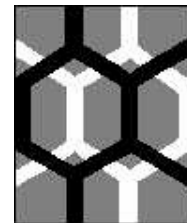




UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA



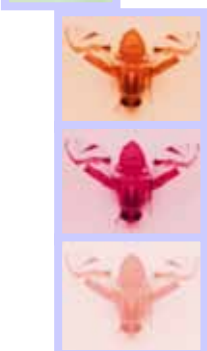
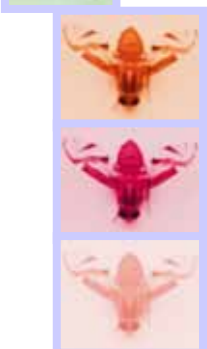
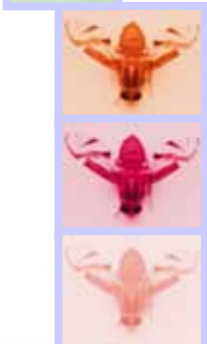
**IDENTIFICAÇÃO DE CONSTITUINTES
VOLÁTEIS DAS GLÂNDULAS SALIVARES DE
MACHOS DE *Ceratitis capitata* E *Anastrepha
obliqua* (DIPTERA: TEPHRITIDAE) E DE SEU
HOSPEDEIRO *Averrhoa carambola* L.**

GLÁUCIA BARRETTO GONÇALVES

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia do Departamento de Química da Universidade Federal de Alagoas como requisito para obtenção do grau de Doutor em Química e Biotecnologia.

Orientadora:
Profa. Dra. Ruth Rufino do Nascimento

**MACEIÓ
2005**



GLÁUCIA BARRETTO GONÇALVES

Orientadora:

Ruth Rufino do Nascimento

Prof^a Dra. Ruth Rufino do Nascimento
Universidade Federal de Alagoas - CCEN

Examinadores:

Prof. Dr. Ervino Bleicher
Universidade Federal do Ceará - CECA

Prof. Dr. Reginaldo Barros
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. Gilberto Fontes
Universidade Federal de Alagoas - CCBI

Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana

Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana
Universidade Federal de Alagoas - CCEN

Marília Oliveira Fonseca Goulart

Prof^a Dra. Marília Oliveira Fonseca Goulart
Universidade Federal de Alagoas - CCEN

Prof. Dr. Luís Carlos Caetano
Universidade Federal de Alagoas - CCEN

À minha tia Maria das Dores Souza Thieres (*in memoriam*),
pelo exemplo de coragem e amor a vida.

Dedico

Aos meus filhos,
pelo incentivo.

Ofereço

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me concedido a graça de ter realizado este sonho;

Ao Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Sergipe, pela concessão do afastamento das minhas atividades profissionais que permitiu a realização deste curso;

A Dra. Ruth Rufino do Nascimento, professora da Universidade Federal de Alagoas, pela orientação e amizade, sobretudo nos momentos mais difíceis;

A Usina Utinga Leão e a Rio Verde Plantas Frutíferas, pelo fornecimento de material biológico e apoio à pesquisa;

Ao Dr. Roberto Antônio Zucchi, taxonomista da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, pela identificação das espécies dos insetos utilizados neste trabalho;

A Carlos Eduardo da Silva e Eunice Soares dos Santos, ex-alunos de iniciação científica, hoje alunos de mestrado, pela valiosa colaboração nos trabalhos experimentais;

A todos os companheiros de laboratório que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, especialmente José Joubert Gonçalves de Alencar, pela colaboração nas coletas de material biológico;

A Aldy dos Santos, funcionário da Universidade Federal de Alagoas, pela confecção e reparo de artefatos em vidro;

Ao Dr. Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana, coordenador do grupo de pesquisa em ecologia química da Universidade Federal de Alagoas, pelo constante apoio a este trabalho;

As Dras. Marília Oliveira Fonseca Goulart e Lúcia Maria Conserva, professoras da Universidade Federal de Alagoas, pelo incentivo a conclusão deste curso;

Aos demais professores, funcionários e alunos do Curso de Pós-graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas com os quais tive o prazer de conviver, pela colaboração para a minha formação profissional.

SUMÁRIO

	PÁGINA
LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	iv
LISTA DE ABREVIATURAS	v
RESUMO	vi
ABSTRACT	viii
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
3. REVISÃO DE LITERATURA	4
3.1. Os insetos-praga e seu controle	4
3.2. Substâncias modificadoras do comportamento de insetos	5
3.3. Uso de infoquímicos no manejo integrado de pragas e sua importância	7
3.4. Pesquisa de infoquímicos de insetos	7
3.4.1. Histórico	7
3.4.2. Métodos empregados na pesquisa de infoquímicos	10
3.4.2.1. Estudo do comportamento de insetos	10
3.4.2.2. Extração de infoquímicos por solvente e aeração	11
3.4.2.3. Isolamento e identificação de infoquímicos por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas	13

3.5. Insetos-praga em estudo	16
3.5.1. Taxonomia e descrição	16
3.5.2. Ciclo de vida	17
3.6. Importância de <i>Ceratitis capitata</i> e <i>Anastrepha obliqua</i> para fruticultura	19
3.6.1. Danos causados aos frutos	19
3.6.2. Frutos hospedeiros	19
3.6.3. Distribuição geográfica	20
3.7. Sistema feromonal de <i>C. capitata</i> e do gênero <i>Anastrepha</i>	21
3.8. Constituintes químicos do feromônio de agregação de <i>C. capitata</i> e do gênero <i>Anastrepha</i>	23
3.9. Frutos hospedeiros em estudo	29
3.10. Influência da planta hospedeira no comportamento reprodutivo	30
4. MATERIAIS E MÉTODOS	31
4.1. Procedimentos gerais	31
4.1.1. Coleta de material biológico	31
4.1.1.1. Insetos	31
4.1.1.2. Frutos	32
4.1.2. Manutenção dos insetos em laboratório	33
4.1.3. Identificação das espécies	33
4.2. Experimentos	34
4.2.1. Determinação da idade e do padrão diário de comportamento reprodutivo	34
4.2.2. Preferência do estágio de maturação do fruto hospedeiro para oviposição	35

4.2.3. Extração e identificação dos constituintes voláteis do fruto hospedeiro no estágio de maturação preferencial para oviposição	36
4.2.3.1. Extração dos constituintes voláteis do fruto hospedeiro	37
4.2.3.2. Isolamento e identificação dos constituintes voláteis dos extratos	38
4.2.4. Extração e identificação dos constituintes voláteis de secreções das glândulas salivares e dos liberados por machos	38
4.2.4.1. Extração de constituintes voláteis das glândulas salivares	39
4.2.4.2. Extração de constituintes voláteis de machos em chamamento	40
4.2.4.3. Isolamento e identificação dos constituintes químicos dos extratos	40
4.2.5. Resposta de fêmeas virgens aos extratos de aeração e de glândulas salivares de machos em chamamento	41
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5.1. Idade e padrão diário de comportamento reprodutivo	43
5.1.1. Espécie <i>C. capitata</i>	43
5.1.1.1. Idade	43
5.1.1.2. Padrão diário	46
5.1.2. Espécie <i>A. obliqua</i>	49
5.1.2.1. Idade	49
5.1.2.2. Padrão diário	51
5.2. Estágio de maturação do fruto hospedeiro preferencial para oviposição	55
5.2.1. Fêmeas de <i>C. capitata</i>	55
5.2.2. Fêmeas de <i>A. obliqua</i>	56
5.3. Constituintes voláteis do fruto hospedeiro no estágio de maturação preferencial para oviposição	57
5.3.1. Frutos de <i>Averrhoa carambola</i> maduros	57
5.3.2. Frutos de <i>A. carambola</i> verdes	59

5.4. Constituintes voláteis de secreções das glândulas salivares e os liberados por machos	61
5.4.1. Machos de <i>C. capitata</i>	61
5.4.2. Machos de <i>A. obliqua</i>	67
5.5. Resposta de fêmeas virgens aos extratos de aeração e de glândulas salivares de machos em chamamento	79
6. CONCLUSÕES	81
7. SUGESTÕES PARA FUTURAS PESQUISAS	84
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	85
ANEXOS	97
ANEXO N° 1 – Relação de espectros de massas dos principais constituintes químicos identificados nos extratos de secreções de glândulas salivares e de aeração de machos de <i>C. capitata</i> e <i>A. obliqua</i> em chamamento	98
ANEXO N° 2 – Espectros de massas dos principais constituintes químicos identificados nos extratos de secreções de glândulas salivares e de aeração de machos de <i>C. capitata</i> e <i>A. obliqua</i> em chamamento acompanhados das respectivas estruturas químicas	99

LISTA DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
3.1	Diagrama da classificação dos infoquímicos.	6
3.2	Diagrama de um sistema de aeração.	12
3.3	Diagrama de um cromatógrafo gasoso / espectrometro de massas típico.	14
3.4	Casal da espécie <i>C. capitata</i> .	16
3.5	Casal da espécie <i>A. obliqua</i> .	17
3.6	Ciclo de vida de <i>C. capitata</i> e <i>A. obliqua</i> .	18
3.7	Fruto de manga infestado por larvas do gênero <i>Anastrepha</i> .	19
3.8	Distribuição do gênero <i>Ceratitis</i> nas regiões biogeográficas do planeta.	20
3.9	Distribuição geográfica de <i>A. obliqua</i> .	21
3.10	Macho de <i>C. capitata</i> em chamamento.	22
3.11	Diagrama apresentando alguns sítios de armazenamento de constituintes voláteis do feromônio de agregação no gênero <i>Anastrepha</i> .	23
4.1	A) Fruto de carambola com pontuações escuras características de infestação por moscas-das-frutas. B) Coleta de frutos infestados. C) Fruto de carambola coletado com larva de <i>A. obliqua</i> .	32
4.2	Gaiolas de criação dos insetos.	33
4.3	Arena de vidro utilizada para bioensaios de preferência por estágio de maturação do fruto hospedeiro para oviposição.	36
4.4	Sistema para aeração de frutos.	37
4.5	A) Esquema de extração de glândulas salivares de <i>A. obliqua</i> e <i>C. capitata</i> . B) Par de glândulas salivares removido de macho de <i>A. obliqua</i> em chamamento.	39

4.6	Diagrama do sistema para coleta dos compostos voláteis liberados por machos adultos de <i>A. obliqua</i> e <i>C. capitata</i> .	40
4.7	Diagrama da arena de acrílico utilizada nos testes de atratividade.	41
5.1	Gráfico apresentando o padrão de comportamento reprodutivo de <i>C. capitata</i> segundo a idade em casa de vegetação.	45
5.2	Gráfico apresentando o padrão diário de comportamento reprodutivo de <i>C. capitata</i> em casa de vegetação.	48
5.3	Gráfico apresentando o padrão de comportamento reprodutivo de <i>A. obliqua</i> segundo a idade em casa de vegetação.	51
5.4	Gráfico apresentando o padrão diário de comportamento reprodutivo de <i>A. obliqua</i> em casa de vegetação.	54
5.5	Gráfico apresentando a média do número de vezes que fêmeas de <i>C. capitata</i> foram observadas ovipositando em frutos de carambola nos estágios de maturação: verde, intermediário e maduro.	56
5.6	Gráfico apresentando a média do número de vezes que fêmeas de <i>A. obliqua</i> foram observadas ovipositando em frutos de carambola nos estágios de maturação: verde, intermediário e maduro.	57
5.7	Cromatograma apresentando os constituintes voláteis presentes em extratos de aeração de frutos de carambola maduros.	58
5.8	Cromatograma apresentando os constituintes voláteis presentes em extratos de aeração de frutos de carambola verdes.	59
5.9	Cromatograma apresentando os constituintes voláteis presentes nos extratos de glândulas salivares de machos de <i>C. capitata</i> (hospedeiro carambola) em chamamento.	61
5.10	Cromatograma apresentando os constituintes voláteis presentes nos extratos de aeração de machos de <i>C. capitata</i> (hospedeiro carambola) em chamamento.	63
5.11	Gráfico apresentando as principais diferenças na constituição química dos extratos de aeração e de secreções de glândulas salivares de machos de <i>C. capitata</i> em chamamento (hospedeiro carambola).	65
5.12	Gráfico apresentando as principais diferenças nas proporções relativas dos compostos similares nos extratos de aeração e de secreções de glândulas salivares de machos de <i>C. capitata</i> em chamamento e naqueles de aeração de seu hospedeiro carambola no estágio de maturação completamente maduro.	67

5.13	Cromatograma apresentando os constituintes voláteis presentes nos extratos de glândulas salivares de machos de <i>A. obliqua</i> (hospedeiro manga) em chamamento.	68
5.14	Cromatograma apresentando os constituintes voláteis presentes nos extratos de aeração de machos de <i>A. obliqua</i> (hospedeiro manga) em chamamento.	69
5.15	Cromatograma apresentando os constituintes voláteis presentes nos extratos de glândulas salivares de machos de <i>A. obliqua</i> (hospedeiro carambola) em chamamento.	70
5.16	Cromatograma apresentando os constituintes voláteis presentes nos extratos de aeração de machos de <i>A. obliqua</i> (hospedeiro carambola) em chamamento.	72
5.17	Gráfico apresentando as principais diferenças na constituição química dos extratos de aeração e de secreções de glândulas salivares de machos de <i>A. obliqua</i> em chamamento (hospedeiro manga).	74
5.18	Gráfico apresentando as principais diferenças na constituição química dos extratos de aeração e de secreções de glândulas salivares de machos de <i>A. obliqua</i> em chamamento (hospedeiro carambola).	76
5.19	Gráfico apresentando as principais diferenças na constituição química dos extratos de secreções de glândulas salivares de machos de <i>A. obliqua</i> em chamamento de hospedeiro manga e carambola.	77
5.20	Gráfico apresentando as principais diferenças nas proporções relativas dos compostos similares nos extratos de aeração e de secreções de glândulas salivares de machos de <i>A. obliqua</i> em chamamento e naqueles de aeração de seu hospedeiro carambola no estágio de maturação verde.	79
5.21	Gráfico apresentando a média do número de vezes que fêmeas virgens de <i>A. obliqua</i> foram observadas se aproximando ou tocando nas fontes de odor (extratos de aeração e de glândulas salivares de machos em chamamento e solvente).	80

LISTA DE TABELAS

TABELA		PÁGINA
3.1	Características diferenciais entre o ciclos biológicos de <i>C. capitata</i> e <i>A. obliqua</i> para temperaturas de 25° C.	18
5.1	Padrão de comportamento reprodutivo de <i>C. capitata</i> segundo a idade em casa de vegetação.	44
5.2	Padrão diário de comportamento reprodutivo de <i>C. capitata</i> em casa de vegetação.	47
5.3	Padrão de comportamento reprodutivo de <i>A. obliqua</i> segundo a idade em casa de vegetação.	50
5.4	Padrão diário de comportamento reprodutivo de <i>A. obliqua</i> em casa de vegetação.	53
5.5	Compostos voláteis presentes em extratos de aeração de frutos de carambola maduros.	58
5.6	Compostos voláteis presentes em extratos de aeração de frutos de carambola verdes.	60
5.7	Compostos voláteis presentes em extratos de glândulas salivares de machos de <i>C. capitata</i> (hospedeiro carambola) em chamamento.	62
5.8	Compostos voláteis presentes em extratos de aeração de machos de <i>C. capitata</i> (hospedeiro carambola) em chamamento.	63
5.9	Compostos voláteis presentes em extratos de glândulas salivares de machos de <i>A. obliqua</i> (hospedeiro manga) em chamamento.	68
5.10	Compostos voláteis presentes em extratos de aeração de machos de <i>A. obliqua</i> (hospedeiro manga) em chamamento.	69
5.11	Compostos voláteis presentes em extratos de glândulas salivares de machos de <i>A. obliqua</i> (hospedeiro carambola) em chamamento.	71
5.12	Compostos voláteis presentes em extratos de aeração de machos de <i>A. obliqua</i> (hospedeiro carambola) em chamamento.	72

--	--

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA	Análise de variância
CG-EM	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
°C/min.	Graus centígrados por minuto
eV	Elétron Volt
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (cromatografia líquida de alta eficiência)
mg	Miligrama
MHz	Mega Hertz
ML/min.	Mililitros por minuto
pg	Picograma
QP	Quadru Pole (analisador de massas de setor quadrupolar)
T.R.	Tempo de Retenção
®	Produto com marca registrada
µL	Microlitro

RESUMO

Estudos comportamentais e químicos foram conduzidos com *Ceratitis capitata* Wied. e *Anastrepha obliqua* Macq. e seu fruto hospedeiro, *Averrhoa carambola* L. (carambola). Os bioensaios visaram avaliar a idade e os horários de pico dos comportamentos reprodutivos (chamamento, cópula e oviposição) e os estágios de maturação da carambola selecionados pelas fêmeas de cada espécie para oviposição. Os resultados demonstraram que a idade de maior ocorrência das atividades reprodutivas foi aos 11 dias de vida adulta para *C. capitata* e aos 15 dias para *A. obliqua*, exceto para a oviposição cuja idade de maior ocorrência foi aos 17 dias para esta última espécie. Para *C. capitata* os horários de pico para as atividades de chamamento, cópula e oviposição foram 6:00 – 9:00, 10:00 – 12:00 e 14:00 – 16:00 h, respectivamente. Para *A. obliqua* esses horários foram: 6:00 – 9:00, 7:00 – 10:00 e 9:00 – 11:00 h. Os estágios de maturação da carambola preferidos por fêmeas de *C. capitata* e *A. obliqua* para oviposição foram, na mesma seqüência, maduro e verde. As análises químicas dos extratos (secreções de glândulas salivares e aeração) de machos em chamamento de ambas as espécies por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) permitiram a identificação de álcoois, ésteres, cetonas, compostos nitrogenados e terpenóides. Análises comparativas entre os voláteis presentes nos extratos de secreções de glândulas salivares de machos de *C. capitata* e *A. obliqua* e aqueles presentes nos extratos de aeração de machos em chamamento das mesmas espécies, demonstraram que 50% dos compostos liberados pelos machos em chamamento estão presentes nas secreções de glândulas salivares, sugerindo que estas glândulas poderiam ser o sítio de estocagem desses compostos. Entre esses compostos similares provavelmente são encontrados componentes do feromônio sexual dessas espécie, uma vez que, os extratos de glândulas salivares de machos de *A. obliqua* foram atrativos a fêmeas co-específicas. Os resultados também demonstraram que nos extratos de aeração de frutos de carambolas maduras predominaram ésteres saturados e insaturados, enquanto nos extratos de carambolas verdes os mono- e sesquiterpenos caracterizaram a mistura. Foram também observadas similaridades entre a composição química de extratos de glândulas salivares de *C. capitata* e *A. obliqua* e os voláteis liberados por carambolas maduras e verdes. Dois compostos foram comuns entre as secreções de glândulas salivares de machos de *C. capitata* e os extratos de carambolas maduras, enquanto oito compostos foram comuns entre as secreções de glândulas salivares de machos de *A. obliqua* e os extratos de carambolas verdes. Esses resultados sugerem

que esses compostos coincidentes poderiam atuar como pistas que auxiliariam as fêmeas de ambas as espécies a encontrar carambolas no estágio de maturação adequado para oviposição.

