. Journal of Brazilian Chemical Society. Vol. 20, N° 7, p. 1206-1219, 2009.
- Blassioli-Moraes, M. C.; Khrimian, A.; Michereff, M. F. F.; Magalhães, D. M.; Hickel, E.; Freitas, T. F. S.; Barrigossi, J. A. F.; Laumann, R. A.; Silva, A. T.; Guggilapu, S. D.; Silva, C. C.; Sant'Ana, J.; Borges, M. Male-Produced Sex Pheromone of *Tibraca limbativentris* Revisited: Absolute Configurations of Zingiberenol Stereoisomers and their Influence on Chemotaxis Behavior of Conspecific Females. Journal of Chemical Ecology. Vol. 46, p. 1-9, 2020.
- Blassioli-Moraes, M. C.; Pareja, M.; Laumann, R. A.; Borges, M. The chemical volatiles (Semiocemicals) produced by neotropical stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae). Neotropical Entomology. Vol. 37, N° 5, p. 489-505, 2008.
- Butenandt, A., Beckmann, R., stamm, D., Hecker, E. Uber den sexual-lockstoff des seidenspinners *Bombyx mori* - Reindarstellung und konstitution. Zeitschrift Fur Naturforschung Part B-Chemie Biochemie Biophysik Biologie Und Verwandten Gebiete, v. 14, p.283-284, 1959.
- Calam, D. H.; Youdeowei, A. Identification and functions of secretion from the posterior scent gland of fifth instar larva of the bug *Dysdercus intermedius*. Journal of Insect Physiology. Vol. 14, p. 1147–1158, 1968.
- Carvajal, M. A.; Vargas, C. J.; Faúndez, E. I. New data on *Pellaea stictica* Dallas (Heteroptera: Pentatomidae) in South America. Revista Chilena de Entomologia, v.45, n. 3, 2019.
- Chapman, R. F. The Insects Structure and Functions. Cambridge University Press. v. 4. 1998.
- Clayden, J.; Greeves, N.; Warren, S. Organic Chemistry. Oxford University Press, Second Edition. p. 429-430, 2012.
- Cokl, A.; Borges, M. Stinkbugs: Biorational Control Based on Communication Processes. CRC press. 1st Edn. p. 96-100, p. 276, 2017.
- Donkin, R. A. Dragon's Brain Perfume – An Historical Geography of Camphor. Brill, Leiden. p. 307, 1999.

- Durak, D.; Kalender, Y. Fine structure and chemical analysis of the metathoracic scent gland of *Eurygaster maura* (Linnaeus, 1758) (Heteroptera: Scutelleridae). *Folia Biológica*. Vol. 55, p. 133–141, 2007.
- Eger, J. E.; Barcellos, A.; Weiler, L. Shield bugs (Scutelleridae). In: Panizzi AR, Grazia J (eds) *True bugs (Heteroptera) of the neotropics*. Springer, Dordrecht. p. 757–788, 2015.
- Fao *et al.* (2018) FAO statistical databases. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2018. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Acesso em: 05 de janeiro de 2022.
- Fávaro, C. F.; Rodrigues, M. A. C. M.; Aldrich, J. R.; Zarbin, P. H. G. Identification of Semiochemicals in Adults and Nymphs of the Stink Bug *Pallantia macunaima* Grazia (Hemiptera: Pentatomidae). *Journal of the Brazilian Chemistry Society*. Vol. 22, p. 58-64, 2011.
- Fávaro, C. F.; Santos, T. B.; Zarbin, P. H. G. Defensive compounds and male-specific sex pheromone of the stink bug, *Agroecus griseus*. *Journal of Chemical Ecology*. Vol. 38, p. 1124-1132, 2012.
- Fávaro, C. F.; Santos, T. B.; Zarbin, P. H. G. Defensive compounds and male-specific sex pheromone of the stink bug, *Agroecus griseus*. *J. Chem. Ecol.* v, 38, p.1124–1132, 2012.
- Fávaro, C. F.; Zarbin, P. H. G. Identification of (*Z*)-4- and 1-Tridecene in the Metathoracic Gland Secretions of Stink Bugs Employing the GC/FT-IR Technique. *Journal of Chemical Ecology*. Vol. 39, p. 1182-1185, 2013.
- Feldlaufer, M. F.; Domingue, M. J.; Chauhan, K. R.; Aldrich, J. R. 4-Oxo-Aldehydes from the Dorsal Abdominal Glands of the Bed Bug (Hemiptera: Cimicidae). *Journal of Medical Entomology*. Vol. 47, p. 140–143, 2010.
- Ferreira, E.; Barrigossi, J. A. F.; Vieira, N. D. A. Percevejos das panículas do arroz: fauna heteroptera associada ao arroz. *Embrapa Arroz e Feijão-Circular Técnica* 43. p. 52, 2001.
- Ferreira, E.; Martins, J. F. S. *Insetos prejudiciais ao arroz no Brasil e seu controle*. Goiânia: EMBRAPA-CNPAF. p. 67, 1984.
- Ferreira, J. T. B.; Correia, A. G.; Vieira, P. C. *Produtos naturais no controle de insetos*, Editora da UFSCAR, São Carlos, 2001.
- Ferreira, J. T. B.; Zarbin, P. H. G. Amor ao primeiro odor: A comunicação química entre os insetos. *Química Nova na Escola* 2(7): 3–6. 1998.

- Gallo, D.; Nakano, O.; Neto, S. S.; Carvalho, R. P. L.; Baptista, G. C.; Filho, E. B.; Parra, J. R. P.; Zucchi, R. A.; Alves, S. B.; Vendramin, J. D.; Marchini, L. C.; Lopes, J. R. S.; Omoto, C. Entomologia agrícola. Piracicaba, FEALQ, p. 920, 2002.
- Garbelotto, T. D. A.; Campos, L. A. Pentatominae do Sul de Santa Catarina. Curitiba: Sociedade Brasileira de Zoologia. Zoologia: guias e manuais de identificação series. p. 80, 2014.
- Grazia, J.; Fortes, N. D. F.; Campos, L. A., Superfamília Pentatomoidea. In Invertebrados Terrestres - Biodiversidade do Estado de São Paulo. Síntese do conhecimento ao final do século XXI., 1 ed.; Brandão, C. R. F.; Cancellato, E. M., Eds. FAPESP: São Paulo, 1999; Vol. 5, pp 101 - 112.
- Grazia, J.; Panizzi, A. R.; Greve, C.; Schwertner, C. F.; Campos, L. A.; Garbelotto, T. A. Fernandes Stink bugs (Pentatomidae). In: True bugs (Heteroptera) of the Neotropics. Springer, Dordrecht. p. 681-756, 2015.
- Grützmacher, D. D.; Grützmacher, A. D.; Agostinetto, D.; Loeck, A. E.; Roman, R.; Peixoto, S. C.; Zanella, R. Monitoramento de agrotóxicos em dois mananciais hídricos no sul do Brasil. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental. Vol. 12, Nº 6, p. 632-637, 2008.
- Guo, T.; Gao, Y.; Li, Z.; Liu, J.; Guo, K. Cyclopropenium-Activated DMSO for Swern-Type Oxidation. Synlett. Vol. 30, p. 329, 2019.
- Gurudata, G.; Stothers, J. B. ¹³C nuclear magnetic resonance studies. XIII. ¹³C carbonyl carbon shieldings of some β,γ -unsaturated ketones. Canadian Journal of Chemistry. Vol. 47, p. 3601, 1969.
- Hassani, H.; Abad, R. F. P.; Djozan, D.; Fazel, M. M. Compounds in metathoracic glands of adults of the sunn pest, *Eurygaster integriceps* (Puton) (Heteroptera: Scutelleridae). Munis Entomology & Zoology. Vol. 5, p. 232–239, 2010.
- Henbest, H. B.; Meakins, G. D.; Nicholls, B.; Taylor, K. J. Detection of the epoxide group by infrared spectroscopy. Journal of the Chemical Society. p. 1459–1462, 1957.
- Holleben, M. L. A.; Schuch, C. M. Ativação do peróxido de hidrogênio para a epoxidação de olefinas não-funcionalizadas. Química Nova. Vol. 1, Nº 20, p. 58-71, 1997.
- Inoue, K. M.; Vidal, D. M.; Saad, E. B.; Martins, C. B. C.; Zarbin, P. H. G. Identification of the Alarm and Sex Pheromones of the Leaf-Footed Bug, *Leptoglossus zonatus* (Heteroptera: Coreidae). Journal of the Brazilian Chemistry Society. Vol. 30, p. 939-947, 2019.

