

COMPONENTES DO FEROMÔNIO SEXUAL DE *Spodoptera latifascia* WALKER (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)^{1/}

Agostinho Lelis Teixeira^{2/}
João Sabino de Oliveira^{2/}
Evaldo Ferreira Vilela^{3/}
Eraldo Rodrigues de Lima^{3/}
Hamilton Oliveira Reis^{2/}

1. INTRODUÇÃO

Espécies do gênero *Spodoptera* aparecem amplamente distribuídas pelo mundo. Algumas delas são conhecidas como pragas que causam danos a cereais, culturas, pastagens e flores (2). *Spodoptera latifascia* tem sido encontrada em diversas culturas importantes, como soja, algodão, batata e algumas espécies de gramíneas (10). Surtos desse inseto têm causado severos danos econômicos, principalmente nos estados de Santa Catarina, Paraná e São Paulo, devido à intensa aplicação de inseticidas, que destroem os inimigos naturais de *S. latifascia* (4).

A utilização de feromônios no controle de pragas tem se intensificado nos últimos anos. O emprego dessa nova técnica tende a reduzir a aplicação de inseticidas nas lavouras, através do monitoramento da praga, da interrupção de seu acasalamento e da coleta massal dos insetos. Feromônios são compostos químicos liberados por organismos para transmitir mensagens a indivíduos da mesma espécie. O feromônio sexual discutido neste trabalho é produzido por uma glândula localizada na extremidade do abdome da fêmea de *S. latifascia* e é liberado para atrair o macho para o acasalamento.

Do gênero *Spodoptera*, devido à sua importância econômica, várias espécies tiveram seus feromônios identificados (1, 2). Analisando os componentes desses feromônios, nota-se a predominância dos acetatos de (Z)-9, (E)-12- tetradecadie-

^{1/} Aceito para publicação em 24-04-1989.

^{2/} Departamento de Química da UFV. 36570 Viçosa, MG.

^{3/} Departamento de Biologia Animal da UFV. 36570 Viçosa, MG.

nila e (Z)-9- tetradecenila, que ocorrem em nove e oito espécies, respectivamente (Quadro 1).

Com o presente trabalho, objetivou-se a identificação química dos principais componentes do feromônio de atração sexual de *S. latifascia*, visando à obtenção de métodos alternativos para o controle dessa praga.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Insetos

As mariposas foram coletadas no viveiro de mudas florestais do IEF, no campus da UFV, e acondicionadas no insetário da Universidade Federal de Viçosa. O chamamento, observado sob luz vermelha, demonstrou que as fêmeas liberam o feromônio de seis a oito horas após o início do período escuro (8), quando era feita a coleta das glândulas.

2.2. Coleta do Feromônio

A glândula de feromônio localiza-se na extremidade do abdome da fêmea. Para extrair a glândula, que se encontra invaginada, o abdome foi forçado e ela cortada com tesoura cirúrgica. Foram usados insetos de dois a quatro dias de idade. As glândulas foram imersas em 50 μ l de CH_2Cl_2 e armazenadas em frascos cônicos, à temperatura de -10°C , para posterior análise cromatográfica.

2.3. Cromatografia de Fase Gasosa e Espectrometria de Massa

As análises foram feitas em cromatógrafo de fase gasosa, acoplado a um espectrômetro de massa, quadrupolar, Hewlett-Packard, modelo 5996A, equipado com um sistema de processamento de dados RTE-VI VM e um minicomputador Hewlett-Packard 1000-E. A fragmentação dos espectros de massa foi obtida por impacto de elétrons (IE), a 70 eV.

As análises em CG-EM foram conduzidas em colunas capilares, A e B, nas seguintes condições operacionais.