--

ABSTRACT

Behavioural and chemical studies were conducted with *Ceratitis capitata* Wied. and *Anastrepha obliqua* Macq. and their host fruit, *Averrhoa carambola* L. (starfruit). The bioassays were performed to find out the age and time of day when the reproductive behaviour (calling, mating and oviposition) were more frequent as well as which maturation stage of the starfruit, females of *A. obliqua* and *C. capitata* would choose for oviposition. The results demonstrated that reproductive behaviour were more frequent among individuals which were eleven day-old for *C. capitata* and fifteen day-old for *A. obliqua*, except for oviposition that were more frequent among individuals which were seventeen day-old in this ultimate specie. For *C. capitata*, the onset of calling, courtship and oviposition were 6:00-9:00, 7:00-12:00 and 14:00-16:00 h, respectively, whereas for *A. obliqua*, these activities were highest at 5:00-9:00, 7:00-10:00 and 9:00-11:00 h, respectively. The maturation stages of starfruit in which females of *C. capitata* and *A. obliqua* would prefer to oviposit are ripe and unripe, respectively. The chemical analyses of extracts (secretions from the salivary glands and headspace) from calling males of of both species by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) revealed alcohols, esters, ketones, nitrogenated compounds and terpenoids. Comparative analyses of volatiles present in the salivary gland secretion of *A. obliqua* and *C. capitata* males with those which were found to be present in headspace extracts of calling males of these species, demonstrated that 50% of the compounds released by calling males are present in the secretion of salivary glands, suggesting that these glands maybe the storage site of these compounds. It worthy to note that among this mixture of compounds, there should be the sex pheromone components of both species, since the salivary gland extracts of *A. obliqua* males attracted co-specific females. The results also showed that unsaturated and saturated esters were the major componentes in extracts of ripe starfruits and mono- and sesquiterpenes characterized the mixture of unripe starfruits. It was also found that there is a similarity between the chemical composition of extracts from salivary glands of *C. capitata* and *A. obliqua* and the volatiles released by ripe and unripe starfruits. two compounds were common between salivary glands secretions of *C. capitata* calling males and ripe starfruit extracts whereas eight common compounds were found in salivary glands secretions of *A. obliqua* males and unripe starfruit extracts. These findings suggest that these coincident compounds may act as chemical cues which help females of both species to find starfruits in the appropriate maturation stage for oviposition.

1

INTRODUÇÃO

As moscas-das-frutas *Ceratitis capitata* Wiedemann (1824) e *Anastrepha obliqua* Macquart (1835) (Diptera: Tephritidae) são insetos-praga de grande importância para a fruticultura das regiões tropicais e subtropicais do planeta. A primeira é conhecida como a espécie-praga mais polífaga do mundo (Light *et al.*, 1988; Liquido *et al.*, 1991) e a segunda como a principal praga da cultura da manga nas Américas (Weens Jr. *et al.*, 2001). Ambas espécies são também consideradas pragas quarentenárias pelos principais países importadores de frutos, como EUA e Japão (Duarte e Malvasi, 2000).

Apesar dos grandes prejuízos causados por essas espécies, ainda não foram desenvolvidos métodos eficientes de controle de suas populações no campo. Uma vez que, seus estágios imaturos se desenvolvem no interior dos frutos, ficando, portanto, protegidos do controle químico. Além disso, o uso de pesticidas químicos sintéticos tem sido inviabilizado devido aos riscos ambientais decorrentes da sua utilização, bem com, à exigência dos países importadores de frutos quanto à ausência de resíduos tóxicos nestes produtos. Assim, há uma necessidade urgente de desenvolvimento de métodos de controle dessas espécies que sejam mais específicos e ambientalmente sustentáveis (Hilder e Boulter, 1999; Gonçalves, 2001).

Como nessas espécies são as fêmeas que efetivamente causam danos através da deposição de ovos nos frutos, o controle por comportamento utilizando o feromônio produzido por machos em armadilhas para captura das fêmeas sexualmente maduras pode ser uma promissora técnica de supressão populacional dentro de um programa de manejo integrado de pragas. Entretanto, para as espécies em estudo, ainda não se tem a identificação completa dos constituintes químicos de seus feromônios (Landolt, 1997; Ibañez-López e Cruz-López, 2001).

As glândulas salivares de machos de moscas-das-frutas são o principal sítio de estocagem, e provavelmente de síntese, dos componentes químicos do seu feromônio (Nation, 1990). Portanto, a análise detalhada do conteúdo dessas glândulas pode contribuir para a completa elucidação da composição de feromônios desses tefritídeos. Porém, o sistema feromonal nesses insetos não funciona de maneira independente de outros aspectos olfativos do ambiente, tais como os voláteis de frutos hospedeiros (Landolt e Averill, 1999; Lima, 2001). Segundo Landolt e Phillips (1997), os compostos do fruto hospedeiro podem ter um efeito sinérgico sobre o feromônio, aumentando a resposta das fêmeas à mistura liberada pelos machos. Assim, faz-se necessária também a identificação dos compostos emanados dos frutos hospedeiro

para detecção daqueles que possam potencializar a atração do feromônio dos machos para as fêmeas. A investigação da composição das glândulas salivares e do fruto hospedeiro no estágio de maturação mais atrativo às fêmeas fornecerá subsídios para identificação de compostos com atividade feromonal e cairomonal para essas espécies. O que poderá resultar no estabelecimento da combinação de compostos mais eficiente para uso como isca em armadilhas para captura de fêmeas no campo.

Dando continuidade à pesquisa básica iniciada com o trabalho de dissertação de mestrado (Gonçalves, 2001), este estudo teve por objetivo extrair e identificar os constituintes voláteis das secreções de glândulas salivares de machos de *A. obliqua* e *C. capitata*, bem como, do seu principal hospedeiro no Estado de Alagoas, a carambola, *Averrhoa carambola* L., no estágio de maturação preferencial para oviposição.

2

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a idade e o horário de pico para os comportamentos de cômte, cópula e oviposição de *A. obliqua* e *C. capitata* em casa de vegetação;
- Determinar qual o estágio de maturação do fruto hospedeiro, *A. carambola*, é preferido por fêmeas de *A. obliqua* e *C. capitata* para oviposição em laboratório;
- Extrair e identificar os constituintes voláteis do fruto hospedeiro no estágio de maturação preferido por fêmeas de *A. obliqua* e *C. capitata* para oviposição.
- Extrair e identificar os constituintes voláteis das glândulas salivares de machos de *C. capitata* e *A. obliqua* na idade e no horário de pico de chamamento e comparar a composição dos extratos obtidos com a de extratos de aeração destes insetos e do fruto hospedeiro no estágio de maturação preferencial para oviposição;
- Testar a atratividade dos extratos de glândulas salivares e de aeração de machos de *A. obliqua* em chamamento frente a fêmeas virgens da espécie em condições de laboratório;

3

REVISÃO DE LITERATURA

3.1. OS INSETOS-PRAGA E SEU CONTROLE

Os insetos-praga, como resultado da sua herbivoria, consomem cerca de 14% da produção agrícola mundial (Hilder e Boulter, 1999). Além dos danos diretos, causam perdas indiretas massivas devido ao seu papel como vetores de vários patógenos, elevando as perdas agrícolas para 37%. Estas perdas ocorrem apesar do uso extensivo de pesticidas e fungicidas (Gatehouse *et al.*, 1992; Oerke *et al.*, 1994; Jouanin *et al.*, 1998; Hilder e Boulter, 1999).

O uso de pesticidas químicos sintéticos, ou agroquímicos, tem sido o principal método de proteção às culturas, sendo movimentados cerca de US\$ 10 bilhões por ano no mercado global destes insumos agrícolas (Hilder e Boulter, 1999). Entretanto, o uso de agroquímicos tem tornado os sistemas agrícolas insustentáveis em virtude do seu alto custo, da sua ineficiência para atingir os organismos-alvo, dos riscos de intoxicação durante a aplicação e das consequências ambientais inaceitáveis, como contaminação de alimentos e fontes de água. Todas estas desvantagens, somadas ao crescimento da insatisfação dos consumidores quanto às consequências do uso de agroquímicos, têm gerado uma pressão para a redução da utilização destes em todo o planeta. Com isso, há uma clara e urgente necessidade de desenvolvimento de métodos de controle de pragas mais específicos e ambientalmente sustentáveis (Hilder e Boulter, 1999; Corrêa e Sant'Ana, 2001).

Nesta perspectiva, vem se praticando o manejo integrado de pragas (MIP). Segundo a FAO (1994), o MIP é a cuidadosa integração de um número de técnicas disponíveis de controle de pragas que dificultam o crescimento da população da praga e mantêm os pesticidas e outras intervenções em níveis que são economicamente justificados e, principalmente, seguros para a saúde humana e o ambiente. De forma mais específica, pode ser definido como o controle múltiplo de pragas, utilizando de forma simultânea diferentes técnicas de supressão populacional, com o objetivo de manter a população do inseto num nível que esteja em harmonia com o ambiente e não ponha em risco a plantação e o lucro do agricultor (Crocomo, 1990; Corrêa e Sant'Ana, 2001). Entre as técnicas de supressão populacional utilizadas no MIP destaca-se o controle por comportamento, que consiste no uso de substâncias químicas de origem natural (de

insetos da mesma espécie que a praga ou de outra, de outros animais, ou de plantas) que modifiquem o comportamento da espécie-alvo, contribuindo para o controle da sua população.

3.2. SUBSTÂNCIAS MODIFICADORAS DO COMPORTAMENTO DE INSETOS

As substâncias que atuam sobre o comportamento de insetos são as mesmas utilizadas na comunicação destes. A comunicação dos insetos é realizada através de sinais visuais, acústicos, tácteis e/ou químicos. Apesar de cada um destes sinais ter sua importância para determinada espécie, são os sinais químicos, de um modo geral, os grandes responsáveis pela comunicação entre insetos e seu meio ambiente (Lewis, 1984). Na comunicação química, as informações são transmitidas por meio de compostos químicos voláteis. Estes compostos são interceptados em sítios específicos nos pêlos cuticulares das antenas dos insetos ou sensilas, estimulando a porção mediana do cérebro destes ou deutocérebro, e desencadeando uma resposta, que pode ser comportamental ou fisiológica (Lima e Della Lucia, 2001).

Quando compostos químicos atuam como sinais são denominados de semioquímicos (Norlund e Lewis, 1976), mas esse termo não é utilizado somente para os compostos que transmitem informações, ele abrange também aqueles que causam efeitos físicos diretos, como as toxinas e os nutrientes (Pickett *et al.*, 1997; Vilela e Della Lucia, 2001). Os semioquímicos que fornecem informações numa interação entre dois indivíduos são designados infoquímicos (Dicke e Sabelis, 1988). Estes podem ser classificados como feromônios, quando a interação mediada é intraespecífica, ou como aleloquímicos, se a interação for interespecífica (Wilson e Bossert, 1963; Nordlund e Lewis, 1984).

Vilela e Della Lucia (2001) ampliaram a definição de Karlson e Lüscher (1959) para os feromônios conceituando-os como infoquímicos mediadores de interações entre organismos de uma mesma espécie, produzindo uma resposta comportamental ou fisiológica adaptativamente favorável ao emissor, ao receptor ou a ambos os organismos na interação. Segundo Nogueira Neto (1984), os feromônios que agem na fisiologia do organismo receptor, exercendo efeito mais lento e prolongado, são denominados de preparadores. Por outro lado, aqueles que provocam uma mudança imediata no comportamento do emissor são designados desencadeadores.

Os feromônios desencadeadores são classificados de acordo com o tipo de comportamento que provocam, podendo agir como atraentes sexuais, serem marcadores de trilhas, propiciar comportamentos de agregação, alarme, dispersão, entre outros (Corrêa e Sant'Ana, 2001). Os feromônios mais utilizados no controle de pragas são os sexuais e os de agregação (Landolt, 1997). O feromônio sexual é utilizado pelos insetos de uma espécie para atração de parceiros para reprodução. Quando este feromônio atrai não só o parceiro para cópula, mas também membros do mesmo sexo que o do emissor é considerado feromônio de agregação.

Os feromônios de agregação estão associados a pistas de sítios adequados para alimentação e/ou oviposição (Landolt, 1997; Lima e Della Lucia, 2001; Vilela e Della Lucia, 2001).

Os aleloquímicos, por sua vez, diferenciam-se de acordo com o organismo que está sendo beneficiado na comunicação. Nesse contexto, três classes de aleloquímicos foram definidas: os cairomônios, aleloquímicos que quando liberados beneficiam somente o agente receptor; os alomônios, aleloquímicos que favorecem apenas ao emissor; e os sinomônios, que beneficiam tanto o agente emissor como o receptor do sinal (Whitman, 1988; Dicke e Sabelis, 1992; Corrêa e Sant'Ana, 2001).

Muitos exemplos de aleloquímicos são observados em interações nas quais as duas espécies envolvidas são insetos. Entretanto, esses compostos são também muito comuns em interações inseto – planta. Neste caso, os voláteis de plantas atuam como pistas químicas, podendo atrair tanto insetos herbívoros como inimigos naturais destes. Nas interações planta hospedeira – inseto fitófago, os aleloquímicos que atuam são os cairomônios, sendo utilizados pelo receptor para localização do emissor (Brown *et al.*, 1970; Landolt, 1997; Corrêa e Sant'Ana, 2001; Vilela e Della Lucia, 2001). Devido à atratividade destes sinais para insetos herbívoros, os aleloquímicos com maior potencial para uso no controle de pragas por comportamento são os cairomônios (**Figura 3.1**).

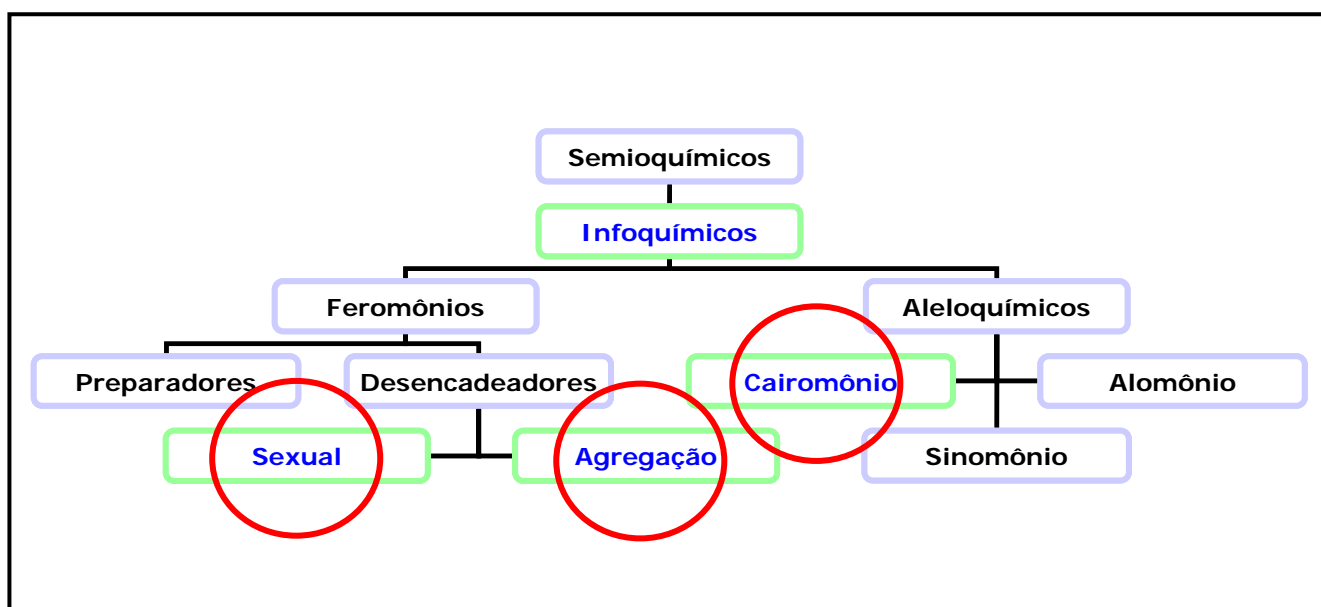


Figura 3.1. Diagrama da classificação dos infoquímicos. Os mais utilizados no controle de pragas por comportamento estão destacados por um círculo (adaptado de Vilela e Della Lucia, 2001).