- Javahery, M. C. W.; Schaefer, J. D. L. Shield bugs (Scutelleridae). In: Schaefer, C.W. & A.R. Panizzi (eds.), *Heteroptera of Economic Importance*. CRC, Boca Raton. p. 475-503. 2000.
- Khrimian, A.; Shirali, S.; Vermillion, K. E.; Siegler, M. A.; Guzman, F.; Chauhan, K.; Aldrich, J. R.; Weber, D. C. Determination of the Stereochemistry of the Aggregation Pheromone of Harlequin Bug, *Murgantia histrionica*. *Journal of Chemical Ecology*. Vol. 40, p. 1260-1268, 2014b.
- Khrimian, A.; Zhang, A.; Weber, D. C.; Ho, H. Y.; Aldrich, J. R.; Vermillion, K. E.; Leskey, T. C. Discovery of the aggregation pheromone of the brown marmorated stink bug (*Halyomorpha halys*) through the creation of stereoisomeric libraries of 1-bisabolen-3-ols. *Journal of Natural Products*. Vol. 77, N° 7, p. 1708-1717, 2014a.
- Kreiser, W.; Körner, F. Stereospecific synthesis of (+)- β -sesquiphellandrene. *Helvetica Chimica Acta*. Vol. 82, p. 1427–1432, 1999.
- Lancaster, J.; Khrimian, A.; Young, S.; Lehner, B.; Luck, K.; Wallingford, A.; Ghosh, S. K. B.; Zerbe, P.; Muchlinski, A.; Marek, P. E.; Sparks, M. E.; Tokuhisa, J. G.; Tittiger, C.; Köllner, T. G.; Weber, D. C.; Gundersen-Rindal, D. E.; Kuhar, T. P.; Tholl, D. De novo formation of an aggregation pheromone precursor by an isoprenyl diphosphate synthase-related terpene synthase in the harlequin bug. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Vol. 115, N° 37, p. E8634-E8641, 2018.
- Leal, W. S.; Higuchi, H.; Mizutani, N.; Nakamori, H.; Kadosawa, T.; Ono, M. Multifunctional communication in *Riptortus clavatus* (Heteroptera: Alydidae): Conspecific nymphs and egg parasitoid *Ooencyrtus nezarae* use the same adult attractant pheromone as chemical cue. *Journal of Chemical Ecology*. Vol. 21, p. 973–985, 1995.
- Leal, W. S.; Kuwuhara, S.; Shi, X.; Higuchi, H.; Marino, C. E. B.; Ono, M.; Meinwald, J. Male-released sex pheromone of the stink bug *Piezodorus hybneri*. *Journal of Chemical Ecology*. Vol. 24, N° 11, p. 1817-1829, 1998.
- Leal, W. S.; Ueda, Y.; Ono, M. Attractant pheromone for male rice bug, *Leptocorisa chinensis*: Semiochemicals produced by both male and female. *Journal of Chemical Ecology*. Vol. 22, p. 1429–1437, 1996.
- McBrien, H. L.; Cokl, A.; Millar, J. G. Comparison of substrate-borne vibrational signals of two congeneric stink bug species, *Thyanta pallidovirens* and *T. custator accerra* (Heteroptera: Pentatomidae). *Journal of Insect Behavior*. Vol. 15, N° 6, p. 715-738, 2002.
- Millar, J. G. Pheromones of true bugs. *Top. Curr. Chem.* 2005, 240, 37–84.

- Millar, J. G. Pheromones of true bugs. *Topics in Current Chemistry*. Vol. 240, p. 37–84, 2005.
- Millar, J. G.; McBrien, H. L.; Ho, H. Y.; Rice, R. E.; Cullen, E.; Zalom, F. G.; Uokl, A. Pentatomid bug pheromones in IPM: possible applications and limitations. *IOBC wprs Bull* Vol. 25, p. 1–11, 2002.
- Millar, J. G.; Rice, R. E.; Wang, Q. Sex pheromone of the mirid bug *Phytocoris relativus*. *Journal of Chemical Ecology*. Vol. 23, p. 1743–1754, 1997.
- Moraes, M. C. B.; Pareja, M.; Laumann, R. A.; Borges, M. The chemical volatiles (Semiochemicals) produced by neotropical stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae). *Neotropical Entomology*. Vol. 37, p. 489–505, 2008.
- Moreira, M. A. B.; Zarbin, P. H. G.; Coracini, M. D. Feromônios associados a coleópteros-praga em produtos armazenados. *Química Nova* 28: No 3, 472-477. 2005.
- Mori, K. *Molecular Asymmetry and Pheromone Science*. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry. v. 60. pp. 1925-1932. 1996.
- Mori, K., Synthesis of optically active pheromones. *Tetrahedron*, v. 45, p.3233- 3298, 1989.
- Nasipuri, D.; Samaddar, A. K.; Gupta, M. D. Asymmetric reduction of carbonyl compounds with chiral alkoxyaluminium and alkoxy magnesium halides: an overview. *Proceedings of the Indian Academy of Sciences*. Vol. 93, N° 4, p. 601-614, 1993.
- Oliveira, M. W. M.; Borges, M.; Andrade, C. K. Z.; Laumann, R. A.; Barrigossi, J. A. F.; Blassioli-Moraes, M. C. Zingiberenol, (1*S*,4*R*,1'*S*)-4-(1',5'-dimethylhex-4'-enyl)-1-methylcyclohex-2-en-1-ol, identified as the sex pheromone produced by males of the rice stink bug *Oebalus poecilus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 61, N° 32, p. 7777-7785, 2013.
- Panizzi, A. R.; Lucini, T. Host plant-stink bug (Pentatomidae) relationships. In: *Stinkbugs: Biorational Control Based on Communication Processes*, 2017.
- Pattenden, G.; Staddon, B. W. Observations of the metasternal scent glands of *Lethocerus* spp. (Hem.: Het.: Belostomatidae). *Annals of Entomological Society of America*. Vol. 63, p. 900-901, 1970.
- Prudic, K. L.; Noge, K.; Becerra, J. X. Adults and Nymphs Do Not Smell the Same: The Different Defensive Compounds of the Giant Mesquite Bug (*Thasus neocalifornicus*: Coreidae). *Journal of Chemical Ecology*. Vol. 34, p. 734–741, 2008.
- Rolston, L. H. A new subgenus of *Euschistus* (Hemiptera: Pentatomidae). *Journal of New York Entomological Society*. Vol. 86, N° 2, p. 102-120, 1978.

- Silverstein, R. M.; Brownlee, R. G.; Bellas, T. E.; Wood, D. L.; Browne, L. E. *Science*, v. 159, p. 889, 1968.
- Silverstein, R. M.; Webster, F. X.; Kiemle, D. J. *Spectrometric identification of organic compounds*. 7ed. p. 91, 2005.
- Smith, R. F.; Pierce, J. R. H. D.; Borden, J. H. Sex pheromone of the mullein bug, *Campylomma verbasci* (Meyer) (Heteroptera: Miridae). *Journal of Chemical Ecology*. Vol. 17, p. 1437–1447, 1991.
- Soldi, R. A.; Rodrigues, M. A. C. D.; Aldrich, J. R.; Zarbin, P. H. G. The sex pheromone of the true bug *Phthia picta* (Heteroptera: Coreidae) is an unusual hydrocarbon. *Journal of Chemical Ecology*. Vol. 38, p. 814–824, 2012.
- Staddon, B. W. *The Scent Glands of Heteroptera*. *Advanced Insect Physiology*. Vol. 14, p. 351-418, 1979.
- Trigo, J. R., Bittrich, V., Amaral, M. C. *Ecologia Química*. Chemkeys, 2000.
- Vandendool, H.; Kratz, P. D. A generalization of retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography A*. Vol. 11, p. 463–471, 1963.
- Vilela, E. F. Adoção de feromônios no manejo integrado de pragas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Vol. 27, N° 23, p. 313-318, 1992.
- Vilela, E. F.; Della-Lucia, T. M. C. *Feromônios de insetos (Biologia, Química e emprego no manejo de pragas)*. Viçosa, UFV, Impr. Univ. 155 p. 1987.
- Virant-Doberlet, M.; Cokl, A. Vibrational communication in insects. *Neotropical Entomology*. Vol. 33, N° 2, p. 121-134, 2004.
- Watanabe, K.; Shimizu, N. Identification of a sex pheromone of the chrysanthemum lace bug *Corythucha marmorata* (Hemiptera: Tingidae). *Scientific Reports*. Vol. 7, p. 7302, 2017.
- Weber, D. C.; Khirimian, A.; Blassioli-Moraes, M. C.; Millar, J. G. Semiochemistry of Pentatomoidea. In: McPherson, J.E. (Ed.), *Invasive Stink Bugs and Related Species (Pentatomoidea): Biology, Higher Systematics, Semiochemistry, and Management*. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 677-725, 2018.
- Witzgall, P.; Kirsch, P.; Cork, A. Sex pheromones and their impact on pest management. *Journal of Chemical Ecology*, Vol. 36, N° 1, p. 80-100, 2010.
- Yang, C. Y.; Seo, M. H.; Lee, S. C. Male-Produced Aggregation Pheromone of the Sloe Bug, *Dolycoris baccarum* L. (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae). *Journal of Chemical Ecology*. Vol. 45, p. 818–822, 2019.