Coluna A: OV-101 «cross linked», tipo WCOT (Wall Coated Open Tubular), de 12 m x 0,25 mm (d.i.), de sílica fundida. *Gás de arraste:* He, 1 ml/min; «splitter», razão 1:30. *Temperaturas:* injetor: 200°C ; fonte iônica: 260°C ; analisador: 260°C ; linha de transferência: 250°C . **Coluna:** 80°C , isoterma durante 1 min e, então, programada, na razão de $5^\circ\text{C}/\text{min}$, até a temperatura de 100°C ; isoterma durante 1 min e reprogramada, na razão de $5^\circ\text{C}/\text{min}$, até a temperatura máxima de 180°C ; isoterma durante 5 min. *Volume injetado:* 1,0 μ l. **Coluna B:** BP-20 «Bonded Phase», tipo WCOT (Wall Coated Open Tubular), de 25 m x 0,32 mm (d.i.), de sílica fundida. *Gás de arraste:* He, 1 ml/min; «splitter», razão 1:30. *Temperaturas:* injetor: 200°C ; fonte iônica: 260°C ; analisador: 260°C ; linha de transferência: 230°C . **Coluna:** 70°C , isoterma durante 2 min e, então, programada, na razão de $4^\circ\text{C}/\text{min}$, até a temperatura de 130°C ; isoterma durante 5 min e reprogramada, na razão de $2^\circ\text{C}/\text{min}$, até a temperatura máxima de 190°C ; isoterma durante 10 min. *Volume injetado:* 1,0 μ l.

As amostras foram injetadas por meio de seringas cromatográficas de 10 μ l, marca Hamilton Co. (USA).

Os padrões usados na comparação dos tempos de retenção nas colunas capilares e na obtenção dos espectros de massa correspondentes foram: Z9-14:Ac, Z9, E11-14:Ac, Z9, E12-14:Ac, da Sigma Chemical Co. (USA).

QUADRO 1 - Principais acetatos e alcoóis presentes nos feromônios e atraentes sexuais de *llepices de Spodoptera* (1, 2).

Componente	Abreviação	Nº de Espécies*
Acetato de (Z)-9, (E)-12-tetradecadienila	Z9, E12-14:Ac	09(a, b, c, d, e, g, h, j, k)
Acetato de (Z)-9-tetradecenila	Z9-14:Ac	08(a, b, d, e, f, g, j, k)
Acetato de (Z)-9, (E)-11-tetradecadienila	Z9, E11-14:Ac	03(a, g, h)
Acetato de (Z)-11-hexadecenila	Z11-16:Ac	03(a, f, k)
(Z)-9-tetradecenol	Z9-14:OH	03(a, e, k)
Acetato de (Z)-9, (Z)-12-tetradecadienila	Z9, Z12-14:Ac	02(a, e)
Acetato de (E)-9-tetradecenila	E9-14:Ac	02(e, j)
Acetato de (Z)-7-dodecenila	Z7-12:Ac	02(f, i)
Acetato de tetradecanila	14:Ac	02(e, g)
Acetato de (Z)-11-tetradecenila	Z11-14:Ac	02(e, g)
Acetato de (E)-11-tetradecenila	E11-14:Ac	01(g)
Acetato de (Z)-7-tetradecenila	Z7-14:Ac	01(e)
Acetato de (Z)-9-dodecenila	Z9-12:Ac	01(f)
Acetato de (Z)-9, (Z)-11-tetradecadienila	Z9, Z11-14:Ac	01(g)
(Z)-9, (Z)-12-tetradecadienol	Z9, Z12-14:OH	01(e)
(Z)-9, (E)-12-tetradecadienol	Z9, E12-14:OH	01(e)
(E)-9-tetradecenol	E9-14:OH	01(e)
Tetradecanol	14:OH	01(e)

* (a) *S. eridania*, (b) *S. ciliatum*, (c) *S. dolichos*, (d) *S. exempta*, (e) *S. exigua*, (f) *S. frugiperda*, (g) *S. littoralis*, (h) *S. litura*, (i) *S. praeifica*, (j) *S. trituratora* e (k) *S. sunia*.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os picos do cromatograma total de íons foram identificados através da comparação dos tempos de retenção, da análise de fragmentos de massa característicos e da comparação com espectros de massa dos padrões.