3.3. USO DE INFOQUÍMICOS NO MANEJO INTEGRADO DE PRAGAS E SUA IMPORTÂNCIA

O controle por comportamento é realizado geralmente através do uso dos infoquímicos em septos, ou outras superfícies liberadoras, dentro de armadilhas de campo (Bento, 2001; Corrêa e Sant'Ana, 2001). As principais formas de utilização dos infoquímicos são:

- Monitoramento – acompanhamento sistemático da população da praga, como um importante subsídio para avaliar a presença do inseto no campo, os níveis de dano e, conseqüentemente, para a tomada de decisão do agricultor (Corrêa e Sant'Ana, 2001) quanto à necessidade ou não de controle químico, bem como, ao momento exato para o uso deste método e às quantidades de agroquímicos exigidas;
- Coleta massal – uso de um grande número de armadilhas com o intuito de capturar seletivamente o maior número possível de indivíduos do inseto-praga alvo para manter sua população abaixo do nível de dano econômico (Knipling, 1979; Bento, 2001);
- Confundimento – uso de feromônio sexual de forma constante e em altas concentrações de modo que o excesso de estímulos químicos no campo sature os sítios receptores dos sinais, desorientando os insetos e impedindo os acasalamentos (Agosta, 1990; Corrêa e Sant'Ana, 2001).

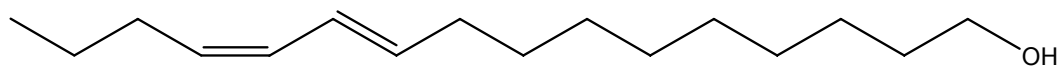
O controle de pragas com infoquímicos é justificado fundamentalmente pelas vantagens ambientais do uso destas substâncias. São agentes altamente específicos, ou seja, seu espectro de ação é restrito e comumente atingem somente as espécies alvo, favorecendo a preservação de inimigos naturais. Além disso, até o momento, não existem relatos de que os infoquímicos provoquem o aparecimento de resistência em insetos-praga ou que sejam tóxicos para o homem e o meio ambiente. Por estas razões, o uso dessas substâncias em agroecossistemas tem aumentado progressivamente nos últimos anos, sendo os feromônios sexuais de lepidópteros e os de agregação de coleópteros os infoquímicos mais comercializados em todo o planeta (Shani, 1998; Corrêa e Sant'Ana, 2001).

3.4. PESQUISA DE INFOQUÍMICOS DE INSETOS

3.4.1. HISTÓRICO

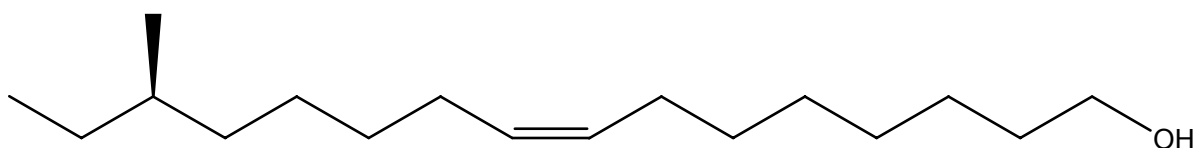
A primeira estrutura química de um infoquímico de inseto foi elucidada por Buternandt *et al.* (1959). A substância isolada e identificada como feromônio sexual produzido por fêmeas de bicho da seda, *Bombyx mori* Linnaeus (1758) (Lepdoptera: Bombycidae), foi denominada bombicol e determinada como (E10,Z12)- hexadecadien-1-ol (1). Com base em ensaios comportamentais, observou-se que o feromônio sexual desta espécie apresentava apenas esta substância envolvida

na comunicação. Além disso, como a substância identificada se tratava de uma molécula aquiral, o único problema estereoquímico encontrado para sua identificação foi a elucidação da geometria da olefina (Tumlinson, 1988; Corrêa e Sant'Ana, 2001; Lima e Della Lucia, 2001).



(E10,Z12)-Hexadecadien-1-ol
(1)

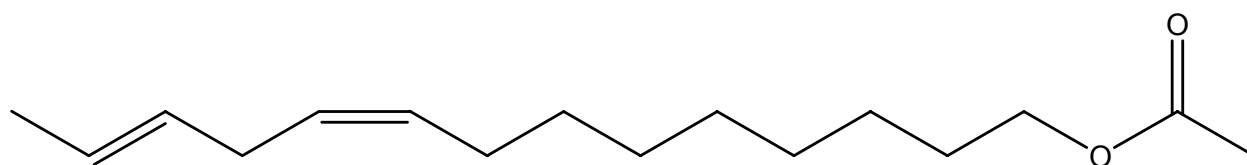
Somente dez anos após a citada publicação de Buternandt foi introduzida a questão da quiralidade no estudo de feromônios. Silverstein *et al.* (1969) identificaram alguns feromônios quirais, entre eles o (*R*)-14-metil-(*Z*)-8-hexadecen-1-ol (2), feromônio sexual produzido por fêmeas da praga de cereais armazenados *Tragoderma inclusen* Le Conte (1854) (Coleoptera: Dermestidae). A ocorrência natural desses feromônios quirais estimulou o início de estudos sobre a estereoquímica dos infoquímicos. Várias dificuldades foram encontradas nesses estudos devido às pequenas quantidades frequentemente isoladas. A melhor maneira de resolver o problema foi através da síntese enantiosseletiva, partindo-se de um composto de configuração absoluta conhecida. Desde então, a síntese enantiosseletiva de diversos feromônios tem sido realizada com o intuito de se obter uma melhor compreensão da relação entre estereoquímica – bioatividade de infoquímicos. Através desses estudos, observou-se que da mesma forma que existem feromônios que são uma mistura enantiomérica na qual os enantiômeros separadamente são ativos, sendo, algumas vezes, ambos necessários para a bioatividade, existem também aqueles nos quais apenas um enantiômero é bioativo e o outro, em alguns casos, inibe a ação do feromônio e em outros casos não possui qualquer ação (Mori, 1998; Corrêa e Sant'Ana, 2001).



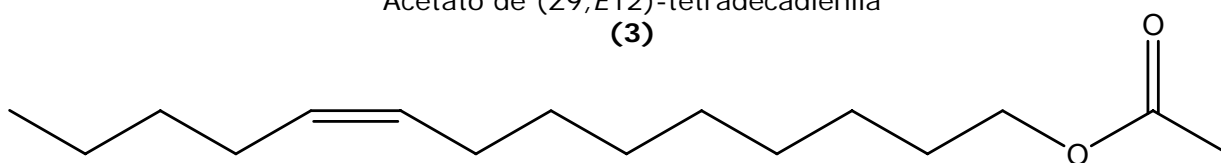
(*R*)-14-Metil-(*Z*)-8-hexadecen-1-ol
(2)

No início da década seguinte foi demonstrado que os feromônios poderiam constituir-se de mais de um componente. O primeiro exemplo de feromônio com natureza multicomponente foi a identificação do feromônio sexual produzido por fêmeas da lagarta-das-folhas *Spodoptera eridania* Stoll (1782) (Lepidoptera: Noctuidae), por Jacobson *et al.* (1970) como uma mistura de acetato de (*Z*9,*E*12)-tetradecadienila (3) e acetato de (*Z*)-9-tetradecenila (4). Os dois componentes, individualmente, estimulavam o comportamento sexual de machos e admitiu-se que possuíam funções diferentes no comportamento de acasalamento desta espécie. Estes autores especularam que o dieno agiria como atraente de longa distância, enquanto o monoeno atuaria à curta

distância. Embora esta especulação não tenha sido provada, ela deu origem a vários estudos sobre possíveis diferenças na função dos componentes do feromônio em sistemas feromonais multicomponentes de lepidópteros (Ritter, 1971; Meijer *et al.*, 1972; Tamaki *et al.*, 1979). A partir desses estudos, foi estabelecido que nos insetos dessa ordem os feromônios sexuais são, geralmente, constituídos de dois a sete compostos químicos, sendo um deles o componente principal (mais de 80 % do volume da mistura), enquanto os demais constituintes são designados como componentes secundários. A percepção dos componentes do feromônio desencadeia uma série de comportamentos expressos em uma seqüência padrão. Na cadeia de respostas de longa distância, a seqüência inclui desde a movimentação das antenas até o vôo e pouso na fonte de feromônio. Na cadeia de respostas de curta distância a seqüência se inicia com o encontro entre macho e fêmea, passa por comportamentos de interação entre estes e pode levar à cópula. Observou-se que para que toda a seqüência padrão seja manifestada é necessário que os componentes da mistura feromonal estejam todos presentes e na proporção precisa para cada espécie (Lima e Della Lucia, 2001).



Acetato de (Z₉,E₁₂)-tetradecadienila
(3)



Acetato de (Z)-9-tetradecenila
(4)

Dos primeiros estudos sobre infoquímicos de insetos realizados com feromônios sexuais de lepidópteros pôde-se verificar que os componentes de feromônios de insetos dessa ordem eram álcoois e ésteres. Investigações posteriores com insetos dessa e de outras ordens demonstraram que feromônios em geral (não só os sexuais) podem ser constituídos de uma grande diversidade de estruturas químicas, sendo, além das classes de compostos químicos citadas, as mais comuns: aldeídos, cetonas, epóxidos, hidrocarbonetos, terpenóides, lactonas, compostos espirocíclicos, amidas e outros compostos nitrogenados como pirazinas e pirrolizinas. Em muitos desses feromônios estudados observou-se a presença de compostos quirais e uma natureza multicomponente da mistura (Tumlinson, 1988; Howse *et al.*, 1998).

3.4.2. MÉTODOS EMPREGADOS NA PESQUISA DE INFOQUÍMICOS

A ciência que estuda os infoquímicos é denominada ecologia química, sendo definida como: área de pesquisa interdisciplinar que procura compreender as origens, funções e significado dos compostos naturais que mediam interações entre organismos (Pickett *et al.*, 1997). O maior número de informações obtidas em ecologia química está relacionado aos sistemas de comunicação de insetos e sua maior finalidade prática é a descoberta de novos métodos de controle de insetos-praga que não ofereçam risco ao ambiente (Tumlinson, 1988).

Para compreender os sistemas de comunicação de insetos o trabalho deve ser iniciado com a observação detalhada do comportamento destes, para que os hábitos básicos da espécie sejam conhecidos. Uma vez feito o estudo do comportamento, o pesquisador já possuirá informações sobre o momento mais adequado para interceptar a mensagem química. A interceptação é realizada através da extração dos compostos químicos que compõem o odor liberado pelo emissor da mensagem. A seguir, esta mensagem deve ser decifrada, com a identificação dos referidos compostos, e, a partir daí, procedem-se a síntese e as tentativas de reprodução da mistura de compostos identificados para seu uso no controle de pragas (Ferreira e Zarbin, 1998; Howse *et al.*, 1998).

3.4.2.1. ESTUDO DO COMPORTAMENTO DE INSETOS

Na investigação de infoquímicos, o estudo do comportamento de insetos fornece informações que são fundamentais para o planejamento das etapas subseqüentes da pesquisa. Esse estudo define o comportamento que está associado ao sinal químico emanado, a época e horário em que este sinal é liberado ou aquela em que elicia maior atividade no inseto receptor, além do efeito das condições ambientais sobre a resposta deste. Se a pesquisa for destinada à identificação de feromônio sexual, o estudo do comportamento estabelece também a provável região do corpo do inseto envolvida na produção do feromônio através de testes de atratividade à diferentes partes do corpo deste (Howse *et al.*, 1998).

Além de o estudo comportamental ser essencial no início da pesquisa de qualquer infoquímico, ele deve monitorar cada etapa do processo. Segundo Howse *et al.* (1998), após a extração, o extrato obtido deve ser testado frente a insetos da espécie em estudo para se verificar se estes desempenham a mesma seqüência de comportamentos manifestada na presença da fonte natural do odor, avaliando, assim, se todos os constituintes do sinal químico foram extraídos. Da mesma forma, após a identificação dos componentes químicos do sinal e síntese destes, são realizados testes de laboratório com compostos individuais e combinações destes para se chegar à formulação mais ativa. Após isso, testes de campo são conduzidos para se avaliar a qualidade do produto obtido.

Os testes comportamentais ou etológicos são realizados em laboratório, em condições semi-naturais ou no campo. Em laboratório, esses testes ou bioensaios são conduzidos, com maior frequência, em três tipos básicos de equipamentos: as arenas, nas quais não se utiliza fluxo de ar; e os olfatômetros e túneis de vento, em que as moléculas do odor testado são transportadas em direção aos insetos por uma corrente de ar provocada (Baker e Cardé, 1984; Howse *et al.*, 1998; Eiras e Mafrá Neto, 2001).

As arenas são caixas transparentes muito utilizadas para testes com extratos. São normalmente de vidro ou acrílico, e em seu interior, um grupo de insetos é exposto ao estímulo testado (extrato) e ao controle (geralmente o solvente utilizado no extrato). Esses são introduzidos no ambiente em discos de papel de filtro impregnados com um destes dois materiais e posicionados em extremidades opostas do espaço interno. A atratividade do material de teste é avaliada comparando a quantidade de aproximações dos insetos ao disco impregnado com este material com aquelas ao controle. Pode ser observada também a seqüência de movimentos descrita pelo inseto quando próximo à substância testada, para avaliar em que extensão esta substância influencia um determinado comportamento. Como não há passagem de fluxo de ar no interior das arenas, os insetos só podem manifestar respostas comportamentais à curta distância. Pelo mesmo motivo, o tamanho da arena e o tempo de exposição dos insetos ao estímulo devem ser adequados a cada espécie estudada, visto que, em um ambiente fechado, após certo tempo, todas as moléculas de odor se encontram igualmente distribuídas. Apesar destas desvantagens, as arenas são utilizadas pela sua facilidade de construção e utilização (Baker e Cardé, 1984; Howse *et al.*, 1998; Eiras e Mafrá Neto, 2001). Arenas de maiores dimensões podem ser utilizadas para testar a atratividade de insetos para material proveniente de vegetais, como folhas, flores e frutos.

3.4.2.2. EXTRAÇÃO DE INFOQUÍMICOS POR SOLVENTE E AERAÇÃO

Os constituintes químicos de feromônios e aleloquímicos para serem identificados precisam ser retirados ou extraídos do organismo que os produz. Existem, segundo Howse *et al.* (1998), dois métodos básicos de extração de infoquímicos relacionados a insetos, a extração por solvente e a aeração, esta última podendo ser aplicada para extração de compostos provenientes, tanto de insetos, quanto de plantas (Jones e Oldham, 1999; Do Nascimento e Sant'Ana, 2001).

A extração por solvente é efetuada via processo simples de contato do solvente com a superfície do material da amostra. Analitos solúveis na fase orgânica são distribuídos entre a matriz da amostra e o solvente extrator. A eficiência da extração depende das interações químicas entre a substância e o solvente utilizado. Deste modo, as propriedades físicas do solvente influenciam diretamente a permeabilidade na membrana celular (Sant'Ana e Stein, 2001).

Os constituintes químicos de infoquímicos são, em geral, apolares e têm alta volatilidade. Por isso, solventes de baixa polaridade como o hexano e o diclorometano são apropriados para a extração porque as substâncias voláteis ativas possuem uma alta solubilidade nestes solventes. Na maioria dos casos, depois da extração, o extrato deve ser concentrado. Por esta razão deve-se utilizar um solvente com alta pureza (Do Nascimento e Sant'Ana, 2001; Sant'Ana e Stein, 2001).

No caso de insetos, os extratos podem ser feitos de corpo inteiro ou de partes isoladas do corpo, tais como, abdômen, aparelho reprodutor ou glândulas. A extração apenas da glândula do feromônio resulta em um extrato com concentrações relativamente altas de compostos bioativos e pequena quantidade de substâncias co-extraídas, o que representa uma maior eficiência de extração (Sant'Ana e Stein, 2001).

A aeração consiste na coleta dos constituintes voláteis liberados por organismos vivos, através da passagem de um fluxo de ar purificado, que arrasta as moléculas destes voláteis presentes na câmara onde os organismos emissores são mantidos, e as conduz até um tubo recheado com sólidos adsorventes, conhecido como tubo coletor de voláteis, no qual estas moléculas são aprisionadas. Os adsorventes mais comumente utilizados são o carvão ativo, a sílica gel e os polímeros porosos Porapak® (co-polímero de etilvinilbenzeno–divinilbenzeno) e Tenax® (polímero poroso de óxido de 2,6-difenil- p -fenileno). O processo físico de adsorção é baseado em atrações eletrostáticas entre os grupos funcionais da superfície do adsorvente e os das moléculas dos constituintes adsorvidos (Howse *et al.*, 1998; Do Nascimento e Sant'Ana, 2001).

Além da câmara e do tubo coletor que está conectado à sua saída, os sistemas de aeração (**Figura 3.2**) possuem também um filtro tubular de carvão ativo, conectado à entrada desta mesma câmara, para purificação do fluxo de ar que entra. Este fluxo de ar é succionado por uma linha de vácuo adaptada à extremidade do tubo coletor. Após o tempo adequado, que é variável para cada espécie estudada, interrompe-se a linha de vácuo e o tubo coletor é desconectado do sistema (Zarbin, 2001).

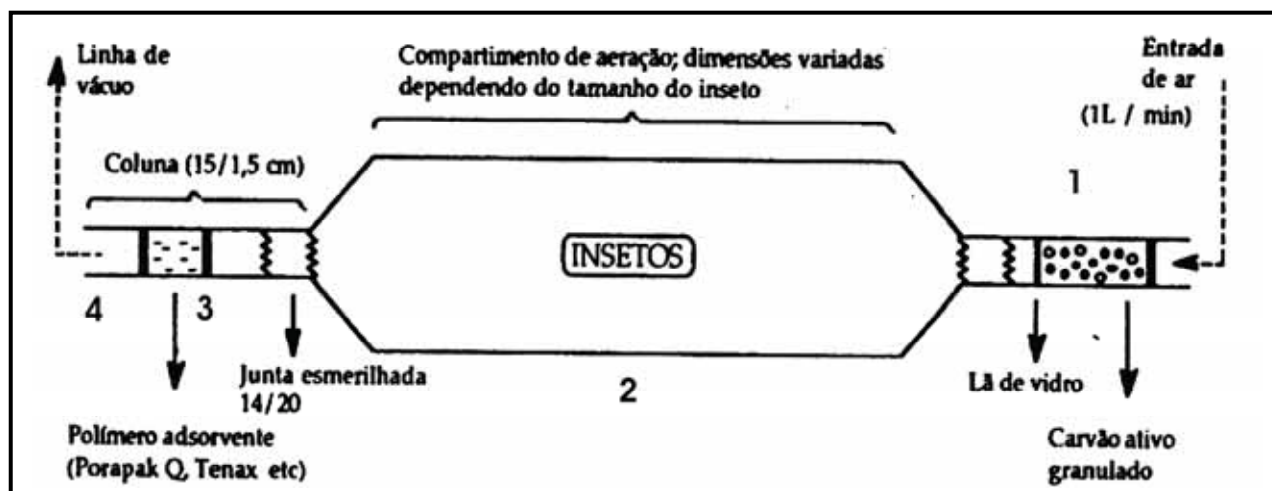


Figura 3.2. Diagrama de um sistema de aeração. 1- Filtro de carvão ativo. 2- Câmara para aeração de insetos. 3- Tubo para adsorção com polímero adsorvente. 4- Conexão com a linha de vácuo (Adaptado de Zarbin, 2001).