- Zahn, D. K.; Moreira, J. A.; Millar, J. G. Erratum to: Identification, synthesis, and bioassay of a male-specific aggregation pheromone from the harlequin bug, *Murgantia histrionica*. *Journal of Chemical Ecology*. Vol. 38, p. 126, 2012.
- Zahn, D. K.; Moreira, J. A.; Millar, J. G.; Identification, synthesis, and bioassay of a male-specific aggregation pheromone from the harlequin bug, *Murgantia histrionica*. *Journal of Chemical Ecology*. Vol. 34, N° 2, p. 238-251, 2008.
- Zarbin, P. H. G.; Borges, M.; Santos, A. A.; Oliveira, A. R. M.; Simonelli, F.; Marques, F. A. Alarm Pheromone system of stink bug *Piezodorus guildinii* (Heteroptera: Pentatomidae). *Journal of the Brazilian Chemical Society*. Vol. 11, p. 424-428, 2000.
- 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*. Vol. 22, p. 263–268, 1999.
- Zgonik, V.; Cokl, A.; The role of signals of different modalities in initiating vibratory communication in *Nezara viridula*. *Central European Journal of Biology*, v. 9, p.200-211, 2014.
- Zhang, Q. H.; Aldrich, J. R. Pheromones of milkweed bugs (Heteroptera: Lygaeidae) attract wayward plant bugs: *Phytocoris mirid* sex pheromone. *Journal of Chemical Ecology*. Vol. 29, p. 1835–1851, 2003.
- Zhang, Q. H.; Aldrich, J. R. Sex pheromone of the plant bug, *Phytocoris calli* Knight. *Journal of Chemical Ecology*. Vol. 34, p. 719–724, 2008.

6. ANEXO I – ESPECTROS E CROMATOGRAMAS DO CAPÍTULO I

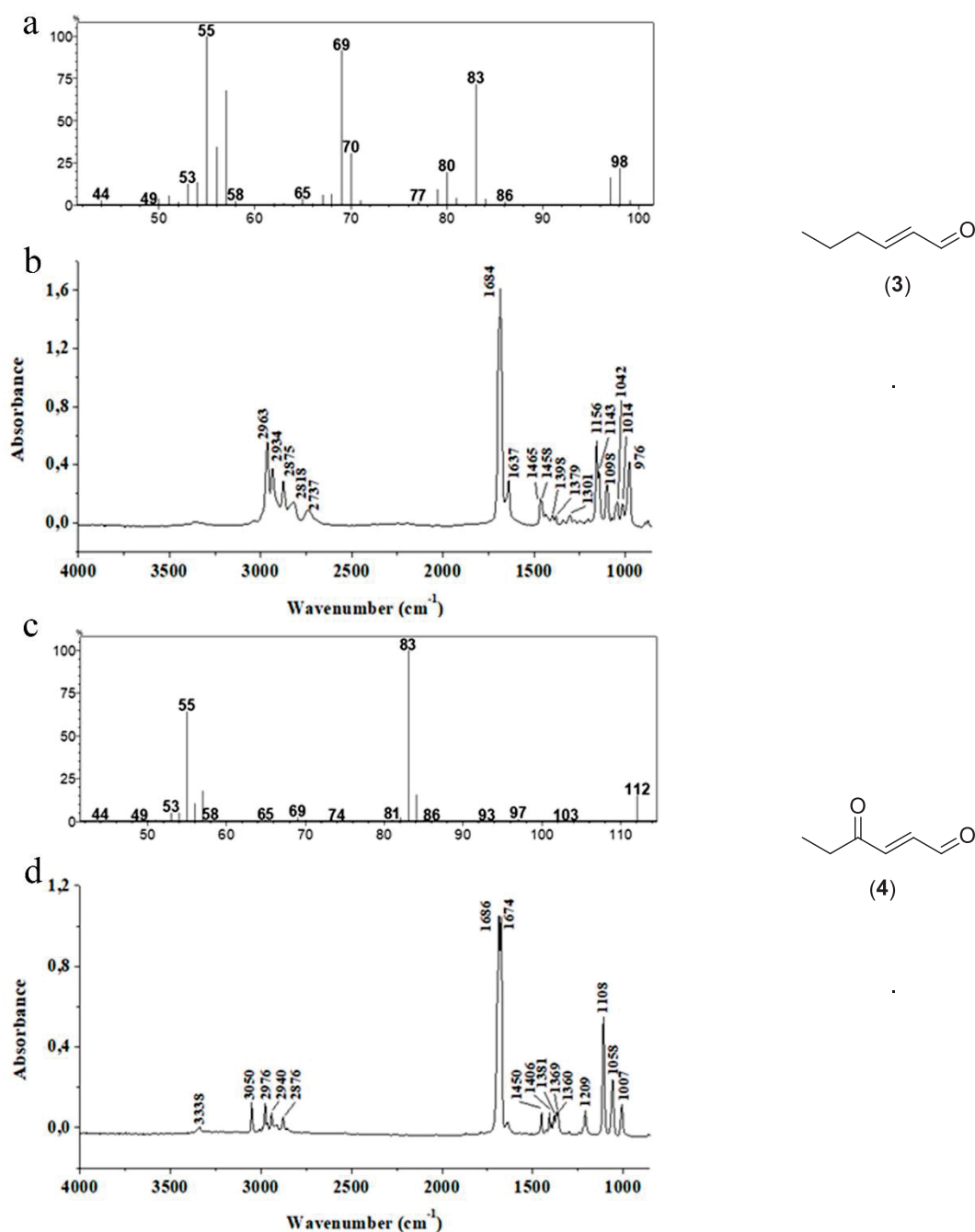


Figura 21. Espectros de massa na região do infravermelho dos compostos (3) e (4) produzidos na MTG de *Orsilochides leucoptera*. A) Espectro de massas do composto 2-(*E*)-hexenal (3). B) Espectro na região do infravermelho do composto 2-(*E*)-hexenal (3). C) Espectro de massas do composto (*E*)-4-oxo-2-hexenal (4). D) Espectro na região do infravermelho do composto (*E*)-4-oxo-2-hexenal (4).

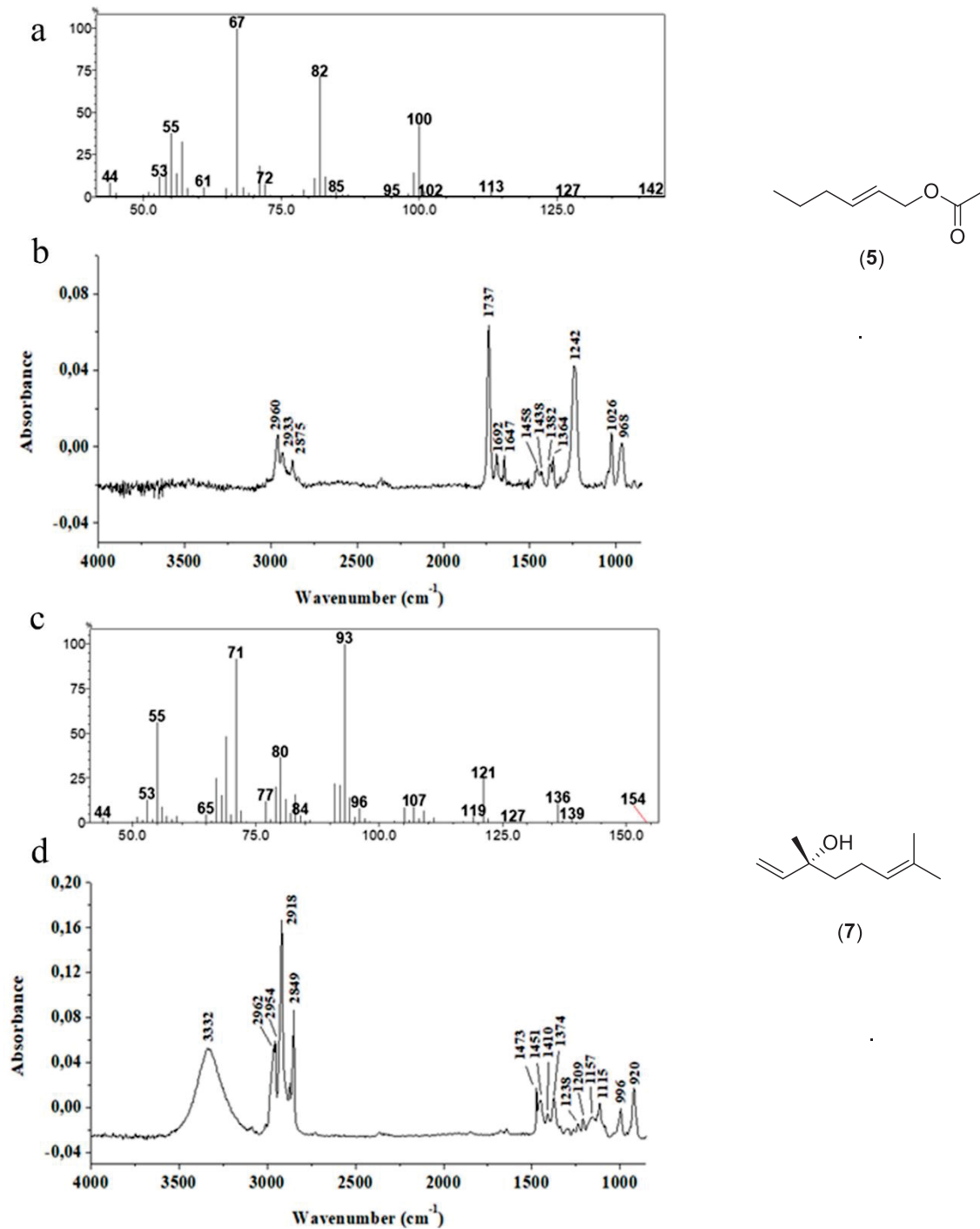


Figura 22. Espectros de massa na região do infravermelho dos compostos (5) e (6) produzidos na MTG de *Orsilochides leucoptera*. A) Espectro de massas do composto acetato de (*E*)-hex-2-enila (5). B) Espectro na região do infravermelho do composto acetato de (*E*)-hex-2-enila (5). C) Espectro de massas do composto (*R*)-3,7-dimethyl-oct-6-en-3-ol (6). D) Espectro na região do infravermelho do composto (*R*)-3,7-dimetil-oct-6-en-3-ol (6).