As análises efetuadas na coluna A demonstraram o aparecimento de um pico aos 17 min, caracterizado como acetato insaturado de C14. O espectro de massa desse pico (Figura 1) mostra a presença de íon m/z 194 ($C_{14}H^{+}_{26}$), provocada pela perda de ácido acético. O íon molecular m/z 254 geralmente não aparece. A intensidade do íon m/z 82 é um indicativo de insaturação nesse composto (11). O tempo de retenção corrigido desse pico é o mesmo da amostra-padrão do acetato de (Z)-9- tetradecenila.

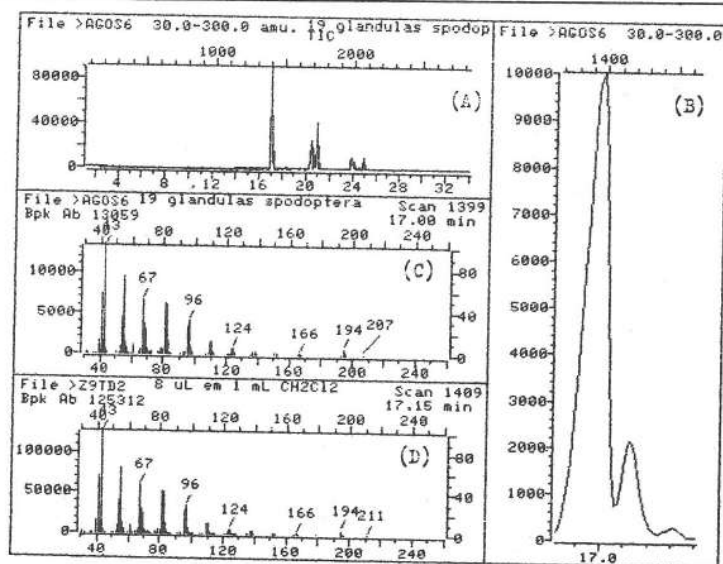


FIGURA 1 - (A) Cromatograma total de íons de 19 glândulas de *S. latifascia*, cromatografado em coluna A.
 (B) "Zoom" do pico aos 17 min.
 (C) Espectro de massa do pico obtido aos 17 min.
 (D) Espectro de massa do padrão Z9-14:Ac.

O Quadro 2 mostra a comparação dos espectros de massa dos compostos obtidos da glândula de *S. latifascia* e dos padrões Z9-14:Ac, Z9, E11-14:Ac e Z9, E12-14:Ac.

Para localizar a dupla ligação em compostos insaturados, têm sido utilizados diversos métodos químicos (12). HORIIKE e HIRANO (5, 6) têm elucidado a posição da dupla ligação através de um método que não utiliza modificações químicas. Através da técnica CG-EM (IE), é possível selecionar vários fragmentos m/z e relacionar suas intensidades. As razões dos espectros de massa dos padrões e dos espectros de massa do feromônio foram comparadas, e a posição da dupla ligação foi elucidada. Mais recentemente, LANE *et alii* (7) desenvolveram um método

QUADRO 2 - Comparação dos espectros de massa dos picos (17 min e 17.12min) da glândula de S. latifascia e dos padrões Z9-14:Zc, Z9,E12-14:Zc e Z9,E11-14:Zc (em % do pico-base).

m/z	Porcentagem do pico-base					
	Glândulas			Padrões		
	17 min	17.12 min	Z9-14:Zc	Z9,E12-14:Zc	Z9,E11-14:Zc	
254	M+ 0	0	M+ 0	0	0	
252	0	M+ 0	0	M+ x	M+ x	
194	6.36	x	x	x	x	
192	x	5.46	0	6.29	x	
121	0	10.26	x	11.16	x	9.27
110	13.93	10.31	10.34	9.08	x	7.20
109	12.22	7.41	9.98	6.55	x	5.01
96	35.84	21.13	27.55	16.08	x	12.30
95	30.49	26.46	23.012	25.77	x	27.84
94	x	16.89	0	17.95	x	13.75
93	x	19.79	0	22.20	x	21.02
83	13.57	6.76	10.38	6.41	x	
82	53.60	41.97	40.05	35.79	x	31.56
81	51.48	54.05	42.28	52.12	x	31.12
80	x	19.79	x	21.68	x	17.29
79	5.58	47.77	x	54.98	x	47.47
69	24.78	19.01	19.72	15.06	x	9.16
68	29.39	55.83	23.16	52.34	x	19.21
67	52.98	69.86	46.98	70.31	x	81.41
66	5.03	7.10	x	7.01	x	6.49
61	7.80	7.80	7.08	6.18	x	
56	11.21	5.07	9.25	x	x	
55	74.69	53.96	63.86	48.26	x	34.26
54	36.14	14.03	31.68	12.15	x	9.31
53	7.13	15.29	6.48	14.51	x	11.12
43	100.00	100.00	100.00	100.00	x	100.00
42	11.99	9.44	11.57	7.47	x	6.67
41	57.14	54.27	55.67	50.18	x	46.36
39	12.53	18.23	13.04	16.79	x	14.76