A técnica mais utilizada para extração dos constituintes voláteis da superfície dos adsorventes é a dessorção por solvente. Esta consiste na simples lavagem do tubo coletor com uma quantidade reduzida de solvente, freqüentemente hexano ou diclorometano (Howse *et al.*, 1998; Do Nascimento e Sant'Ana, 2001).

A maior vantagem da aeração é que ela fornece uma amostra dos compostos voláteis na forma em que eles são realmente emitidos e na proporção exata entre eles. É particularmente utilizada na pesquisa de feromônios quando o número de insetos disponíveis é limitado ou quando os voláteis são liberados pelo inseto em quantidade muito baixa, porque sendo a coleta contínua, a quantidade de compostos obtida é maior (Howse *et al.*, 1998).

3.4.2.3. ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE INFOQUÍMICOS POR CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS

A combinação do poder de separação do cromatógrafo gasoso com a habilidade do espectrômetro de massas para identificar substâncias puras, deu origem à cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), a técnica mais poderosa para a análise das misturas de compostos características dos infoquímicos. Além de fornecer valiosas informações sobre a estrutura dos compostos, o espectrômetro de massas funciona como um detector extremamente sensível, cujo limite de detecção é aproximadamente 10 pg (Jones e Oldham, 1999; Do Nascimento e Sant'Ana, 2001).

O cromatógrafo gasoso é um aparelho composto basicamente de: um injetor, usado para a introdução da amostra; uma coluna, na qual os componentes da amostra são separados; um detector, que capta a presença de cada componente separado; e um registrador, que registra o sinal enviado pelo detector na forma de um gráfico, o cromatograma, no qual cada pico deve corresponder a um componente. Na cromatografia gasosa os componentes de misturas complexas de voláteis são separados pelas migrações diferenciais destes entre uma fase móvel, que os conduz através da coluna, e uma fase estacionária, que preenche ou reveste esta coluna, e que, os retira seletivamente da fase móvel, quando estas duas fases estão em íntimo contato (Lanças, 1993; Collins *et al.*, 1997).

Os gases de arraste mais utilizados na cromatografia gasosa são o hélio, o hidrogênio e o nitrogênio. Durante a análise, a vazão do gás de arraste deve ser constante, para que haja reprodutibilidade nos tempos de retenção, para isso são utilizados controladores de fluxo. As temperaturas do injetor, do forno onde a coluna está inserida e do detector também necessitam ser controladas, sendo este trabalho realizado pelo termostato. No injetor, a temperatura deve ser mantida alta para vaporização da amostra, mas suficientemente baixa para que não haja decomposição térmica desta. Na coluna, altas temperaturas são requeridas para que os

compostos também sejam separados de acordo com seus pontos de ebulição. Nessa parte do equipamento, a temperatura pode permanecer constante durante o processo, no caso de separações isotérmicas, ou pode ser programada para aumentar progressivamente durante a separação. A programação da temperatura reduz o tempo de análise e evita que os compostos de ponto de ebulição mais baixo eluam juntos, dificultando a sua resolução (Lanças, 1993; Collins *et al.*, 1997).

O método cromatográfico mais utilizado na análise de infoquímicos é a cromatografia gasosa capilar. Nesse método, as colunas têm de 0,1 a 0,7 mm de diâmetro interno e de 10 a 100 metros de comprimento, e a fase estacionária é líquida, formando uma fina película que reveste a coluna internamente. Na análise de feromônios, as fases estacionárias mais comuns são aquelas com 100% de polidimetilsiloxano ou com 5% de polifenildimetilsiloxano. Os compostos mais polares, como os ácidos carboxílicos, são melhor analisados utilizando fases estacionárias de polietilenoglicol (Lanças, 1993; Jones e Oldham, 1999).

Um espectrômetro de massas é um instrumento de sensibilidade singular composto de três partes fundamentais: a fonte de ionização, onde as moléculas do composto em análise são ionizadas; o analisador, onde os íons formados são separados de acordo com as suas massas; e o detector, onde os íons separados por suas massas são detectados (Howse *et al.*, 1998; Skoog *et al.*, 1998).

O cromatógrafo gasoso pode ser acoplado a maioria dos tipos de espectrômetros de massas diretamente, com a coluna capilar passando por uma linha de transferência aquecida para dentro da fonte de ionização (**Figura 3.3**). Em operação, a amostra é injetada no cromatógrafo gasoso e, à medida que cada componente separado é eluído, seu espectro de massas é obtido. Os dados são armazenados em um computador, onde são feitas detalhadas análises e comparações de compostos desconhecidos com os espectros de massa da biblioteca contida em um programa do computador (Howse *et al.*, 1998; Jones e Oldham, 1999).

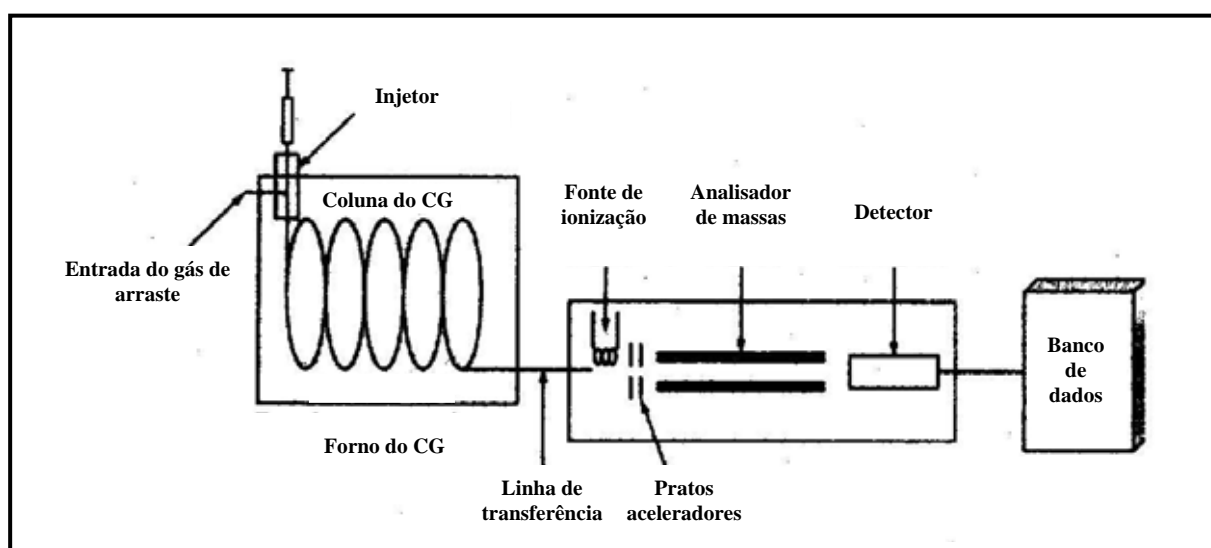


Figura 3.3. Diagrama de um cromatógrafo gasoso / espectrometro de massas típico (Modificado de Skoog, 1998).

O método de ionização mais utilizado na pesquisa de infoquímicos é o impacto eletrônico. Neste método, um filamento de tungstênio, contido na fonte de ionização, é aquecido e mantido em um potencial de aproximadamente 70 eV, emitindo um feixe de elétrons que colide com uma molécula do composto que elui da coluna cromatográfica, causando a retirada de um elétron nesta molécula. O íon de maior massa positivamente carregado formado é denominado de íon molecular. A energia recebida pela molécula para sua ionização, produz a elevação do estado vibracional e rotacional do íon molecular formado causando a ruptura de suas ligações e a formação de fragmentos moleculares. Assim, o íon molecular ocorre em meio a uma mistura de radicais, moléculas e íons positivamente carregados com massas menores. Esses podem sofrer novas fragmentações, originando novos íons positivos de massas variadas, inferiores a do íon molecular. Ainda no interior da fonte de ionização, um conjunto de pratos aceleradores atrai, por diferença de potencial, os íons formados, e induz a um aumento da velocidade dessas partículas em direção ao analisador de massas. O espectro obtido pela ionização por impacto eletrônico apresenta um número maior de fragmentações, fornecendo mais informações sobre a estrutura dos compostos (Skoog *et al.*, 1998; Howse *et al.*, 1998).

Na análise de infoquímicos, o analisador de massas mais utilizado é o de setor quadrupolar, por fornecer um espectro de massas altamente reprodutível utilizando menor tempo de varredura. Espectrômetros de massas com analisador de quadrupólo têm, geralmente, menor custo e modelo compacto. O analisador de quadrupólo consiste em quatro pólos em forma de bastão, arranjados paralelamente de forma simétrica, aos quais é aplicada uma voltagem para formação de um campo elétrico oscilante. À medida que os íons entram no analisador, o campo elétrico lhes fornece uma oscilação que lhes permite passar rapidamente através do espaço entre os quatro pólos e chegar ao detector. Os íons com relação massa/carga pequena ou muito grande, apresentam oscilações instáveis, favorecendo à colisão com os pólos, não sendo detectados. O analisador, assim como o detector, é mantido no vácuo, para evitar que ocorram colisões entre íons e moléculas (Ashcroft, 1997).

Pela utilização da CG-EM, além das informações fornecidas pelo cromatógrafo gasoso como número de compostos da amostra, concentrações relativas destes e seus graus de polaridade, podem também ser obtidas: a massa molecular dos compostos, a composição elementar e a estrutura destes compostos. Cada um dos íons resultantes das fragmentações, ao ser detectado, dá origem a um pico, cuja abundância reflete a sua estabilidade. O pico de maior abundância no espectro é o pico base. Ele corresponde, portanto, ao fragmento mais estável formado. A abundância relativa de todos os outros picos no espectro é descrita como porcentagem da abundância do pico base. Entretanto, o pico de maior importância para as determinações estruturais é o do íon molecular, uma vez que a sua massa fornece o peso molecular do composto que está sendo analisado. Ele é, normalmente, o íon de maior massa molecular observado no espectro. A partir da massa do íon molecular é possível também se

calcular o número de átomos de cada elemento do composto, embora esta massa seja aproximada. Além disso, o padrão de fragmentação de um composto contribui na elucidação da sua estrutura, visto que, cada classe de compostos tem o seu padrão de fragmentação característico (Howse *et al.*, 1998).

3.5. INSETOS-PRAGA EM ESTUDO

3.5.1. TAXONOMIA E DESCRIÇÃO

A espécie *Ceratitis capitata* Wiedemann, 1824 pertence à ordem Diptera, na subordem Brachycera, série Schizophora, seção Acalypratae, família Tephritidae, subfamília Trypetinae, tribo Dacini, subtribo Ceratidina. A espécie *Anastrepha obliqua* Maquart, 1835 pertence à mesma ordem, subordem, série, seção, família e subfamília, entretanto, a tribo na qual está classificada é a Toxotrypanini (Norrbon *et al.*, 1998).

Os insetos adultos de *C. capitata* (**Figura 3.4**) medem em torno de 5 mm de comprimento por cerca de 11 mm de envergadura e possuem cor castanha predominante, tórax com face dorsal negra ornada com desenhos brancos simétricos e asas transparentes com pontuações negras na parte basal e faixas amarelo-castanho a parte distal. O dimorfismo sexual é caracterizado pela presença de um apêndice tubular, conhecido como bainha do ovipositor, na extremidade do abdômen das fêmeas (Foote, 1980; Weens Jr., 1981; Cruz *et al.*, 2000).

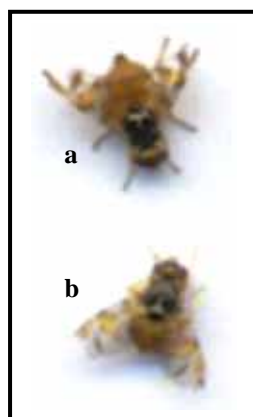


Figura 3.4. Casal da espécie *C. capitata*:
a) fêmea e b) macho (original do autor).

Os adultos de *A. obliqua* (**Figura 3.5**) medem em torno de 7 mm de comprimento (Nascimento, 1997) por cerca de 15 mm de envergadura (Weens Jr. *et al.*, 2001) e a sua coloração predominante é amarela (Foote, 1967; Nascimento, 1997). A face dorsal de seu tórax é de cor castanha amarelada e apresenta três faixas longitudinais amarelas e duas pontuações negras no último segmento torácico. As asas são transparentes e possuem três faixas amarelas sombreadas de preto: a primeira cobre todo o bordo anterior, a segunda cruza cada asa de forma

oblíqua e tem forma de “S”, e a terceira está localizada no bordo posterior da extremidade da asa e tem forma de “V” invertido (Aluja, 1994; Zucchi, 2000a). O abdome das fêmeas, assim como em *C. capitata*, tem os últimos segmentos modificados (Aluja, 1994), sendo que a bainha do ovipositor é maior e mais robusta que naquela espécie.

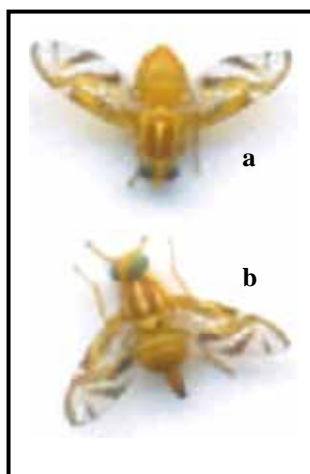


Figura 3.5. Casal da espécie *A. obliqua*: a) macho e b) fêmea (original do autor).

3.5.2. CICLO DE VIDA

C. capitata e *A. obliqua* são insetos frugíferos que apresentam reprodução sexuada e metamorfose completa ou holometabólica composta das seguintes fases ou estágios: ovo, larva, pupa e adulto ou imago (Morgante, 1991; Aluja, 1994; Salles, 1995).

O ciclo de vida desses insetos (**Figura 3.6**), de maneira geral, se processa da seguinte forma: uma fêmea fecundada insere seu ovipositor em um fruto e deposita seus ovos; destes eclodem larvas que se alimentam da polpa deste fruto até completar seu desenvolvimento, ao final de três estádios ou ínstars; nesse momento, que pode ou não coincidir com a queda do fruto, as larvas o abandonam e penetram no solo para se transformarem em pupas; depois de alguns dias, dos pupários emergem os adultos que, ao atingirem a maturidade sexual, darão início a um novo ciclo (Aluja, 1994).

Embora este padrão de desenvolvimento seja comum a ambas espécies, existem variações em determinados aspectos, tais como: no estágio de maturação do fruto preferido pelas fêmeas para oviposição, na quantidade de ovos depositados, na duração de cada uma das fases de desenvolvimento e na duração do período que vai da emergência da fêmea até sua primeira oviposição, chamado de período de pré-oviposição, como pode ser observado na **Tabela 3.1**.

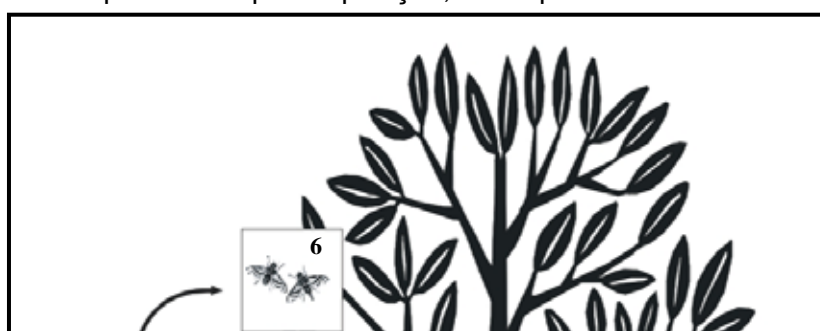


Tabela 3.1. Características diferenciais entre os ciclos biológico de *C. capitata* e *A. obliqua* para temperaturas de 26° C.

CARACTERÍSTICAS	<i>C. capitata</i>	<i>A. obliqua</i>
Estágio de maturação do fruto hospedeiro preferencial para oviposição	Frutos maduros (Weens Jr., 1981)	Frutos verdes completamente desenvolvidos (Weens Jr. <i>et al.</i> , 2001)
Quantidade de ovos por oviposição	1 a 10 ovos (Weens Jr., 1981)	Apenas 1 ovo (Weens Jr. <i>et al.</i> , 2001)
Duração média das fases de desenvolvimento	Ovo – 2 dias (Weens Jr., 1981) Larva – 8 dias (Weens Jr., 1981) Pupa – 10 dias (Weens Jr., 1981; Quesada-Allué, 1994)	Ovo – 3 dias (Cruz <i>et al.</i> , 2000) Larva – 11 dias (Weens Jr. <i>et al.</i> , 2001) Pupa – 16 dias (Cruz <i>et al.</i> , 2000)
Duração média do período de pré-oviposição	7 dias (Weens Jr., 1981)	10 dias (Liedo <i>et al.</i> , 1992)

3.6. IMPORTÂNCIA DE *C. capitata* E *A. obliqua* PARA FRUTICULTURA

As moscas-das-frutas *C. capitata* e *A. obliqua* causam grandes prejuízos a fruticultura mundial devido aos severos danos causados aos frutos, a variedade de frutos hospedeiros e a ampla distribuição geográfica.