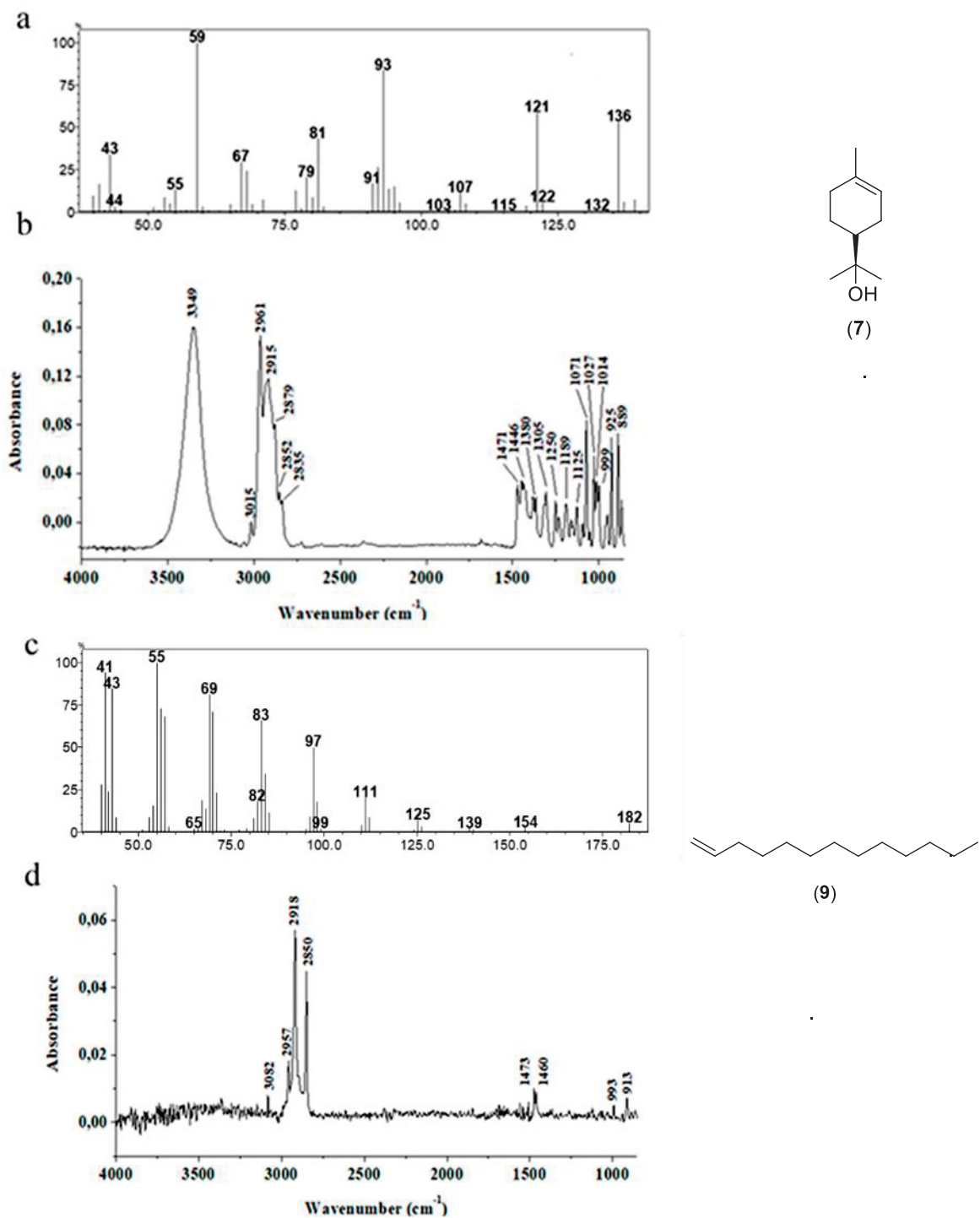


Figura 23. Espectros de massa na região do infravermelho dos compostos (7) e (9) produzidos na MTG de *Orsilochides leucoptera*. A) Espectro de massas do composto (R)- α -terpineol (7). B) Espectro na região do infravermelho do composto (R)- α -terpineol (7). C) Espectro de massas do composto 1-trideceno (9). D) Espectro na região do infravermelho do composto 1-trideceno (9).

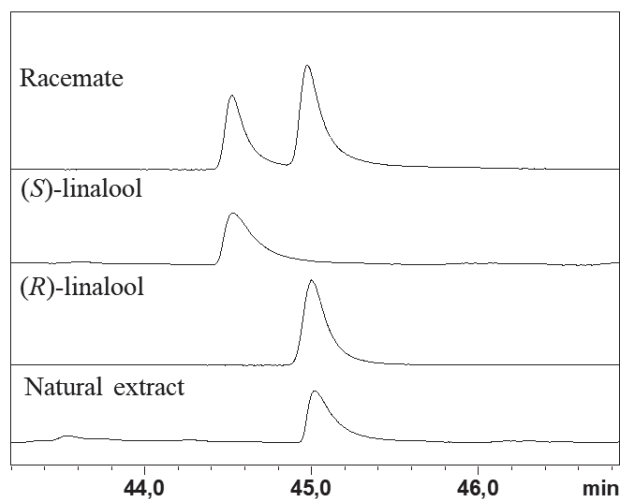


Figura 24. Análises cromatográficas para determinação da configuração do composto natural (*R*)-linalool (**6**).

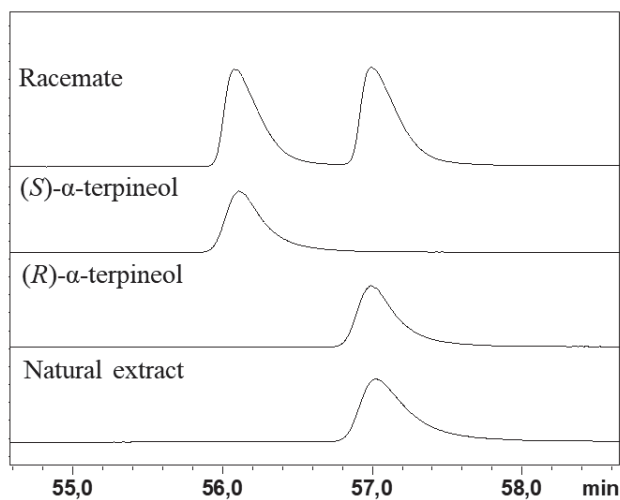


Figura 25. Análises cromatográficas para determinação da configuração do composto natural (*R*)- α -terpineol (**8**).

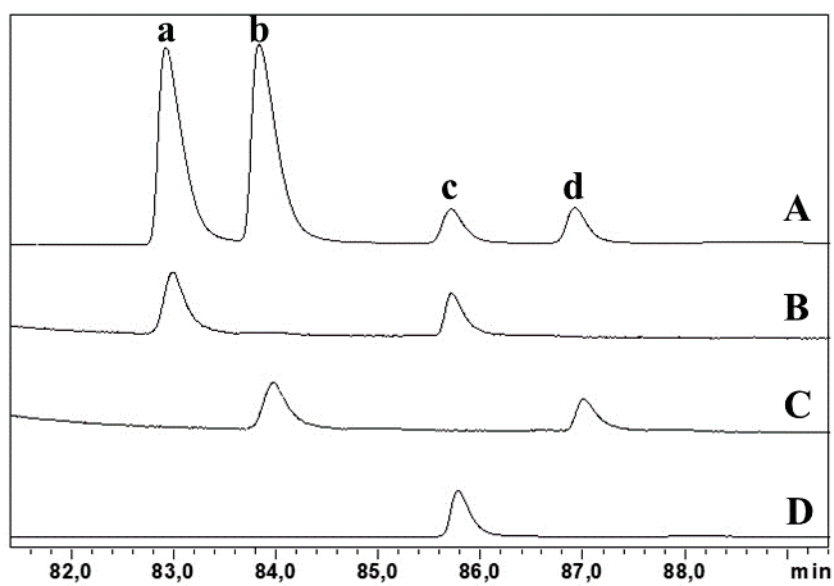


Figura 26 Análises cromatográficas de: **A)** mistura de isoborneol e borneol racêmicos obtidos pela redução da cânfora racêmica; **B)** mistura de (*R*)-isoborneol (**a**) e (*R*)-borneol (**c**) obtidos pela redução da (*R*)-cânfora; **C)** mistura de (*S*)-isoborneol (**b**) e (*S*)-borneol (**d**) obtidos pela redução da (*S*)-cânfora; **D)** extrato natural de machos.