(x) - Intensidade menor do que 5% do pico-base.

(0) - Não aparece no espectro.

que, aplicado às diversas razões das intensidades dos fragmentos característicos de um composto, chega à identificação da posição da dupla ligação. Os dados do Quadro 2, aplicados ao método de LANGE *et alii* (7), permitiram a elucidação da posição da dupla ligação no acetato de tetradecenila.

O espectro de massa do pico verificado aos 17:12 min (Figura 2) apresenta características de um acetato (m/z 61) diinsaturado de C14 (m/z 192).

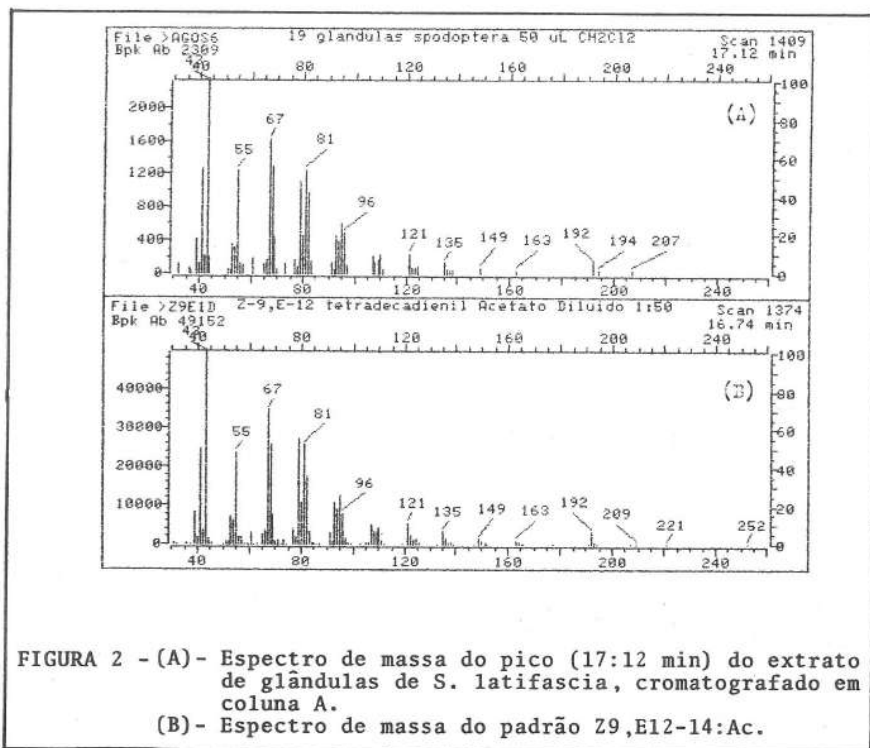
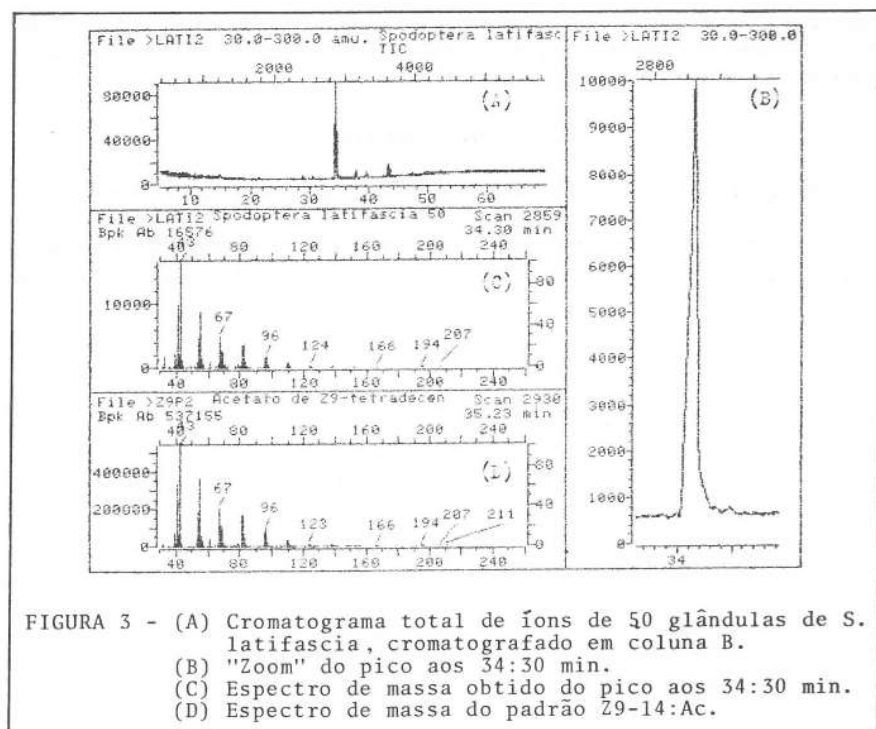