3.6.1. DANOS CAUSADOS AOS FRUTOS

As larvas ao se desenvolverem consomem a polpa dos frutos e favorecem a invasão de microrganismos (**Figuras 3.7 e 3.8**), o que torna os frutos impróprios tanto para consumo *in natura* quanto para industrialização. Somam-se a estes danos, os prejuízos ocasionados pelas exigências quarentenárias impostas pelos países importadores de frutos (Duarte e Malavasi, 2000).



Figura 3.7. Fruto de manga infestado por larvas do gênero *Anastrepha* (Aluja, 1994).

3.6.2. FRUTOS HOSPEDEIROS

C. capitata é a espécie-praga mais polífaga do mundo, infestando mais de 300 espécies de frutos (Light *et al.*, 1998; Liquido *et al.*, 1991). Seus hospedeiros preferenciais são os da família Rosaceae, como a maçã (*Malus domestica*), a ameixa (*Prunus domestica*), a pêra (*Pyrus communis*), o pêssego (*Prunus persica*) e a nectarina (*Prunus persica* var. *nucipersica*), e os da família Rutaceae, como os citros. Em áreas urbanas, esta espécie tem sido observada infestando frequentemente os frutos da caramboleira (*Averrhoa carambola* - Oxalidaceae) e da amendoeira tropical (*Terminalia catappa* - Combretaceae) (Malavasi *et al.*, 2000).

Para *A. obliqua*, existem, segundo Norrbom e Kim (1988), 70 hospedeiros registrados. Embora eles pertençam a diversas famílias, a espécie tem preferência por frutos da família Anacardiaceae, como a manga (*Mangifera indica*) e os do gênero *Spondias*, como a serigüela (*S. purpurea*), o cajá (*S. dulcis*), o cajá-mirim (*S. venulosa*), a cajarana (*S. cytherea*) e o umbu (*S. tuberosa*) (Malavasi *et al.*, 2000; Selivon, 2000; Spaide, 2000). Além desses, são hospedeiros frequentes de *A. obliqua*, o jambo (*Jambosia* sp.) e a goiaba (*Psidium guajava*), da família Myrtaceae (Weens Jr. *et al.*, 2001) e a carambola, da família Oxalidaceae (Zucchi, 2000b).

3.6.3. DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

C. capitata é originária da África sub-Saariana, região onde se encontra amplamente distribuída (White e Elson-Harris, 1992). Porém, atualmente encontra-se difundida em todas as regiões biogeográficas do mundo (**Figura 3.8**), excetuando-se os locais onde a temperatura muito fria não permitiu a sua sobrevivência e os países onde são mantidos programas ativos de erradicação, como Estados Unidos e o Chile (Malavasi *et al.*, 2000).

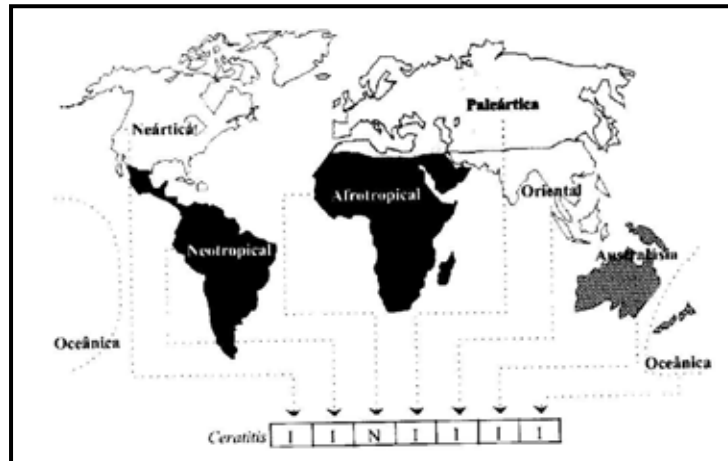


Figura 3.8. Distribuição do gênero *Ceratitis* nas regiões biogeográficas do planeta. *C. capitata* é a única espécie deste gênero que se estabeleceu fora do Continente Africano. N – região onde o gênero é nativo; I – região onde o gênero foi introduzido (Modificado de Malavasi *et al.*, 2000).

No Brasil, a ocorrência dessa espécie tem sido registrada nesta última década em praticamente todos os estados, em alguns deles, como os do sul, tendo populações muito baixas, e em outros, como o de São Paulo, infestando severamente os cultivos de frutíferas de clima temperado. No nordeste, sua ocorrência tem se restringido às áreas urbanas e aos perímetros irrigados com cultivo de frutíferas tropicais, até o momento, com populações não muito altas, mas, mesmo assim, causando danos econômicos aos produtores (Silva, 2000; Malavasi *et al.*, 2000).

A. obliqua é nativa do Continente Americano (Malavasi *et al.*, 2000), sendo a espécie do gênero *Anastrepha* que é encontrada em maior número de países deste continente (Saldanha e Silva, 1999). Sua presença tem sido registrada desde o Estado do Texas na América do Norte até Argentina na América do Sul (**Figura 3.9**), excetuando-se apenas o extremo sul deste país e o Chile - devido às temperaturas excessivamente frias na citada região do primeiro e aos programas de erradicação no último (White e Elson-Harris, 1992; Malavasi *et al.*, 2000; Wens Jr. *et al.*, 2001).

Há registros de ocorrência para essa espécie em quase todos os estados brasileiros. Entretanto, somente nos Estados do Amazonas e do Maranhão é a mosca-das-frutas de maior importância econômica. Porém, com o aumento do cultivo da manga nos projetos de fruticultura

irrigada do Nordeste existe uma grande tendência à elevação das populações de *A. obliqua* nesta região (Saldanha e Silva, 1999; Malavasi *et al.*, 2000; Wens Jr. *et al.*, 2001).



Figura 3.9. Distribuição geográfica de *A. obliqua*
(Adaptado de Malavasi *et al.*, 2000).

Em Alagoas, a presença de *C. capitata* foi relatada nos municípios de Mar Vermelho, Chã Preta, Viçosa, Arapiraca (dados fornecidos pela Secretaria Estadual de Agricultura, Abastecimento e Pesca/AL, 2001), Rio Largo e Maceió (Gonçalves, 2001). Já a espécie *A. obliqua* apresentou distribuição mais ampla no Estado, tendo sido encontrada nos municípios de: Santana do Mundaú, União dos Palmares, Mar Vermelho, Chã Preta, Viçosa, Arapiraca, Limoeiro de Anadia, São Sebastião, Coruripe, Igreja Nova, Penedo, Arapiraca (dados fornecidos pela Secretaria Estadual de Agricultura, Abastecimento e Pesca/AL, 2001) e Maceió (Gonçalves, 2001).

3.7. SISTEMA FEROMONAL DE *C. capitata* E DO GÊNERO *Anastrepha*

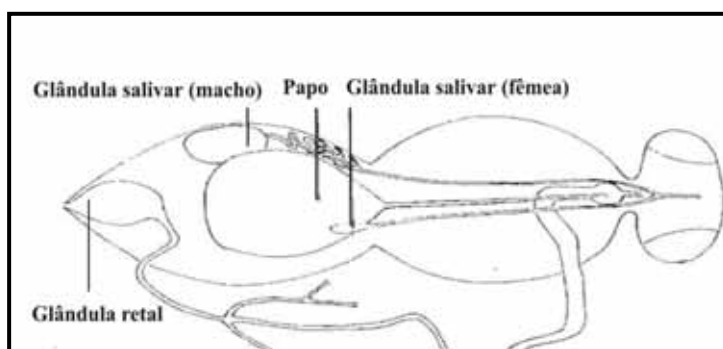
Nas moscas-das-frutas da espécie *C. capitata* e do gênero *Anastrepha* o feromônio sexual é produzido e liberado pelos machos. Esses machos, quando estão sexualmente maduros começam a exibir uma seqüência de movimentos conhecida como chamamento. Durante o chamamento, os insetos movem suas asas alternadamente e liberam feromônio a partir de suas bolsas pleurais, por distensão da cutícula abdominal, e a partir da gota de secreção formada pela eversão da sua membrana anal (**Figura 3.10**). Além desses movimentos, durante a liberação, o macho vibra as asas periodicamente para a dispersão do seu feromônio (Nation, 1989; Briceño *et al.*, 1996).



Os machos em chamamento agregam-se formando assembléias. Essas assembléias, que no campo geralmente ocorrem na superfície inferior das folhas (Malavasi e Barros, 1988), potencializam o odor do feromônio, atraindo as fêmeas para cópula (Sugayama e Malavasi, 2000). Como o feromônio liberado, antes de atrair as fêmeas para o acasalamento, atrai outros machos para a formação de assembléias, passou a ser considerado como feromônio de agregação (Landolt, 1997).

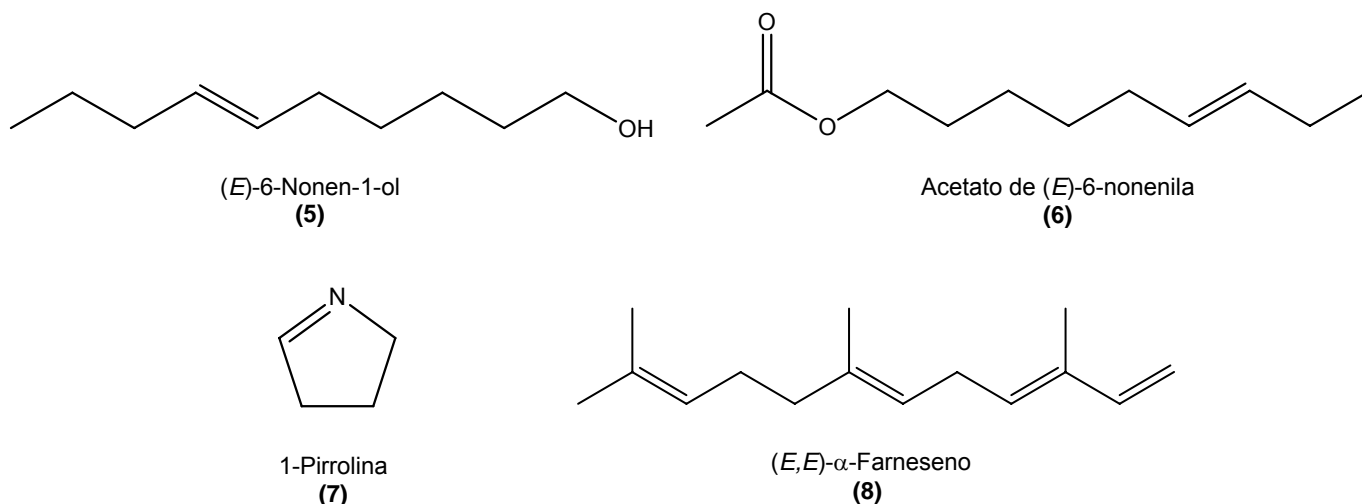
Além da formação de assembléias e do comportamento de cômte bastante elaborado, o sistema feromonal dos tefritídeos citados acima, apresenta outros aspectos de extrema complexidade. Segundo Nation (1989 e 1990), ocorre liberação de componentes da mistura feromonal pela probóscide, ânus e, possivelmente, por poros na cutícula dos machos, havendo também armazenamento diferencial dos constituintes voláteis do feromônio em diversas estruturas do organismo dos insetos, como: glândulas salivares, papo, glândulas abdominais pleurais, intestino e bolsa anal (**Figura 3.11**).

As glândulas salivares de machos de diversas espécies do gênero *Anastrepha* e de *Ceratitis capitata* se originam de um ducto comum na cabeça e se bifurcam em dois tubos laterais que se estendem de cada lado do abdômen e terminam como uma grande bola de túbulos enovelados. Estas porções terminais das glândulas salivares se localizam imediatamente abaixo de cada uma das bolsas abdominais pleurais. Existem evidências a partir de estudos sobre glândulas salivares de machos isoladas e de análises de tecidos, que compostos químicos são produzidos ou estocados nestas glândulas. Dessa forma, tais glândulas têm sido consideradas, entre as diversas estruturas do organismo dos insetos mencionadas, o principal sítio de estocagem, e talvez de síntese, dos compostos liberados por machos das referidas espécies (Nation, 1981 e 1990; Teles, 1987; Lima, 1996; Ibañez-López e Cruz-López, 2001).

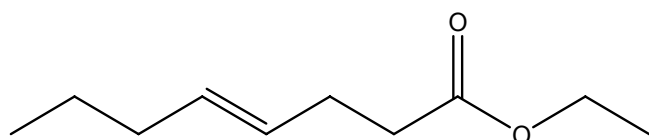


3.8. CONSTITUINTES QUÍMICOS DO FEROMÔNIO DE AGREGAÇÃO DE *C. capitata* E DO GÊNERO *Anastrepha*

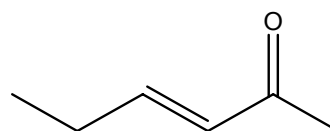
Nos extratos de aeração de machos de *C. capitata* já foram identificados mais de cinquenta compostos químicos voláteis (Cossé *et al.*, 1995), entre eles: (*E*)-6-nonen-1-ol (**5**) e acetato de (*E*)-6-nonenila (**6**) (Jacobson *et al.*, 1973); 1-pirrolina (**7**), (*E,E*)- α -farneseno (**8**), (*E*)-3-octenoato de etila (**9**), acetato de geranila (**10**), ácido (*E*)-2-hexenóico (**11**), 2-etil-3,5-dimetil pirazina (**12**), linalol (**13**) e acetato de etila (**14**) (Baker *et al.*, 1985); acetato de linalila (**15**), mirceno (**16**) e (*Z*)- β -ocimeno (**17**) (Jang *et al.*, 1989); indol (**18**) (Cossé *et al.*, 1995). Embora um grande número de compostos tenha sido isolado e identificado para essa espécie, a atividade comportamental, indicando uma função feromonal, foi demonstrada apenas para um pequeno número destes compostos e ainda não foram desenvolvidas iscas baseadas no seu feromônio de agregação (Landolt e Averill, 1999).



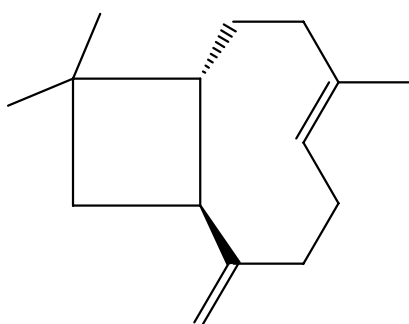
Estudos mais recentes sobre a composição química de extratos de aeração de machos de *C. capitata*, realizados pelo Grupo de Pesquisa em Infoquímicos da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), revelaram a presença de vinte compostos, entre eles: 4-octenoato de etila (**19**), 3-hexen-2-ona (**20**), 3-hexanona (**21**), 2-hexanona (**22**), 1-H-indeno (**23**), 2,6-dimetil-3,7-octadien-1-ol (**24**), (*E,Z*)-3,6-nonadien-1-ol (**25**), limoneno (**26**), α -copaeno (**27**), *trans*-cariofileno (**28**), α -*trans*-bergamoteno (**29**), α -humuleno (**30**), δ -cadineno (**31**) (Gonçalves, 2001). Além desses, foram também identificados compostos já relatados para a espécie, como: acetato de geranila (**10**), indol (**18**), linalol (**13**), (*Z*)- β -ocimeno (**17**) e (*E,E*)- α -farneseno (**8**). Do mesmo modo que nas pesquisas anteriores, não foi demonstrada a atividade feromonal dos compostos.



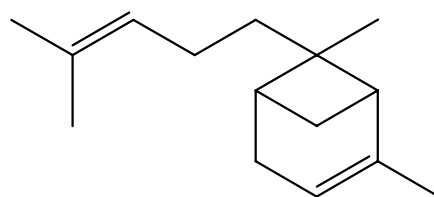
4-Octenoato de etila*
(19)



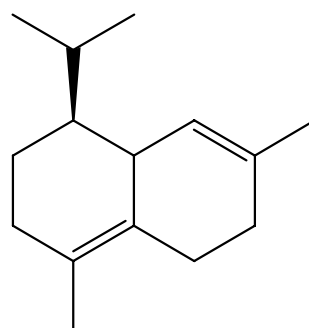
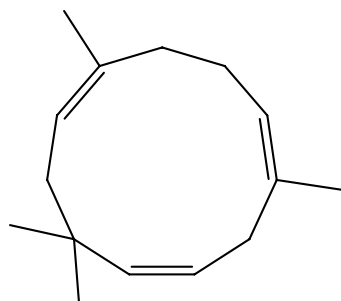
3-Hexen-2-ona*
(20)