7. ANEXO IV – ESPECTROS DO CAPÍTULO II

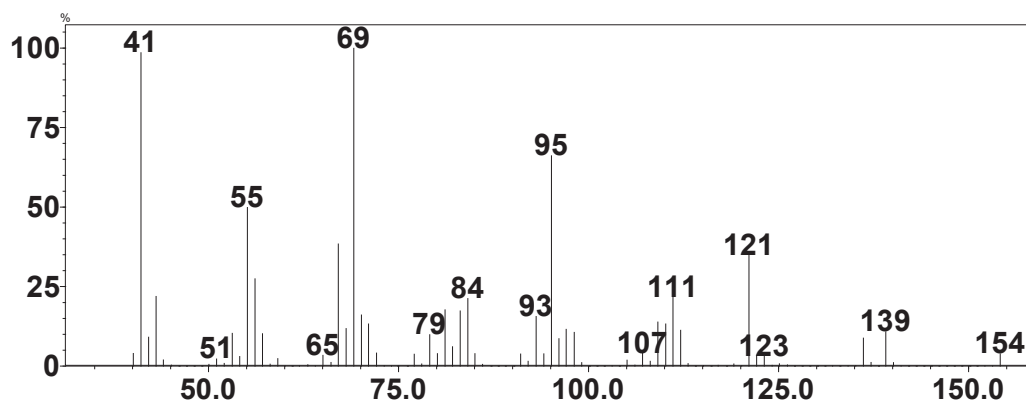


Figura 27. Espectro de massas do composto 3,7-dimetiloct-6-enal (citronelal) (18).

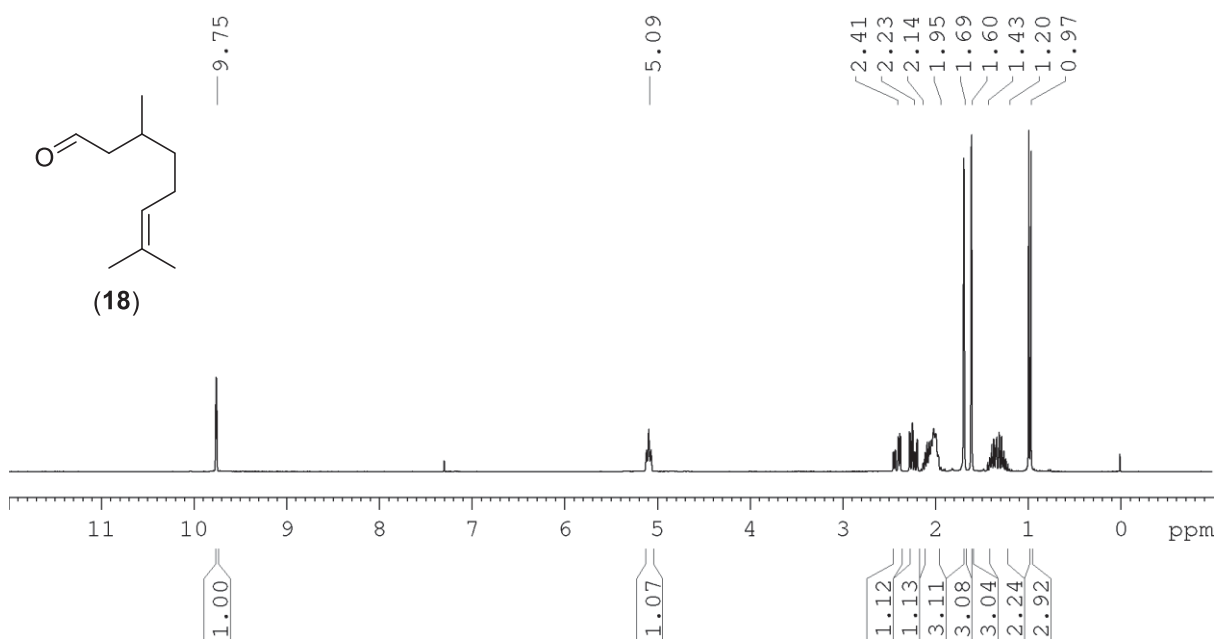


Figura 28. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS) do composto 3,7-dimetiloct-6-enal (citronelal) (18).

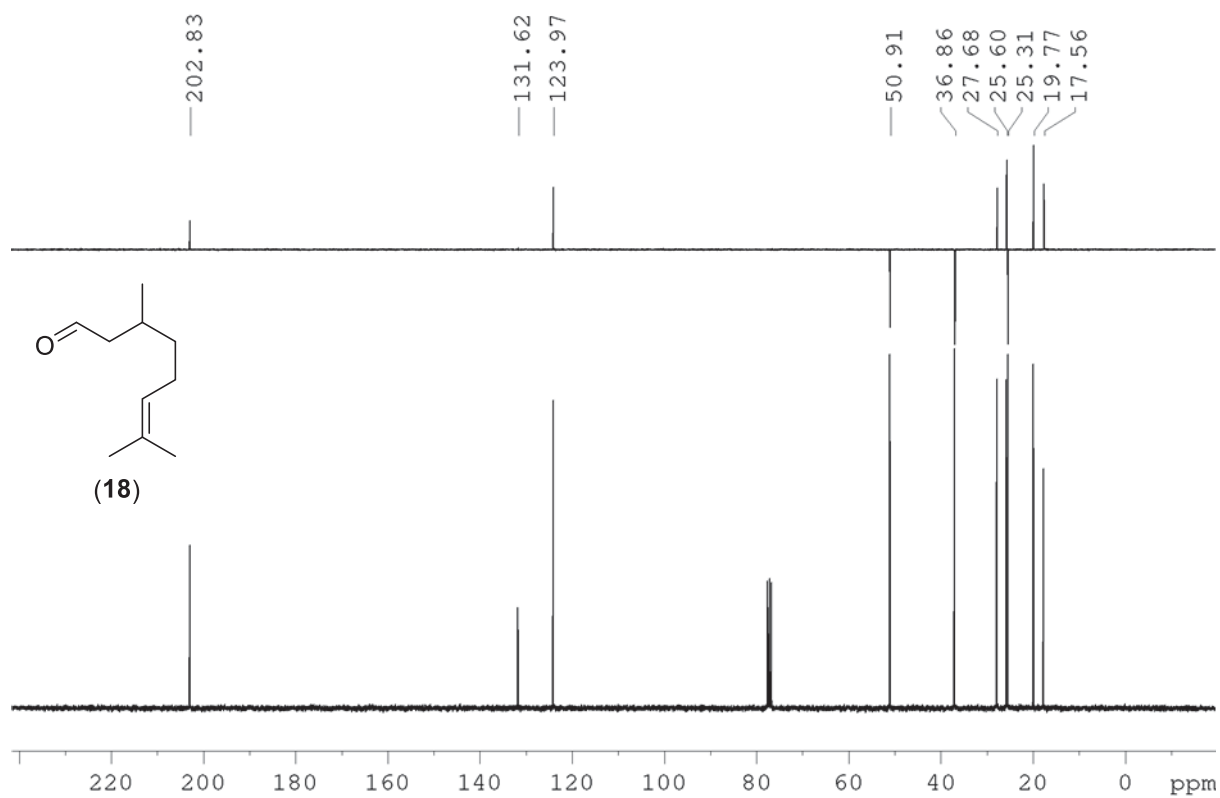


Figura 29. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) e DEPT 135 (superior) do composto 3,7-dimetiloct-6-enal (citronelal) (18).

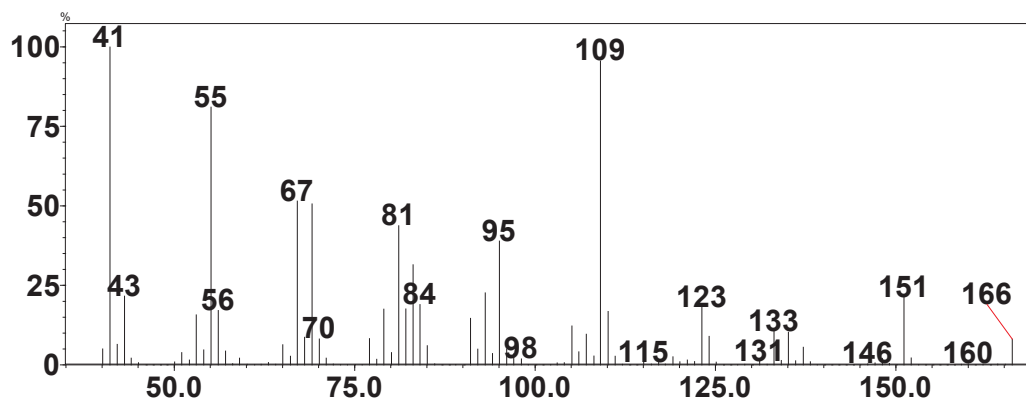


Figura 30. Espectro de massas do composto 3,7-dimetil-2-metileno-oct-6-enal (19).