FIGURA 2 - (A) - Espectro de massa do pico (17:12 min) do extrato de glândulas de *S. latifascia*, cromatografado em coluna A.
 (B) - Espectro de massa do padrão Z9,E12-14:Ac.

Segundo RENOU *et alii* (9), os acetatos de (Z)-9, (E)-12-tetradecadienila e (Z)-9, (E)-11-tetradecadienila são altamente específicos ao gênero *Spodoptera*. Os tempos de retenção do pico obtido aos 17:12 min (baixa concentração, em relação aos 17 min) e dos padrões Z9, E12-14:Ac e Z9, E11-14:Ac são muito próximos na coluna A. A comparação dos espectros dos padrões com esse pico evidencia, também, a presença do composto Z9, E12-14:Ac no extrato de glândulas de *S. latifascia*.

As análises efetuadas na coluna B registram o aparecimento de um pico aos 34:30 min (Figura 3), que foi confirmado como acetato de (Z)-9-tetradecenila, utilizando-se os métodos anteriormente descritos. Os demais picos ainda estão sendo identificados.

Os outros picos do cromatograma da coluna A também estão sendo analisados, para posterior identificação. Os dados permitem inferir a ocorrência de alguns precursores dos componentes do feromônio sexual, como já foi relatado para outras espécies de *Spodoptera*, dentre eles os ácidos C14 e C16 (3). Os resultados da análise dos componentes químicos do feromônio sexual de *S. latifascia* estão de



acordo com os do Quadro 1, o que permite sugerir uma relação quimiotaxonômica entre essas espécies.

4. RESUMO

Foram feitos extratos de glândulas que produzem o feromônio de atração sexual de *Spodoptera latifascia* WALKER para isolamento e identificação de seus componentes. A técnica utilizada foi a cromatografia de fase gasosa em colunas capilares de alta resolução, acoplada à espectrometria de massa. Os acetatos de (Z)-9-tetradecenila e (Z)-9, (E)-12-tetradecadienila foram identificados como principais componentes da glândula produtora de feromônio sexual de *S. latifascia*. Outros componentes presentes nos extratos estão sendo analisados, para posterior elucidação de suas estruturas.