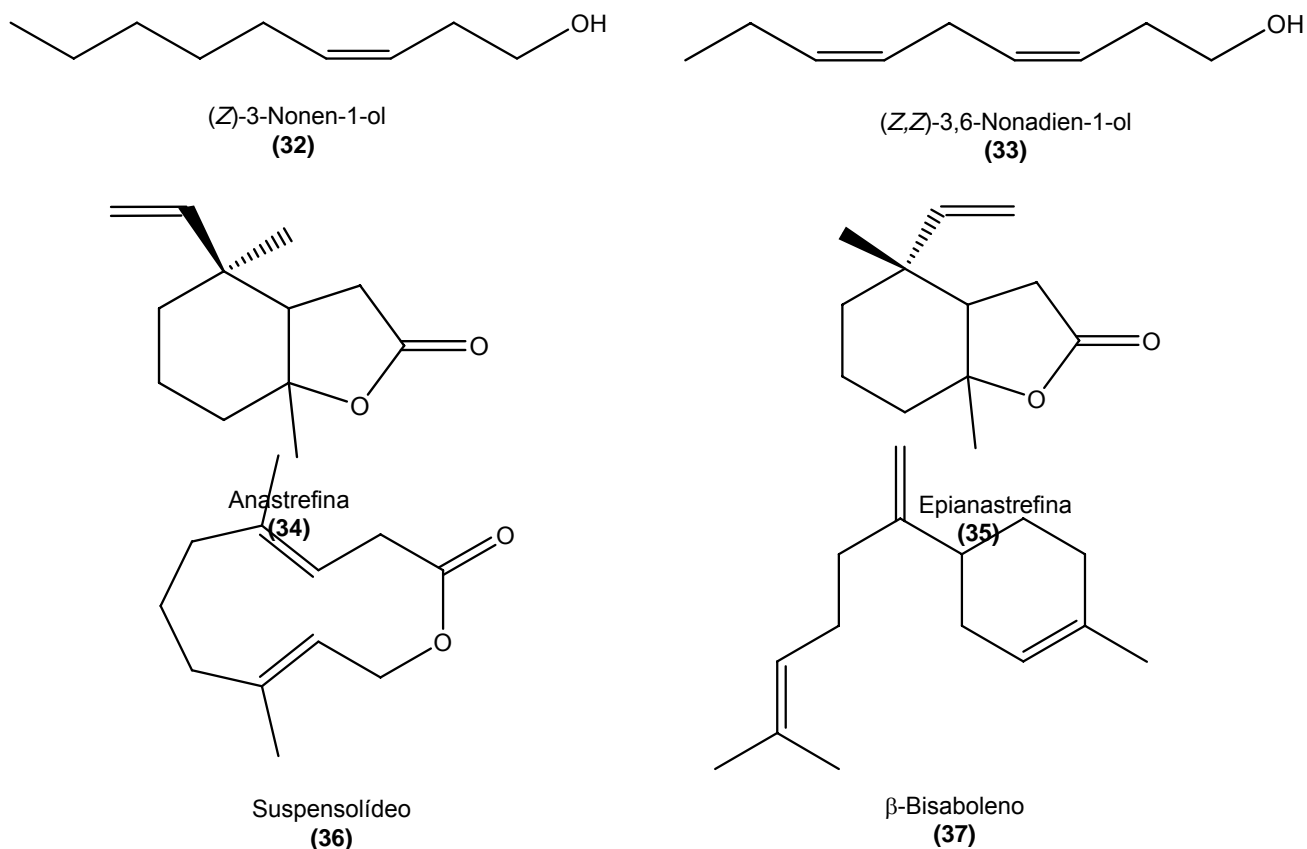
trans-Cariofileno
(28)



α -*trans*-Bergamoteno
(29)

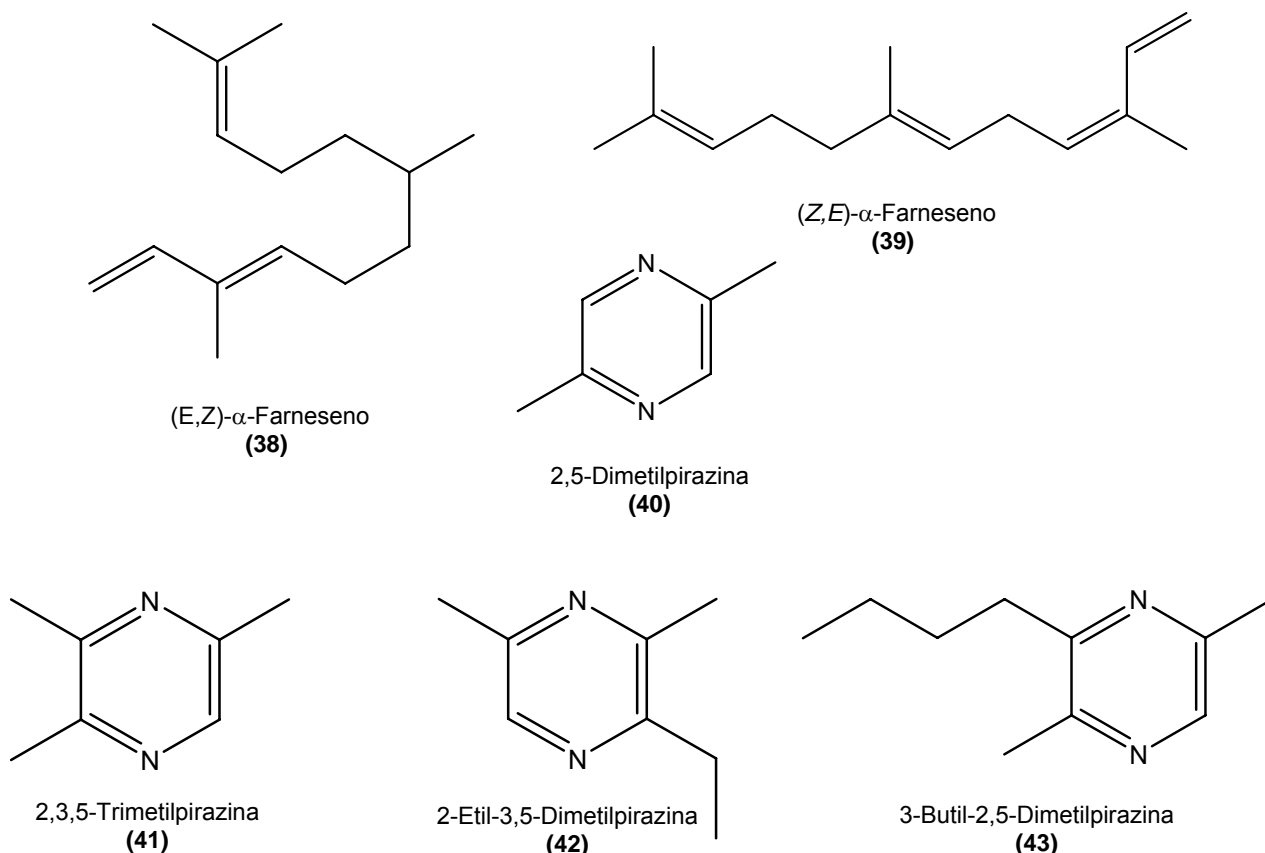


No gênero *Anastrepha* as espécies mais estudadas até o momento foram *A. suspensa* Loew (1873) e *A. ludens* Loew (1873). Foram identificados nove compostos químicos voláteis dos extratos de aeração e de glândulas salivares de machos de *A. suspensa*: (*Z*)-3-nonen-1-ol (**32**) e (*Z,Z*)-3,6-nonadienol (**33**) (Nation, 1983); anastrefina (**34**) e epianastrefina (**35**) (Battiste *et al.*, 1983); suspensolídeo (**36**) (Chuman *et al.*, 1988); (*Z*)- β -ocimeno (**17**), β -bisaboleno (**37**), (*E,E*)- α -farneseno (**8**) e α -*trans*-bergamoteno (**29**) (Nation, 1990; Rocca *et al.*, 1992). Nos extratos de abdome e de aeração de *A. ludens* foram encontrados os mesmos compostos, substituindo (*Z*)- β -ocimeno por limoneno (**26**) e apresentando os compostos similares em diferentes concentrações (Esponda-Gaxiola, 1977; Nation, 1983; Battiste *et al.*, 1983; Rocca *et al.*, 1992).



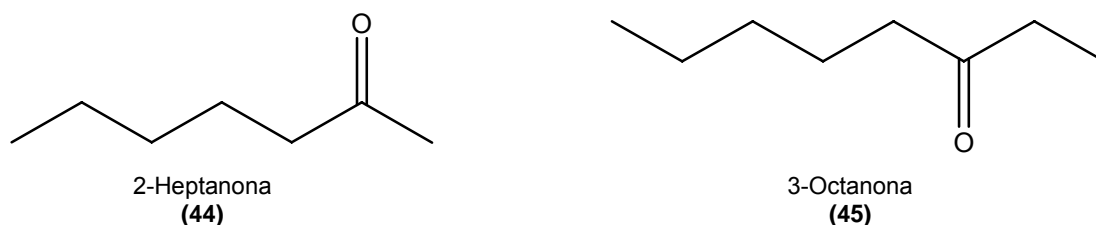
Nos extratos de aeração, de lavagem de gaiola de criação e de glândulas salivares de machos de *A. fraterculus* foram identificados onze constituintes voláteis: (*E,Z*)- α -farneseno (**38**),

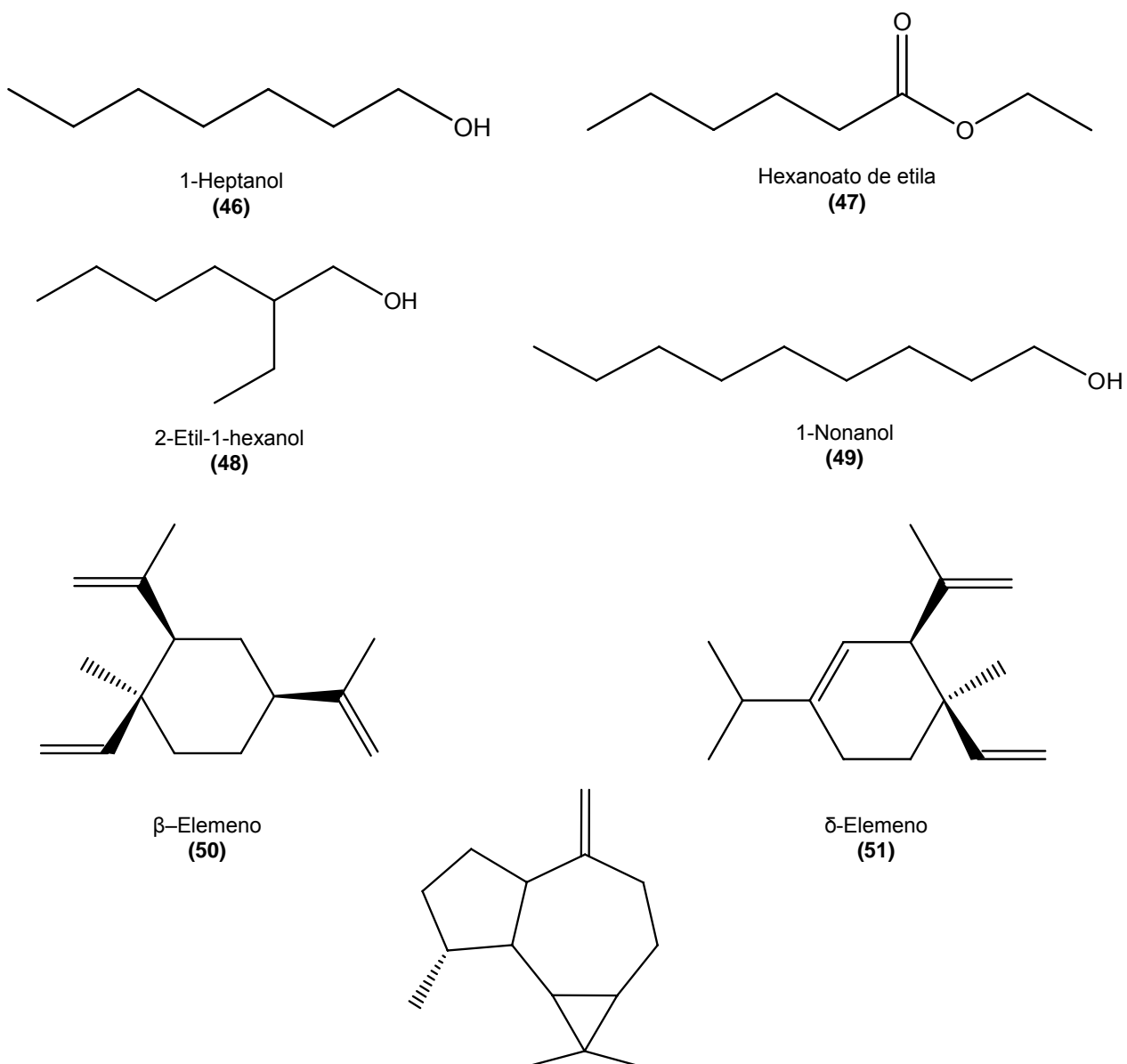
(*Z,E*)- α -farneseno (**39**), (*E,E*)-suspensolídeo (**36**), 2,5-dimetilpirazina (**40**), 2,3,5-trimetilpirazina (**41**), 3-etil-2,5-dimetilpirazina (**42**) e 3-butil-2,5-dimetilpirazina (**43**) (Lima *et al.*, 1996); (*Z*)- β -ocimeno (**17**), limoneno (**26**), anastrefina (**34**) e epianastrefina (**35**) (Lima *et al.*, 1996 e 2001).



Para a espécie *A. obliqua*, a pesquisa de infoquímicos é mais recente. Apenas três componentes químicos do feromônio de agregação foram identificados nos extratos de aeração e de glândulas salivares de machos dessa espécie: (*E,Z*)- α -farneseno (**38**), (*E,E*)- α -farneseno (Heath *et al.*, 2000) e (**8**) (*Z*)-3-nonen-1-ol (**32**) (Ibañez-López e Cruz-López, 2001).

Nesta mesma época, investigações sobre a composição química de extratos de aeração de machos dessa espécie, conduzidas pelo Grupo de Pesquisa em Infoquímicos da UFAL, permitiram a identificação de vinte e quatro compostos, entre eles: 3-hexanona (**21**), 2-hexanona (**22**), 2-heptanona (**44**), 3-octanona (**45**), 1-heptanol (**46**), hexanoato de etila (**47**), 2-etil-1-hexanol (**48**), limoneno (**26**), (*Z*)- β -ocimeno (**17**), linalol (**13**), (*E,Z*)-3,6-nonadien-1-ol (**25**), 1-nonanol (**49**), (*E*)-3-octenoato de etila (**9**), α -elemeno (**50**), β -elemeno (**51**), α -copaeno (**27**), *trans*-cariofileno (**28**), aromadendreno (**52**), α -*trans*-bergamoteno (**29**), α -humuleno (**30**), δ -cadineno (**31**), além do (*E,E*)- α -farneseno (**8**), já relatado para a espécie (Gonçalves, 2001).





Das três espécies do gênero *Anastrepha* apresentadas apenas para *A. suspensa* foram desenvolvidas iscas baseadas em Aromadendreno (52) no controle de suas populações. Entretanto, os testes de campo não foram positivos (Lanoit e Averill, 1999).

Outros estudos foram desenvolvidos na UFAL para identificação de constituintes químicos dos voláteis liberados por machos de espécies do gênero *Anastrepha* (Silva, 1999; Santos, 2003), porém, estas investigações foram realizadas com grupos de insetos onde havia mistura de espécies. Assim, a mistura de voláteis obtida não poderia ser atribuída a qualquer uma das espécies envolvidas, neste caso em particular: *A. fraterculus*, *A. sororcula* Zucchi (1979) e *A. obliqua*.

3.9. FRUTOS HOSPEDEIROS EM ESTUDO

A mangueira, *Mangifera indica* L., pertence à divisão Magnoliophyta, classe Magonoliopsida, subclasse Rosidae, ordem Sapindales, família Anacardiaceae. A espécie é originária da Índia e sudoeste da Ásia (Galan, 1993; Jirón, 1995). Seu fruto atingiu, no ano de 2000, o primeiro lugar nas exportações de frutos *in natura* do Brasil (Revista Update, dezembro/2000), sendo o mercado europeu, nesta época, o mais promissor para a manga brasileira (Pimentel *et al.*, 2000). Mais recentemente, nosso país foi considerado o sétimo maior produtor de mangas, com produção de aproximadamente um milhão de toneladas anuais, ocupando a sexta posição entre os países exportadores (Franco *et al.*, 2004). No Nordeste do país, a manga é cultivada em todos os estados, tendo-se observado, com o aumento nas exportações dos últimos anos (Leite *et al.*, 1998; Franco *et al.*, 2004), a melhoria das condições econômicas da população local. No entanto, a ocorrência de *A. obliqua* é um obstáculo para a elevação da produção dessa cultura na região e, em especial, no Estado de Alagoas (Gonçalves, 2001).

A caramboleira, *Averrhoa carambola* L., pertence à mesma divisão, classe e subclasse da mangueira, entretanto, a ordem e a família nas quais está classificada são, respectivamente, Geraniales e Oxalidaceae. A espécie tem como centro de origem o sudeste asiático (Lennox e Ragoonath, 1990; Nakasone e Paull, 1998). Seus frutos têm conquistado nos últimos anos novos apreciadores e consumidores no mercado europeu, pelo sabor e forma exótica que possuem. No Brasil, há pelo menos dez anos, a caramboleira não era considerada como uma fruteira comercial (Narain *et al.*, 1988; Donadio, 1989). A sua produção era proveniente, na sua maioria, de pomares domésticos (Donadio, 1989). Nos últimos anos, porém, segundo Araújo (2000), a cultura está em franca expansão, principalmente no Estado de São Paulo, e a quantidade comercializada, de acordo com o boletim da CEAGESP, gira em torno de 2.000 t/ano. Assim como para a cultura da manga, a incidência de moscas-das-frutas é uma limitação para o aumento da produção da caramboleira, sendo *A. obliqua* e *C. capitata* as espécies mais prejudiciais a essa cultura no Estado de Alagoas. Além disso, essas duas frutíferas foram os únicos hospedeiros nos quais uma espécie do gênero *Anastrepha*, no caso a *A. obliqua*, foi encontrada como espécie isolada nesse Estado (Gonçalves, 2001).

3.10. INFLUÊNCIA DA PLANTA HOSPEDEIRA NO COMPORTAMENTO REPRODUTIVO

Em algumas espécies de moscas-das-frutas a produção e a liberação de feromônio de agregação podem ser afetadas pela presença de compostos químicos voláteis da planta hospedeira. Os mecanismos de interação inseto fitófago / planta hospedeira surgiram com a co-evolução das espécies e resultaram em estratégias que os insetos utilizam para otimizar a

reprodução na sua espécie (Landolt e Phillips, 1997). Entre as estratégias utilizadas pelos tefritídeos estão:

- Aquisição de compostos da planta hospedeira e uso como feromônio ou como precursor – como ocorre com a espécie *Bactrocera dorsalis* Hendel (1928), na qual os machos seqüestram fenil propanóis das flores de que se alimentam e os convertem em (*E*)-coniferol, seu feromônio (Nishida *et al.*, 1997);
- Produção ou liberação de feromônio em resposta a determinados compostos da planta hospedeira – a exemplo de *C. capitata* que aumenta a sua atividade de chamamento em presença do α -copaeno das folhas de um de seus principais hospedeiros, as plantas cítricas (Nishida *et al.*, 2000);
- Uso de compostos da planta hospedeira para aumentar a resposta ao feromônio de machos – como ocorre com a espécie *Toxotrypana curvicauda* Gerstaecker (1860), para a qual a combinação do feromônio com o odor do fruto hospedeiro, o mamão verde, foi mais atrativa às fêmeas que o feromônio ou o odor do fruto sozinhos (Landolt *et al.*, 1992b).