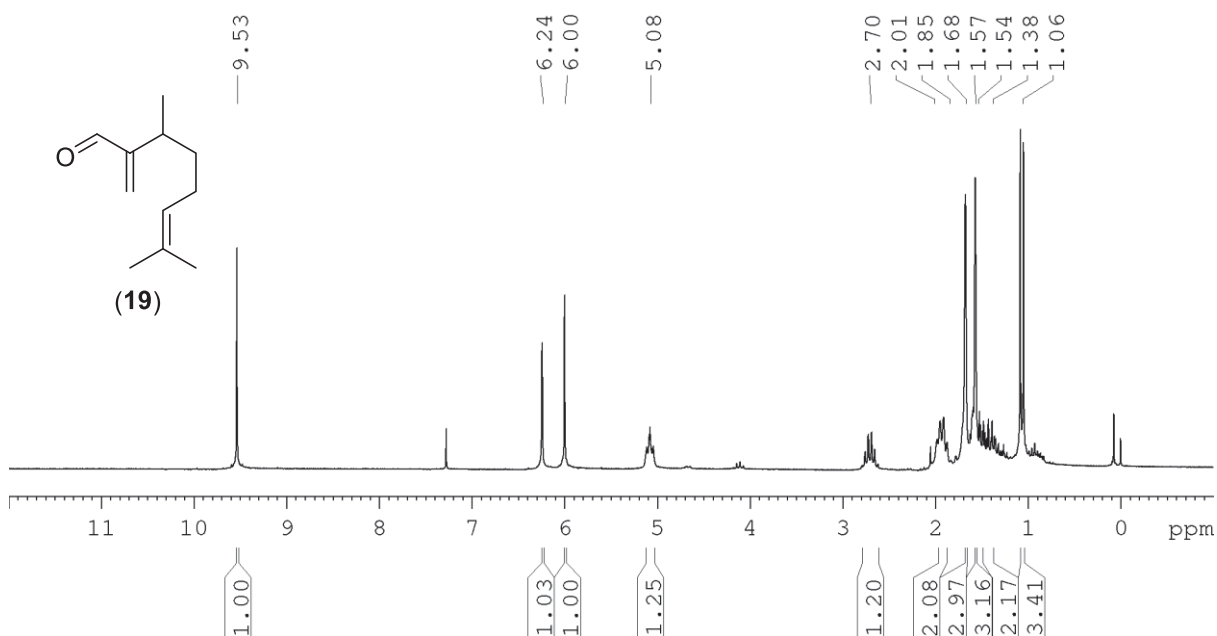


Figura 31. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS) do composto 3,7-dimetil-2-metileno-oct-6-enal (19).

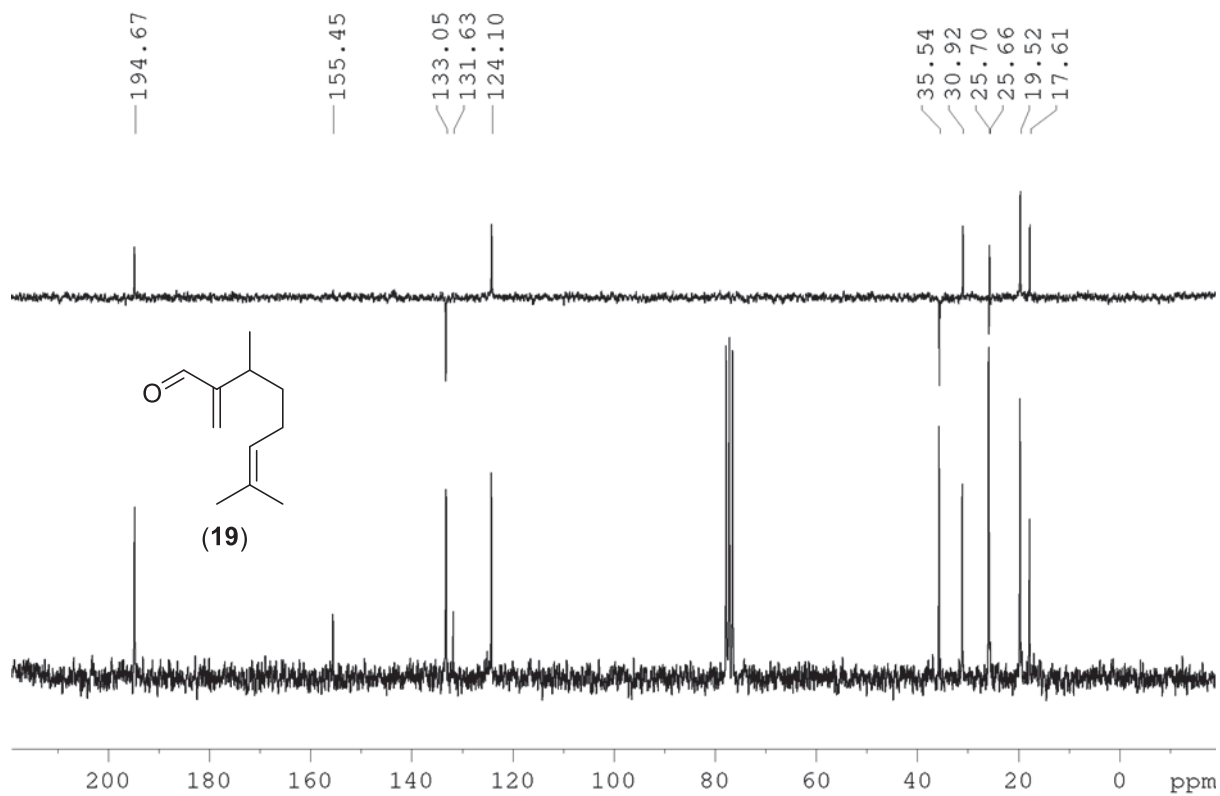


Figura 32. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) e DEPT 135 (superior) do composto 3,7-dimetil-2-metileno-oct-6-enal (**19**).

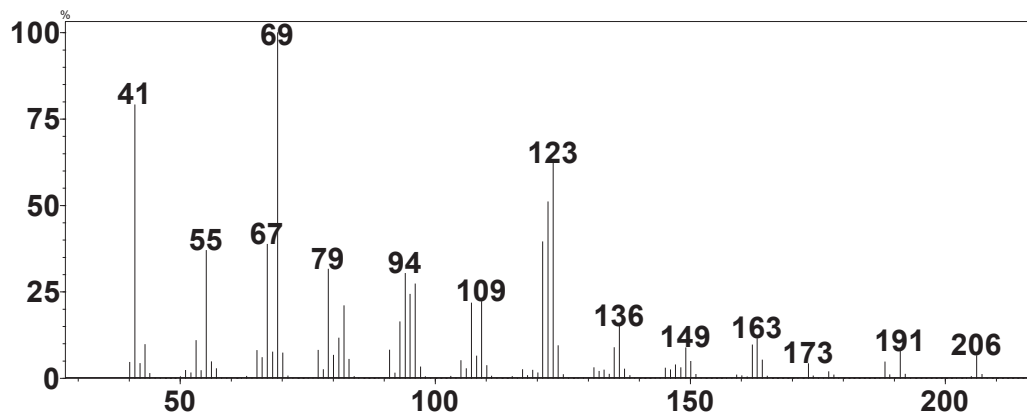


Figura 33. Espectro de massas do composto 4-(6-metilhept-5-en-2-il)cicloexen-2-ona (**20**).