5. SUMMARY

(SEX PHEROMONE COMPONENTS OF *Spodoptera latifascia* WALKER (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE))

Moths of the genus *Spodoptera* appear worldwide. A number of species of this genus have been recognized as agricultural pests that cause damage to cereals, field crops, grasses and flowers. Investigations on *Spodoptera*'s sex pheromones have been carried out in order to use this pheromones to control this pest. To identify the sex pheromone, gas chromatography and combined gas chromatogra-

phy-mass spectrometry have been used. The major components identified were (Z)-9-tetradecenyl acetate and (Z)-9, (E)-12-tetradecadienyl acetate. The other components of the sex pheromone gland will be analysed for later identification.

6. AGRADECIMENTOS

A equipe do presente trabalho, participante do projeto «Estudo Químico-Ecológico de Pragas Agrícolas e Florestais», agradece à Financiadora de Estudos e Projetos-FINEP e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq o apoio financeiro recebido, sem o qual este trabalho não poderia ter sido executado.

7. LITERATURA CITADA

1. ARN, H.; TOTH, N. & PRIESNER, E.. List of Sex Pheromone of Lepidoptera and Related Attractants. Paris, OILB-SROP, 1986. 125 p.
2. BESTMANN, H.J.; ATTYGALLE, A.B.; SCHWARZ, J.; VOSTROWSKY, O. & KNAUF, W.. Identification of Sex Pheromone Components of Spodoptera sunia GUENEE (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Chem. Ecol.* 14(2): 683-690. 1988.
3. DUNKELBLUM, E. & KEHAT, N. Sex Pheromone Precursors in Spodoptera littoralis (Lepidoptera: Noctuidae). *Insect Biochem.* 17(6): 877-881. 1987.
4. HABIB, M.E.M.; PALEARI, L.M. & AMARAL, M.E.C. Effect of the Three Larval Diets on the Development of the Armyworm, *Spodoptera latifascia* WALKER, 1856 (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista Bras. Zool.* 1(3): 177-182. 1983.
5. HORIIKE, M. & HIRANO, C. Identification of Double Bond Positions in Do-decenyl Acetates by Electron Impact Mass Spectrometry. *Agric. Biol. Chem.* 46(11): 2667-2672. 1982.
6. HORIIKE, M.; MIYATA, N. & HIRANO, C. An Empirical Approach to the Location of Double Bonds in Tetradecen-1-y 1 Acetates by Mass Spectrometry. *Biom. Mass Spectrom.* 8(1):41-42. 1981.
7. LANNE, B.S.; APPELGREN, M. & BERGSTROM, G. Determination of the Double Bond Position in Monounsaturated Acetates from their Mass Spectra. *Anal. Chem.* 57: 1621-1625. 1985.
8. LIMA, E.R. & VILELA, E.F. Comunicação Sexual de *Spodoptera latifascia* WALKER (Lepidoptera: Noctuidae): Comportamento de Chamamento de Fêmeas em Três Temperaturas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA. 120., Belo Horizonte, 1989. Resumos. Belo Horizonte, 1989 p. 40.
9. RENOU, M.; LALANNE-CASSOU, B.; MICELOT, D.; GORDON, G. & DORE, J. Multivariate Analysis of the Correlation between Noctuidae Subfamilies and Chemical Structure of their Sex Pheromones or Male Attractants. *J. Chem. Ecol.* 14(4): 1187-1215. 1988.

10. SILVA, A.G.; GONÇALVES, C.R.; GALVÃO, D.H.; GONÇALVES, A.J.L.; GOMES, J.; SILVA, N.N. & SIMONINI, L. Quarto Catálogo de Insetos que Vivem nas Plantas do Brasil, Seus Parasitos e Predadores, Parte 2, 1.º Tomo. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, Departamento de Defesa, 1968. 622 p.
11. TEAL, P.E.A.; MITCHELL, E.R.; TUMLINSON, J.H.; HEAT, R.R. & SUGIE, H. Identification of Volatile Sex Pheromone Components Released by the Southern Armyworm, *Spodoptera eridania* CRAMER, *J. Chem. Ecol.* 11(6): 717-725. 1985.
12. VICENTI, M.; GUGLIELMETTI, G.; CASSANI, G. & TONINI, C. Determination of Double Bond Position in Diunsaturated Compounds by Mass Spectrometry of Dimethyl Disulfide Derivatives. *Anal. Chem.* 59: 694-699. 1987.