Como o sistema feromonal de moscas-das-frutas funciona de forma dependente de outros aspectos olfativos do ambiente, tais como os voláteis de frutos e de folhas de plantas hospedeiras (Landolt e Averill, 1999; Lima, 2001), é necessária a compreensão da influência destes voláteis no comportamento reprodutivo da espécie de interesse agrícola.

4

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Química Entomológica do Departamento de Química da Universidade Federal de Alagoas – UFAL, no período de janeiro de 2002 a agosto de 2004.

Os estudos foram realizados com indivíduos selvagens de moscas-das-frutas das espécies *Anastrepha obliqua* Maquart, 1835 (Diptera: Tephritidae) e *Ceratitis capitata* Wiedemann, 1824 (Diptera: Tephritidae). Os insetos de *A. obliqua* foram obtidos de frutos infestados de carambola (*Averrhoa carambola* L. - Oxalidaceae) de variedades não identificadas, e de manga (*Mangifera indica* L. - Anacardiaceae) da variedade Rosa, e os de *C. capitata*, foram obtidos apenas de frutos infestados de carambola.

4.1. PROCEDIMENTOS GERAIS

4.1.1. COLETA DE MATERIAL BIOLÓGICO

Os frutos de carambola foram coletados em dois pomares domésticos localizados no Estado de Alagoas: um deles, no Viveiro Rio Verde, situado em Maceió (09°39'57"S/35°44'07"W; 16 m), e o outro, na Usina Utinga Leão, situada no município de Rio Largo (09°28'42"S/35°51'12"W; 39 m). No pomar desta mesma usina, foram coletados os frutos de manga.

4.1.1.1. INSETOS

Para obtenção de insetos, foram coletados frutos com visíveis perfurações e/ou em estado avançado de maturação (**Figura 4.1A e B**). Mediante a abertura destes frutos, foram obtidas as larvas dos insetos (**Figura 4.1C**) das espécies em estudo. Estas larvas foram removidas da polpa dos frutos com pinças e colocadas em caixas de isopor (44cm x 35cm x 25cm), com aberturas cobertas com tela para ventilação, e contendo vermiculita como substrato de empupação.

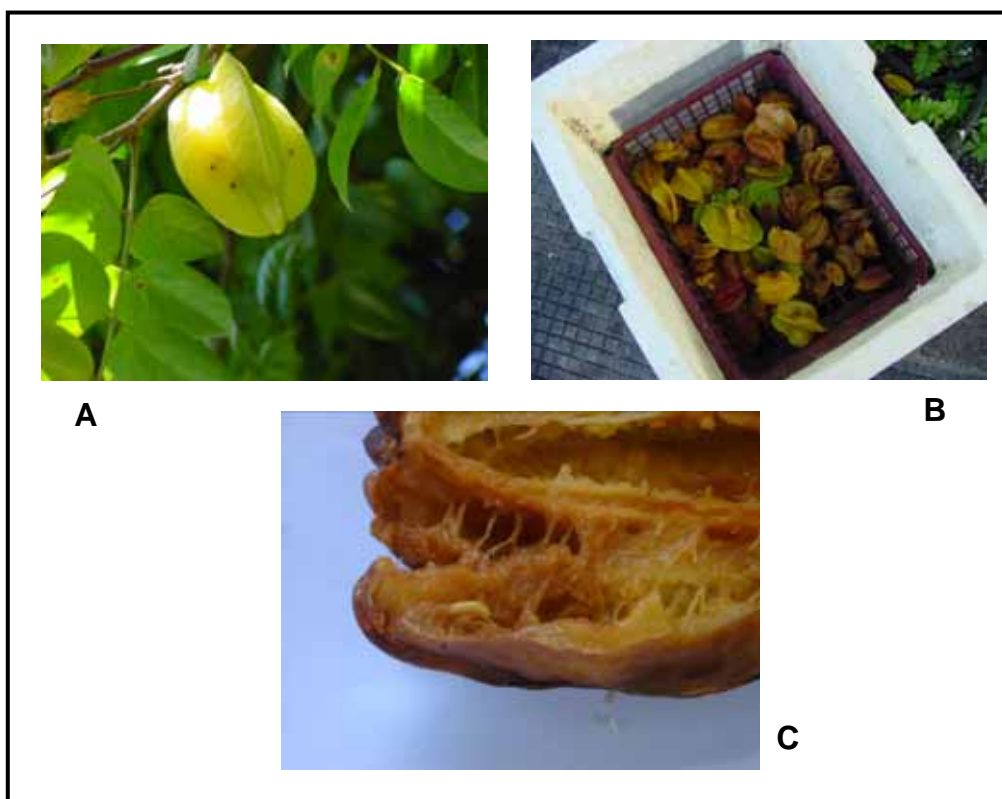


Figura 4.1. A) Fruto de carambola com pontuações escuras (na periferia das perfurações) características de infestação por moscas-das-frutas (Foto de G. B. Gonçalves). B) Coleta de frutos infestados (Foto de G. B. Gonçalves). C) Fruto de carambola coletado com larva de *A. obliqua* (Foto de C. E. Silva).

4.1.1.2. FRUTOS

Os frutos não infestados foram coletados com o objetivo de serem utilizados em experimentos comportamentais e em extrações por aeração, portanto, não poderiam ter seu odor mascarado pela presença de contaminantes, por isso, a coleta foi realizada em locais onde não se fazia uso de controle químico, e com a utilização de luvas e embalagens inodoras. Durante a coleta, os frutos eram classificados por estágio de maturação e acondicionados separadamente. A classificação foi realizada de acordo com as características externas dos frutos, principalmente pela coloração. Carambolas de coloração verde intenso em toda a extensão do fruto foram classificadas como imaturas ou verdes. Quando ao verde se misturavam manchas amareladas, as carambolas foram consideradas semi-maduras ou em estágio intermediário de maturação. Foram classificadas como completamente maduras as carambolas que apresentavam coloração amarela por todo o fruto.

4.1.2. MANUTENÇÃO DOS INSETOS EM LABORATÓRIO

Os insetos ao emergirem, o que ocorreu de 8 a 10 dias após a abertura dos frutos para *C. capitata* e em torno de 15 dias para *A. obliqua*, foram separados por sexo e colocados em gaiolas de vidro (30cm x 20,5cm x 16cm) (**Figura 4.2**), e mantidos com água e uma dieta artificial composta de uma mistura de açúcar demerara e levedura de cerveja na proporção de 2:1 (Dieta sugerida pela Dra. Jennifer Knapp – Oxford University - em comunicação pessoal). A temperatura do ambiente de criação dos insetos esteve entre 24 e 28°C, com uma umidade relativa de 60±10%.



Figura 4.2. Gaiolas de criação dos insetos. 1 - Aquário de vidro com abertura voltada para trás; 2 – Meia calça utilizada para vedar a abertura do aquário; 3 – Suporte plástico; 4 – Bacia plástica contendo detergente em solução para evitar o ataque de formigas; 5 – Copo plástico com filamento de esponja inserido na tampa para fornecimento de água às moscas; 6 – Copo plástico pequeno com a mistura de levedura de cerveja e açúcar demerara para a alimentação das moscas (Foto de G. B. Gonçalves).

4.1.3. IDENTIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES

Para identificação das espécies do gênero *Anastrepha* as fêmeas mortas, provenientes de larvas obtidas nos frutos de carambola e manga dos citados pontos de coleta, foram acondicionadas em recipientes de vidro com uma solução de álcool a 70%, devidamente etiquetadas e periodicamente enviadas ao taxonomista Dr. Roberto Antônio Zucchi, da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – USP de Piracicaba-SP. Com base no exame morfométrico da extremidade do ovipositor, os espécimes enviados foram identificados como *A. obliqua* e a sua ocorrência isolada de outras espécies do gênero nos locais amostrados foi atestada. Uma vez que *C. capitata* é a única espécie do gênero com ocorrência em nosso país, os seus espécimes foram identificados apenas pela observação da sua morfologia externa, através

de comparações com os primeiros insetos da espécie encontrados em nossa pesquisa, também identificados pelo referido taxonomista.

4.2. EXPERIMENTOS

4.2.1. DETERMINAÇÃO DA IDADE E DO PADRÃO DIÁRIO DE COMPORTAMENTO REPRODUTIVO

Com a finalidade de determinar a idade e o horário de pico para os comportamentos de corte, cópula e oviposição de *A. obliqua* e *C. capitata* em condições de iluminação natural foram conduzidas observações com machos e fêmeas desta espécie em casa de vegetação.

A opção pelo uso de iluminação natural no experimento deveu-se ao conhecimento, a partir da literatura (Epsky e Heath, 1992), de que as diferenças de luminosidade têm grande influência no comportamento reprodutivo de tefritídeos, diferenças estas que não são observadas sob iluminação artificial. Do mesmo modo, baseado na informação da literatura (Weens Jr., 1981; Liedo *et al.*, 1992) de que a espécie *C. capitata* tem seu amadurecimento sexual anterior ao de *A. obliqua* é que foram determinadas as idades para início das observações em cada espécie.

O experimento foi realizado com três grupos de dez casais de cada espécie. Cada grupo foi mantido em uma gaiola de criação (30cm x 20,5cm x 16cm) com água e alimentação e um fruto semi-maduro de *A. carambola*. Os grupos foram observados durante nove dias alternados (do 3º ao 19º dia de vida adulta para *C. capitata* e do 5º ao 21º dia para *A. obliqua*) a cada hora do período fotofásico (5h às 18h), os comportamentos de corte, cópula e oviposição foram quantificados.

A atividade de chamamento foi quantificada pelo número de machos exibindo vibração de asas, rotação do corpo, inflação das bolsas abdominais e eversão da membrana anal. A atividade de cópula foi quantificada pelo número de casais com as extremidades abdominais unidas (genitálias acopladas) e a atividade de oviposição pelo número de fêmeas inserindo seu ovipositor no fruto. Essas atividades foram registradas por um período de 10 minutos com intervalos de 50 minutos. A temperatura durante o experimento variou entre 22º e 30º C, com uma umidade relativa de 70±16%.

A cada dia de observação os insetos e os frutos foram substituídos. As gaiolas de criação com os indivíduos em estudo foram transferidas para o ambiente experimental às 18:00 horas do dia anterior ao início do experimento para climatização dos insetos.

Para a análise estatística, o efeito da idade e do horário do dia sobre cada um dos comportamentos observados (chamamento, cópula e oviposição) foi considerado como um ensaio à parte, totalizando seis ensaios para cada espécie (efeito da idade e do horário do dia multiplicados pelo número de comportamentos observados). Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado com nove tratamentos para efeito da idade (número de dias de

observação) e 13 tratamentos para efeito da hora do dia (número de horas do dia em que os insetos foram observados), havendo três repetições (três grupos de insetos) em ambos os casos. Visando homogeneizar as variâncias para realizar a ANOVA e o teste de médias, os dados foram transformados por $\log x + 1$. As médias obtidas foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Para uma apresentação mais compreensível dos resultados, foram expostas as médias dos dados não transformados.

4.2.2. PREFERENCIA DO ESTÁGIO DE MATURAÇÃO DO FRUTO HOSPEDEIRO PARA OVIPOSIÇÃO

Com o intuito de determinar qual o estágio de maturação do fruto hospedeiro preferido por fêmeas de *C. capitata* e *A. obliqua* para oviposição foram conduzidos bioensaios de laboratório sob condições de luz natural.

A idade dos insetos e o período do dia para realização dos testes foram determinados com base nos dias e horários de pico para a atividade de oviposição obtidos no item 4.2.1. Da mesma forma, o uso de luz natural deveu-se ao fato de tentar proporcionar aos insetos condições semelhantes às do referido experimento.

Os testes foram realizados em uma arena de vidro (50cm x 50cm x 100cm) com uma das laterais elevável por um sistema de calhas e um orifício no teto para inserção dos insetos (**Figura 4.3**). Com a lateral da arena aberta foram fixados de forma aleatória e em diferentes alturas dois frutos de carambola em cada um dos três estágios de maturação: verde, intermediário e maduro. Os frutos foram fixados junto com os ramos da planta frutífera aos quais estavam ligados pelo pedúnculo para que o ambiente fosse o mais próximo possível do natural. A seguir, a porta lateral da arena foi fechada e vinte casais de uma das espécies em estudo, com idade entre 11 e 13 dias de vida adulta para *C. capitata* e entre 17 e 21 dias para *A. obliqua*, foram liberados em seu interior, e das 9h às 11h para *A. obliqua* e das 14h às 16h para *C. capitata*, foram observados e quantificados todos os pousos das fêmeas nos frutos seguidos de punctura e arraste do ovipositor. Estas observações foram realizadas com cinco grupos de casais para cada espécie. A cada repetição os insetos e os frutos foram trocados. As temperaturas medidas no interior da arena durante o experimento variaram de 25° a 34° C, com umidade relativa de 70±10%.

Todos os insetos utilizados nos bioensaios foram transferidos para o ambiente experimental no final da tarde do dia anterior aos testes para climatização. Além disso, os casais foram liberados na arena uma hora antes do início das observações para que houvesse tempo para ocorrência de cópulas.

A opção pelo uso de casais para os testes em lugar de fêmeas acasaladas é justificada pelo receio que a separação das fêmeas imediatamente após as cópulas pudesse nos levar a seleção de um grande número de fêmeas cuja espermateca não estivesse completamente

preenchida e, portanto, sem condições para oviposição. Além disso, esta seleção poderia causar mais estresse às fêmeas, interferindo nos resultados e seria de execução mais difícil.

O experimento foi delineado de forma inteiramente casualizada, com três tratamentos (fruto verde, fruto intermediário e fruto maduro) e cinco repetições (número de grupos de insetos). As médias obtidas foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.



Figura 4.3. Arena de vidro utilizada para bioensaios de preferência por estágio de maturação do fruto hospedeiro para oviposição (Foto de G. B. Gonçalves).

4.2.3. EXTRAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DOS CONSTITUINTES VOLÁTEIS DO FRUTO HOSPEDEIRO NO ESTÁGIO DE MATURAÇÃO PREFERENCIAL PARA OVIPOSIÇÃO

Com o objetivo de conhecer as substâncias voláteis que compõem o odor do fruto hospedeiro de *A. obliqua* e *C. capitata*, a carambola, no estágio de maturação preferido pelas fêmeas para oviposição, e que podem ser atrativas a estas, tais substâncias foram extraídas e identificadas.

4.2.3.1. EXTRAÇÃO DOS CONSTITUINTES VOLÁTEIS DO FRUTO HOSPEDEIRO

Os compostos voláteis dos frutos de carambola foram extraídos por aeração. O equipamento de aeração utilizado consistiu em um dessecador de vidro modificado com 20cm de diâmetro e 18cm de altura (**Figura 4.4**), ao qual foram adaptados um filtro de carvão ativado, para purificação do ar inserido no sistema, e um tubo coletor de voláteis utilizando 100 mg também de carvão ativo como adsorvente. Para produzir o fluxo de ar foi utilizada uma trompa d'água conectada ao tubo coletor de voláteis. A aeração foi processada por um período de 48 horas e a cada extração, foram utilizadas amostras com cerca de 250 g dos frutos, em um dos estágios de maturação determinados pelos bioensaios do item 4.2.2.

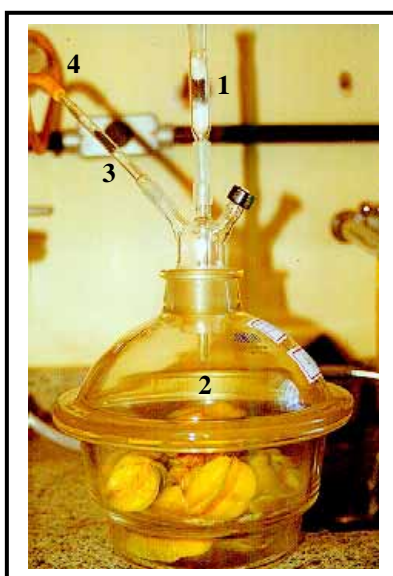


Figura 4.4. Sistema para aeração de frutos. 1 – Filtro de carvão ativo; 2 – Câmara de aeração; 3 – Tubo coletor de voláteis contendo carvão ativo; e 4 – Ducto para a sucção de ar acoplado a uma trompa d'água (Foto de E.L. Silva).

Os constituintes voláteis adsorvidos no carvão ativo foram dessorvidos pela passagem de aproximadamente 3 mL de hexano (C_6H_{14}) de grau HPLC, para obtenção dos extratos. Estes foram acondicionados em ampolas de 2 mL (em triplicata com cerca de 1 mL em cada ampola), seladas em chama, e conservados em congelador. Para as duas espécies de insetos foram preparados oito extratos dos frutos no estágio de maturação preferido pelas fêmeas para oviposição.

4.2.3.2. ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DOS CONSTITUINTES VOLÁTEIS DOS EXTRATOS

Para análise dos extratos, estes foram concentrados sob um suave fluxo de nitrogênio (N₂) até o volume final de aproximadamente 150 µL. Os extratos foram analisados empregando o cromatógrafo gasoso Shimadzu Corporation mod. 17A acoplado a um detector seletivo de massas QP5050A. Os componentes químicos presentes nos extratos foram separados em coluna capilar com fase estacionária apolar (polidimetilsiloxano), com divisão da amostra (modo “split”), numa razão de 30:1.

As zonas de aquecimento do cromatógrafo foram programadas para operar nas seguintes temperaturas: injetor - 200°C, forno - de 30° a 250°C (com velocidade de aquecimento de 8°C/min até atingir a temperatura final) e detector - 270°C. O gás de arraste utilizado foi o hélio (1 mL/min) e a energia de ionização foi de 70 eV.