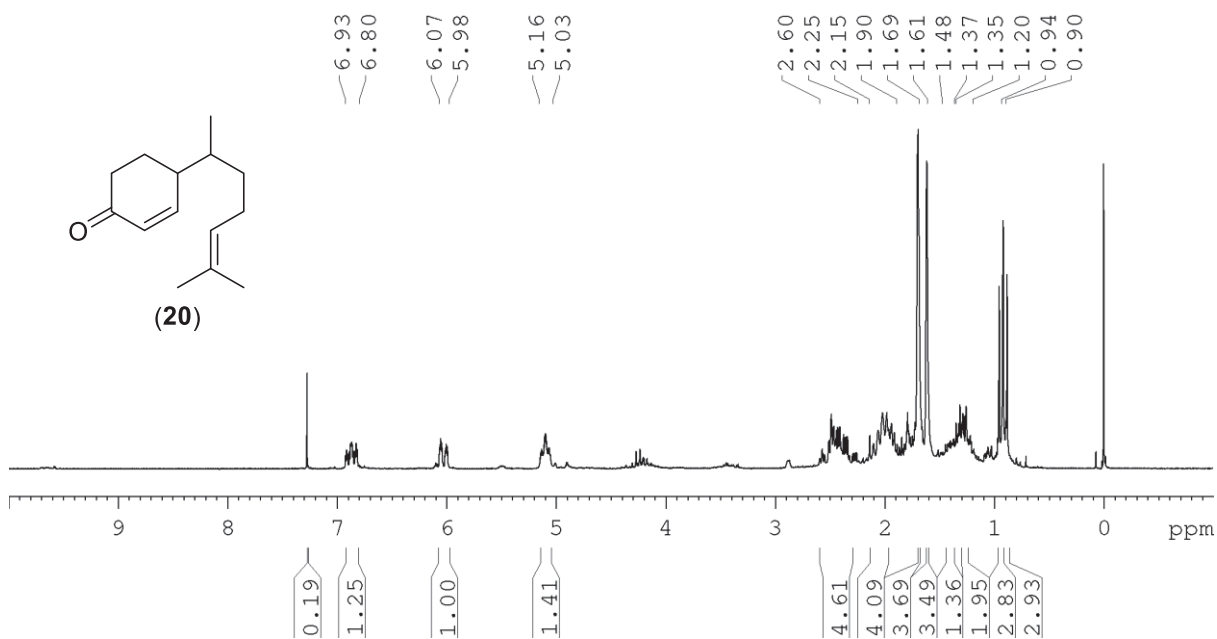


Figura 34. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS) do composto 4-(6-metilhept-5-en-2-il)cicloexen-2-ona (**20**).

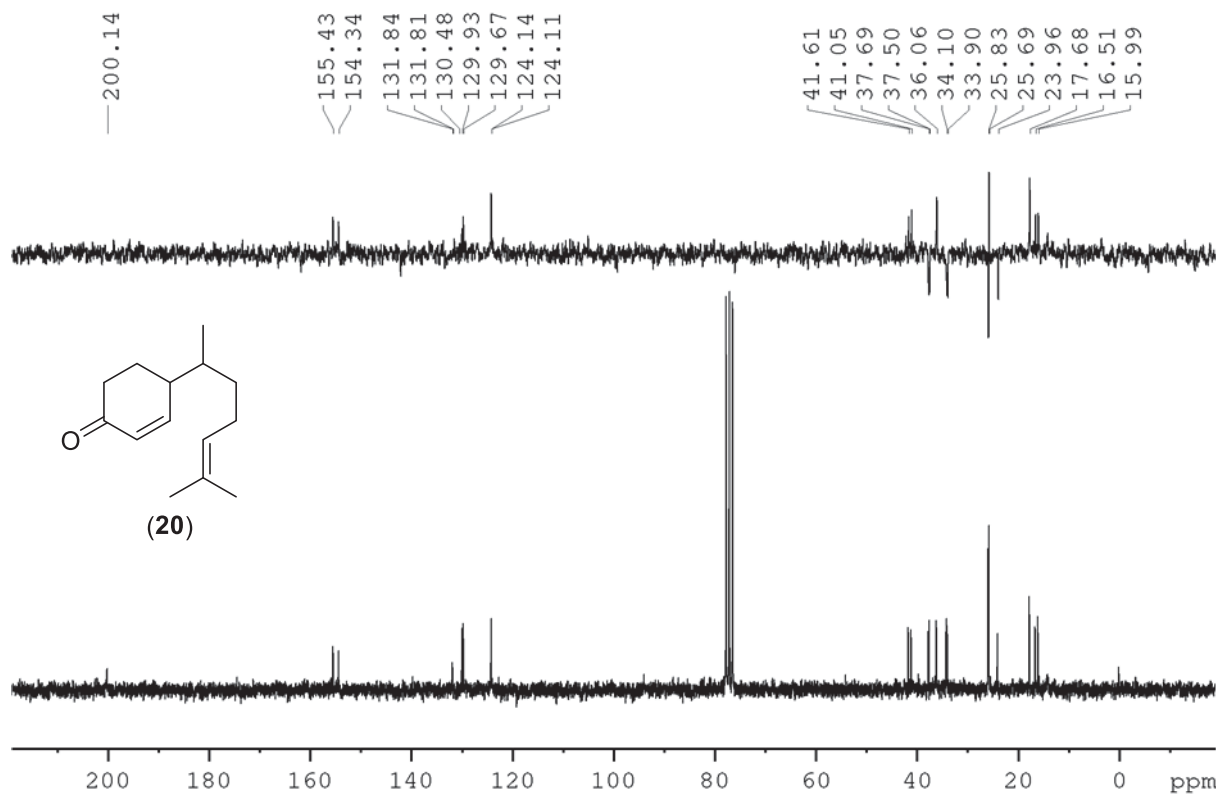


Figura 35. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) e DEPT 135 (superior) do composto 4-(6-metilhept-5-en-2-il)cicloexen-2-ona (**20**).

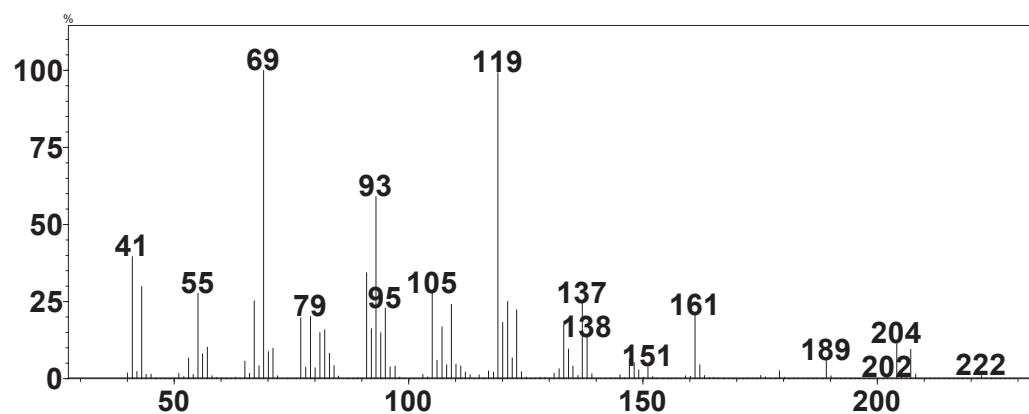


Figura 36. Espectro de massas do composto 4-[1,5-dimetilhex-4-enil]-1-metilciclohex-2-en-1-ol (zingiberenol) (**21**).

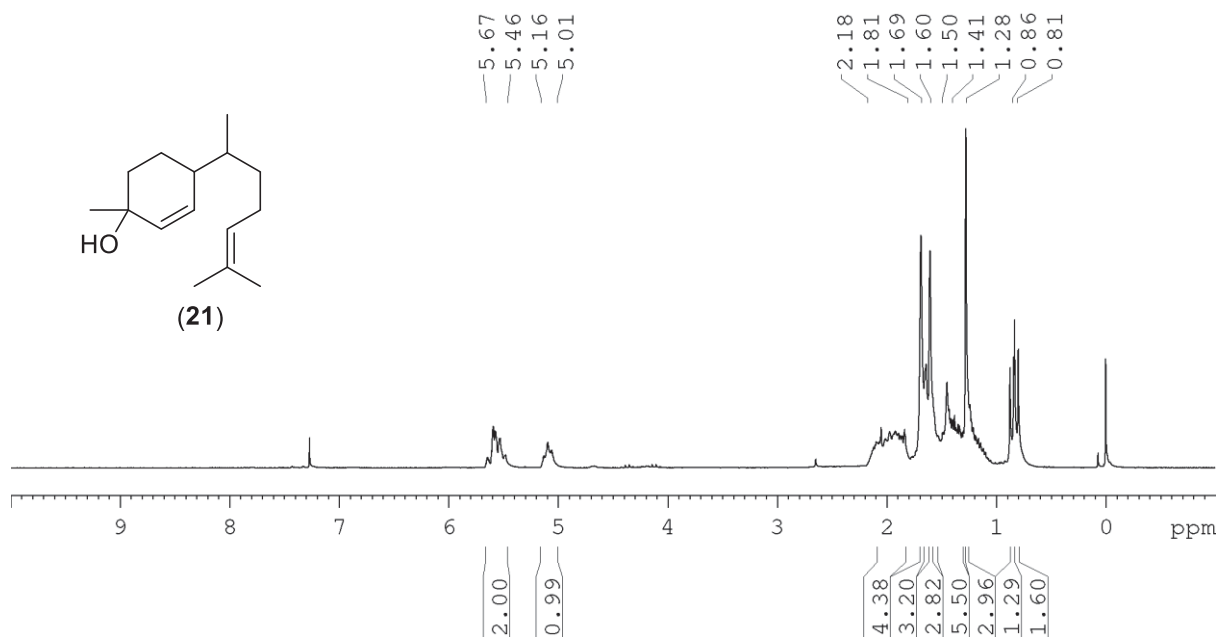


Figura 37. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS) do composto 4-[1,5-dimetilhex-4-enil]-1-metilciclohex-2-en-1-ol (zingiberenol) (**21**).

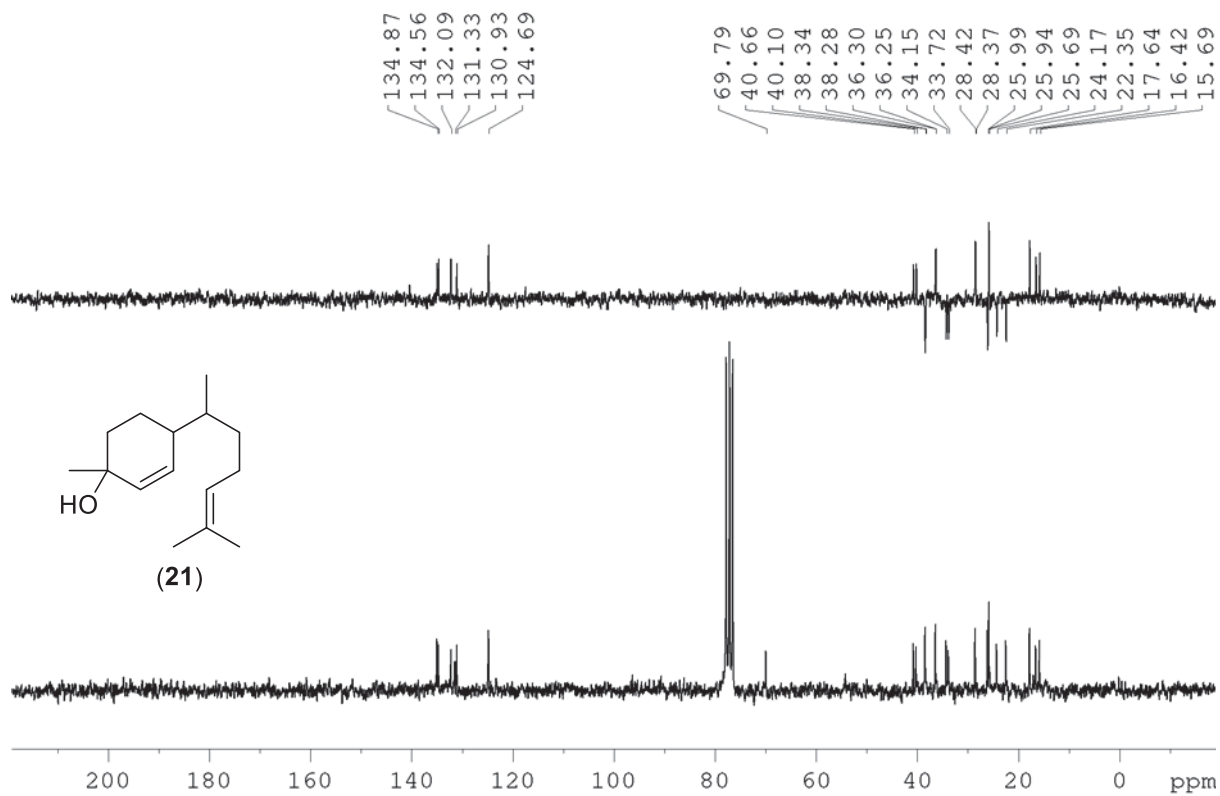


Figura 38. Espectro de RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃) e DEPT 135 (superior) do composto 4-[1,5-dimetilhex-4-enil]-1-metilciclohex-2-en-1-ol (zingiberenol) (**21**).

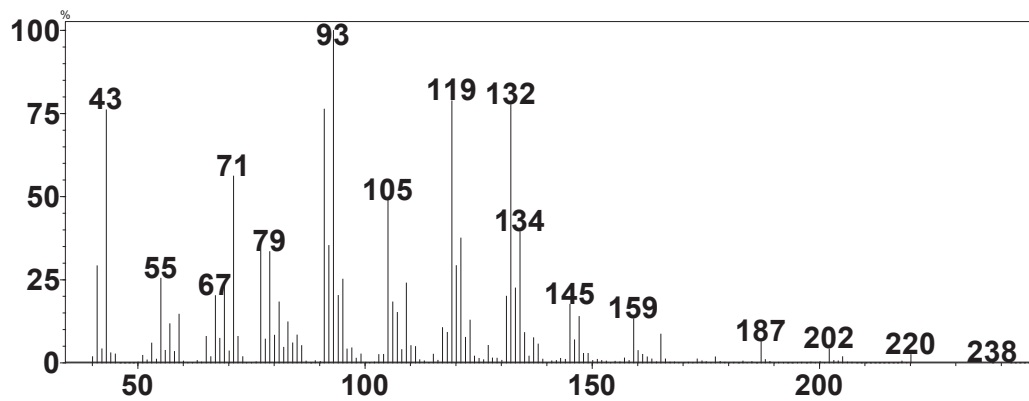


Figura 39. Espectro de massas do composto 4-[5'-(5',5'-dimetiloxiran-4'-il)-1'-metilpropil]-1-metilciclohex-2-en-1-ol (murgantiol) (**15**).

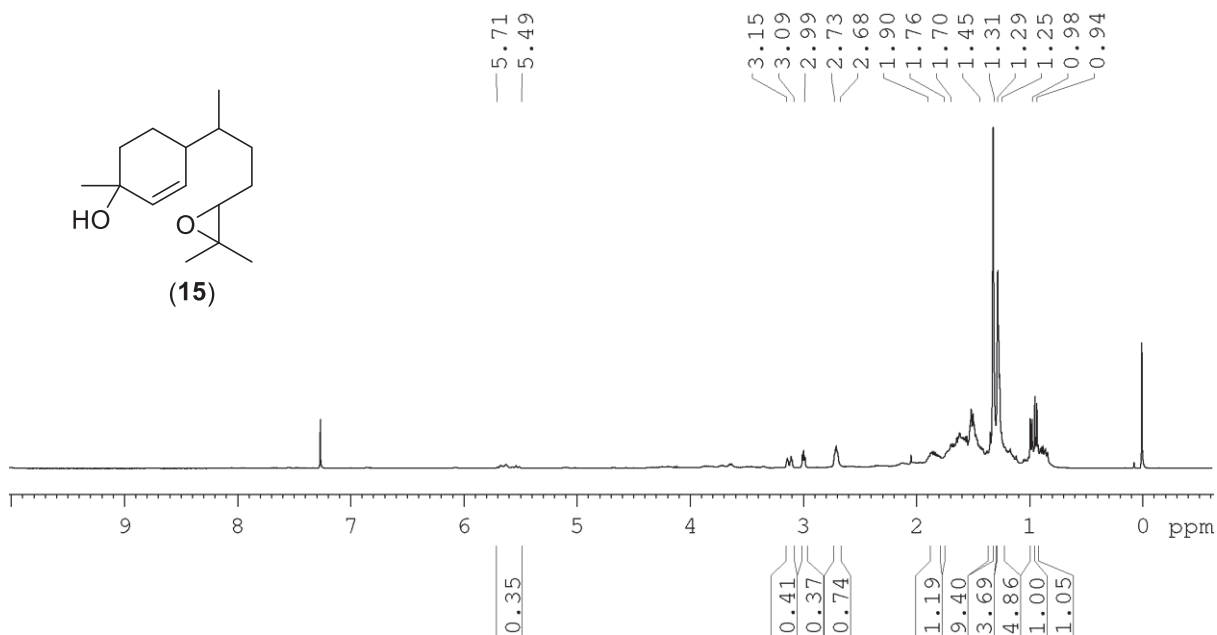


Figura 40. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3 , TMS) do composto 4-[5'-(5',5'-dimetiloxiran-4'-il)-1'-metilpropil]-1-metilciclohex-2-en-1-ol (murgantiol) (**15**).

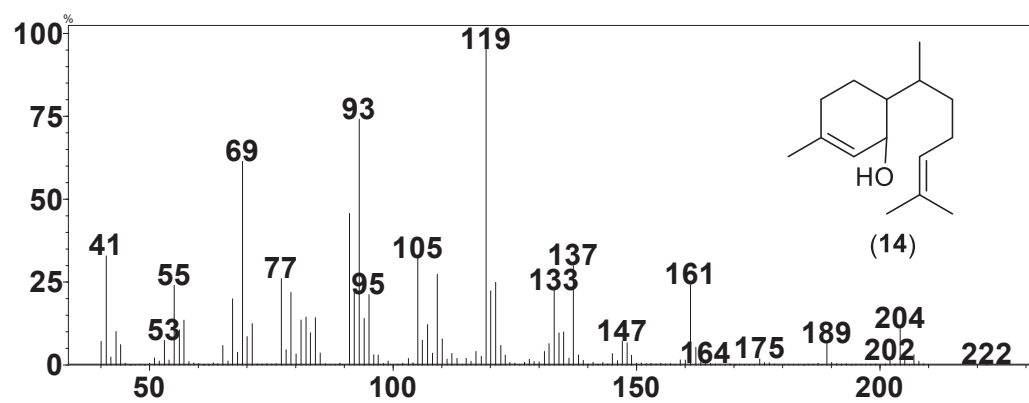


Figura 41. Espectro de massas do composto 3-metil-6-(6-metilhept-5-en-2-il)ciclohex-2-enol (sesquipiperitol) (14).