A identificação dos constituintes químicos foi feita por comparação dos tempos de retenção e espectros de massas obtidos com os da biblioteca do instrumento (Wiley – 275 database) ou com os de padrões sintéticos.

4.2.4. EXTRAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DOS CONSTITUINTES VOLÁTEIS DE SECREÇÕES DAS GLÂNDULAS SALIVARES E DOS LIBERADOS POR MACHOS

Com o objetivo de investigar se as glândulas salivares poderiam ser o principal sítio de armazenamento (e talvez de síntese) dos compostos voláteis liberados pelos machos de *A. obliqua* e *C. capitata* em chamamento, as mesmas foram removidas dos insetos e os compostos voláteis presentes nestas glândulas foram extraídos e identificados. A composição obtida foi comparada com a da mistura de constituintes voláteis liberada pelos machos das respectivas espécies.

O número de insetos utilizados por extrato de glândulas salivares foi determinado em experimento preliminar como a quantidade mínima de glândulas necessárias para obter uma resposta representativa no CG/EM.

A composição da mistura de constituintes voláteis liberada pelos machos usada para comparação com aquela encontrada nas secreções das glândulas salivares foi obtida pela extração por aeração dos insetos, do mesmo modo que para extração das glândulas, no dia de maior ocorrência de chamamentos e no horário de pico desta atividade para cada espécie descritos no item 4.2.1.

4.2.4.1. EXTRAÇÃO DOS CONSTITUINTES VOLÁTEIS DAS GLÂNDULAS SALIVARES

As glândulas salivares de 10 machos selvagens em chamamento (com idade de 11 dias para *C. capitata* e 15 dias para *A. obliqua* e entre 6h e 9h para ambas as espécies) foram removidas integralmente, sob soro fisiológico, utilizando-se um microscópio estereoscópico e pinças entomológicas (**Figura 4.5A**). Para tanto, os insetos foram dissecados através de um corte longitudinal na face frontal do tórax e do abdome destes. As glândulas removidas (**Figura 4.5B**) foram posteriormente transferidas para ampolas de 2mL contendo 1 mL de hexano para maceração e obtenção dos extratos. As ampolas nas quais os extratos foram acondicionados foram seladas em chama e conservadas em congelador. Foram preparados oito extratos de cada espécie.

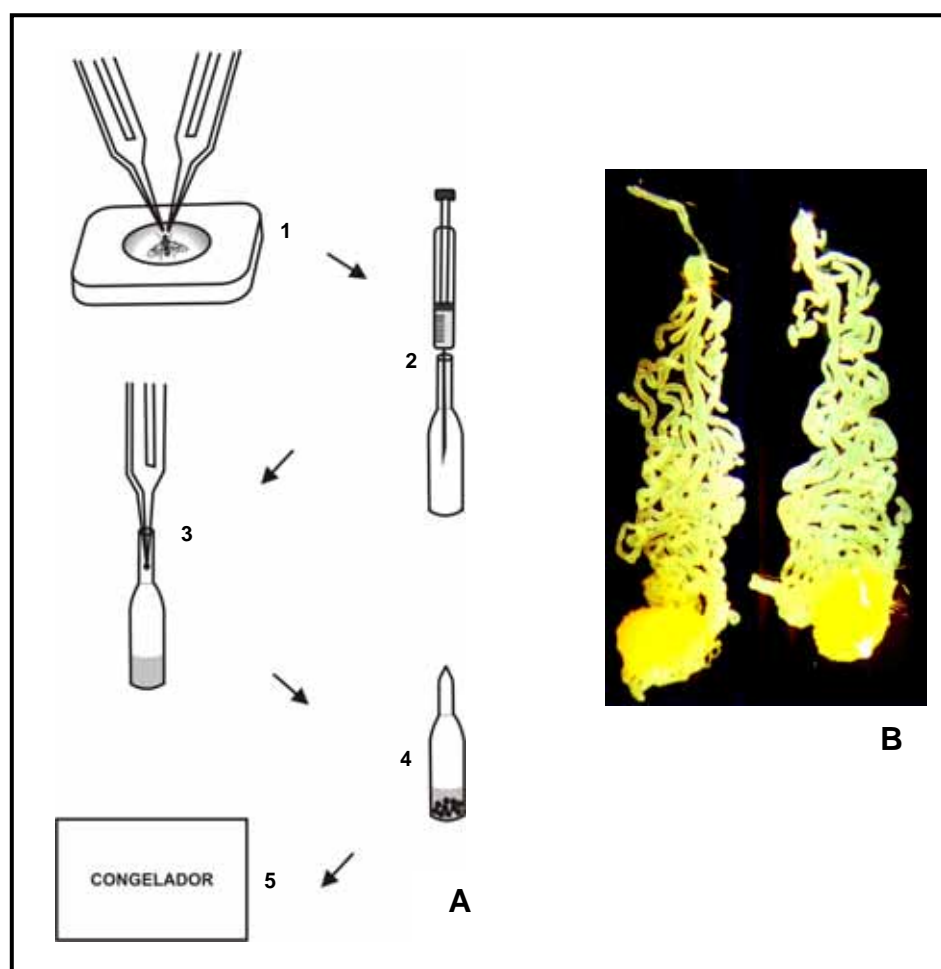


Figura 4.5. A) Esquema de extração de glândulas salivares de *A. obliqua* e *C. capitata*. 1- Dissecção do inseto para retirada do par de glândulas; 2- Preenchimento da ampola com 1 mL de hexano; 3- Transferência do par de glândulas removido para ampola; 4- Ampola contendo os dez pares de glândulas e selada em chama, 5- Conservação das amostras em congelador (Cortesia de M. A. M. Gonçalves). B) Par de glândulas salivares removido de macho de *A. obliqua* em chamamento (Foto de C. E. Silva).

4.2.4.2. EXTRAÇÃO DOS CONSTITUINTES VOLÁTEIS DE MACHOS EM CHAMAMENTO

Grupos de 20 machos selvagens adultos de *C. capitata* (11 dias de idade) e *A. obliqua* (15 dias de idade) foram submetidos separadamente à extração por aeração por um período de três horas (entre 6h e 9h para ambas as espécies), fornecendo aos insetos água e alimento. Foram realizadas oito repetições para cada espécie.

A cada repetição os grupos de insetos foram substituídos. Como controle foi realizada uma aeração do alimento e da água para eliminar da composição investigada os constituintes voláteis advindos tanto da mistura alimentar quanto dos recipientes plásticos nos quais alimento e água eram oferecidos aos insetos.

O equipamento de aeração utilizado (**Figura 4.6**) foi o mesmo do item 4.2.3.1, modificando apenas o adsorvente, que neste caso foi o Tenax® (100 mg). O solvente utilizado e a forma de armazenamento dos extratos também foram os mesmos do item 4.2.3.1.

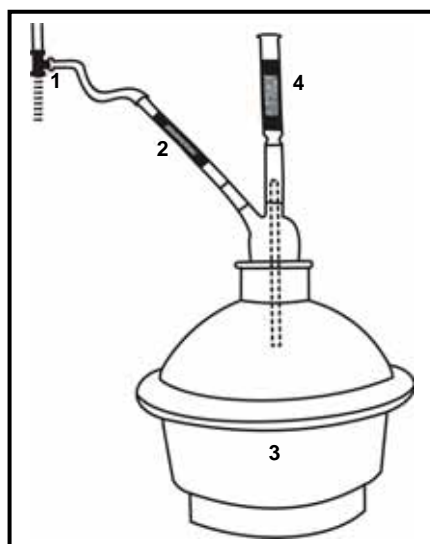


Figura 4.6. Diagrama do sistema para coleta dos compostos voláteis liberados por machos adultos de *A. obliqua* e *C. capitata*. 1- Trompa d'água; 2- Tubo coletor de voláteis contendo adsorvente (Tenax®); 3- Câmara de aeração; 4- Filtro contendo adsorvente (carvão ativo) (Cortesia de M. A. M. Gonçalves).

4.2.4.3. ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DOS EXTRATOS

Idem item 4.2.3.2. exceto pelo modo de injeção dos extratos, que foi sem divisão da amostra (modo "splitless"). A escolha desse modo de injeção deveu-se ao fato dos constituintes

químicos liberados por insetos estarem presentes nos extratos em menor concentração que aqueles provenientes de frutos.

As médias percentuais dos compostos identificados nos extratos de glândulas salivares foram comparadas com as daqueles de extratos de aeração utilizando o teste *t*, ao nível de 5% de probabilidade.

4.2.5. RESPOSTA DE FÊMEAS VIRGENS AOS EXTRATOS DE AERAÇÃO E DE GLÂNDULAS SALIVARES DE MACHOS EM CHAMAMENTO

Com a finalidade de verificar se o nível de atratividade a fêmeas virgens sexualmente maduras dos extratos de glândulas salivares se aproximaria ao dos extratos de aeração, reforçando a hipótese de que estas glândulas poderiam ser o principal sítio de armazenamento (e talvez de síntese) dos compostos voláteis liberados pelos machos de *A. obliqua* em chamamento, foram conduzidos bioensaios de laboratório sob condições de luz natural com fêmeas desta espécie.

A escolha do uso de luz natural no bioensaio é justificada pelos motivos já expostos no item 4.2.1. A idade dos insetos e o período do dia para realização dos testes foram determinados com base nos dias e horários de pico para a atividade de cópula (15º dia entre 7h e 10h), obtidos também no item 4.2.1.

Os testes foram realizados utilizando uma arena em acrílico (25cm x 25cm x 7cm) com piso removível (**Figura 4.7**). O piso da arena foi forrado com papel toalha, e nas suas extremidades diametralmente opostas foram colocados dois discos de papel de filtro (1,2 cm de diâmetro), fechando o equipamento em seguida. Na parede superior da arena foram feitos cinco orifícios, um ao centro, para introdução dos insetos, vedado com etiqueta, e os demais distribuídos em cada um dos seus extremos, para introdução da agulha de uma microseringa, utilizada para injetar, através da tela fina que cobria os orifícios, as amostras testadas.

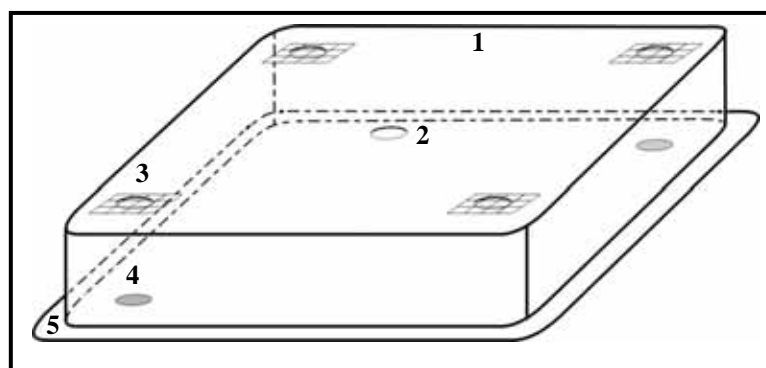


Figura 4.7. Diagrama da arena de acrílico utilizada nos testes de atratividade. 1 – Tampa da arena; 2 –Orifício para a introdução de insetos (vedado durante os testes); 3 –Orifício para a introdução (com uso de microseringa) de extratos a serem testados e controle; 4 – Discos de papel de filtro impregnado com extrato testado ou controle; 5 – Piso removível (Cortesia de M. A. M. Gonçalves).

Previamente à realização dos bioensaios, os extratos, com volume total de 1 mL, foram concentrados sob um suave fluxo de nitrogênio até o volume final de aproximadamente 300 μ L, o que resultou numa concentração de um macho-equivalente para cada teste. Assim, com um grupo de 10 fêmeas de uma das espécies em estudo já transferido para o interior da arena, um dos discos de papel foi impregnado com 30 μ L de um dos tipos de extrato testados, ao mesmo tempo em que, o outro recebia o mesmo volume de hexano, para atuar como controle. Durante 10 minutos, todas as aproximações aos discos de papel, bem como, às regiões da arena próximas a estes, e as seqüências de comportamento manifestadas pelos insetos, foram observadas e registradas. Baseado no comportamento de cópula observado no item 4.2.1 foram atribuídos pesos a cada etapa de comportamento manifestada pelos insetos. Assim, a simples aproximação da fêmea a fonte de odor nas regiões ativas (região que parte da extremidade da arena onde se localiza o disco de papel em direção ao centro desta com um raio de 5 cm) do extrato ou do controle recebeu nota 1; o toque na fonte de odor com as patas recebeu nota 2 e para o toque na fonte de odor com a probóscide foi atribuído a nota 3. Estes índices foram multiplicados aos números de fêmeas realizando as citadas etapas para se chegar a um valor para a atratividade de cada odor avaliado.

Cada tipo de extrato foi testado diante de cinco grupos de fêmeas. Entre cada uma das repetições, a arena foi limpa com água destilada, o papel toalha e os papéis de filtro foram trocados por novos, e os insetos foram substituídos por um novo grupo. Todas as fêmeas utilizadas nos bioensaios foram transferidas para o ambiente experimental no final da tarde do dia anterior aos testes para climatização.

Embora os ensaios tenham sido conduzidos utilizando apenas um dos dois tipos de extratos testados e o solvente, visando evitar que os insetos fossem submetidos a um excesso de estímulos que alterasse a sua resposta, para a análise estatística, cada um dos odores testados (extrato de glândulas salivares, extrato de aeração e solvente) foi considerado como um tratamento, com delineamento inteiramente casualizado e cinco repetições. As médias obtidas foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

5

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. IDADE E PADRÃO DIÁRIO DE COMPORTAMENTO REPRODUTIVO

5.1.1. ESPÉCIE *C. capitata*

5.1.1.1. IDADE

A atividade de chamamento dos machos de *C. capitata* foi observada inicialmente no 5º dia de vida adulta e permaneceu até o final do experimento (19º dia) com percentuais representativos de ocorrência, como pode ser observado na **tabela 5.1** e na **figura 5.1**. Do 5º ao 7º dia a porcentagem de machos em chamamento cresceu gradativamente (de 2,55 a 8,49 %), apesar do percentual de ocorrência ter sido tão baixo (em média 5,5 %) que não diferiu estatisticamente do 3º dia, em que este comportamento não foi observado. No 9º dia a porcentagem de ocorrência foi significativamente maior que nos dias anteriores (17,68 %). Entretanto, o maior percentual de machos em chamamento foi observado entre o 11º e o 15º dia (em média 35,8 % dos machos em chamamento), sendo o 11º dia o de maior ocorrência de chamamentos, embora a média deste dia (37,44 %) não tenha diferido estatisticamente das demais do período citado. Nos dias de observação seguintes (17º e 19º) houve uma queda na porcentagem de ocorrência desta atividade (em média 24,1 %), não havendo diferença significativa, tanto entre as médias dos referidos dias quanto entre estas e a do 9º dia. Os dados obtidos estão de acordo com os demonstrados por Papadopoulos *et al.* (1998), os quais observaram que o chamamento de machos selvagens de *C. capitata* em laboratório teve início no 4º dia de vida adulta, aumentando gradualmente as taxas de ocorrência até atingir um máximo no 12º dia. Resultados semelhantes foram encontrados por Nation (1990) com machos selvagens da espécie *A. suspensa*. O referido autor observou que a liberação de voláteis iniciou no 5º dia pós-emergência e atingiu o máximo entre o 12º e o 14º dia de vida adulta. A partir deste período as taxas de liberação de voláteis foram diminuindo gradualmente.

As cópulas na espécie *C. capitata* foram observadas inicialmente no 7º dia de vida adulta e prosseguiram até o final do experimento. O padrão de manifestação desta atividade assemelhou-se bastante ao de chamamento, diferindo quanto ao número médio de indivíduos manifestando o comportamento, muito menor para a atividade de cópula, como pode ser visto na **tabela 5.1** e na **figura 5.1**. Do 7º ao 9º dia observou-se uma elevação do número de ocorrências de oviposição

(de 1,00 a 5,67). Do 9º ao 15º dia foram observadas médias de ocorrência de cópulas significativamente superiores e, de modo análogo ao comportamento de chamamento, a maior média de cópulas foi obtida no 11º dia (6,00). Assim como, do 11º dia em diante o número médio de manifestações desta atividade foi progressivamente reduzido (de 4,67 a 1,00). A idade para início da atividade de cópula, obtida neste experimento, corrobora a afirmativa de Weens Jr. (1981), de que as cópulas de *C. capitata* só teriam início entre o 6º e o 8º dia de vida adulta.

TABELA 5.1. Padrão de comportamento reprodutivo de *C. capitata* segundo a idade em casa de vegetação. Resultados em número médio (n=3) de indivíduos do grupo manifestando as atividades. Médias (\pm EP) da mesma atividade seguidas pela mesma letra não diferiram significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

DIA DE VIDA ADULTA	ATIVIDADES		
	CHAMAMENTO (MACHOS)	CÓPULA (MACHOS E FÊMEAS)	OVIPOSIÇÃO (FÊMEAS)
3º	0 ^c	0 ^c	0 ^c
5º	3,33 (\pm 3,33) ^c	0 ^c	0 ^c
7º	11,00 (\pm 9,54) ^c	1,00 (\pm 1,00) ^{bc}	0,33 (\pm 0,33) ^c
9º	23,00 (\pm 9,07) ^b	5,67 (\pm 2,67) ^{ab}	4,67 (\pm 2,33) ^{bc}
11º	48,67 (\pm 9,56) ^a	6,00 (\pm 1,00) ^a	22,00 (\pm 2,52) ^a
13º	45,67 (\pm 10,40) ^a	4,67 (\pm 3,71) ^{ab}	18,00 (\pm 1,15) ^a
15º	45,33 (\pm 9,53) ^a	2,33 (\pm 1,20) ^{abc}	10,00 (\pm 2,64) ^b
17º	32,33 (\pm 8,68) ^b	1,67 (\pm 1,67) ^{bc}	5,00 (\pm 1,15) ^{bc}
19º	30,33 (\pm 7,62) ^b	1,00 (\pm 1,00) ^{bc}	3,00 (\pm 2,08) ^c

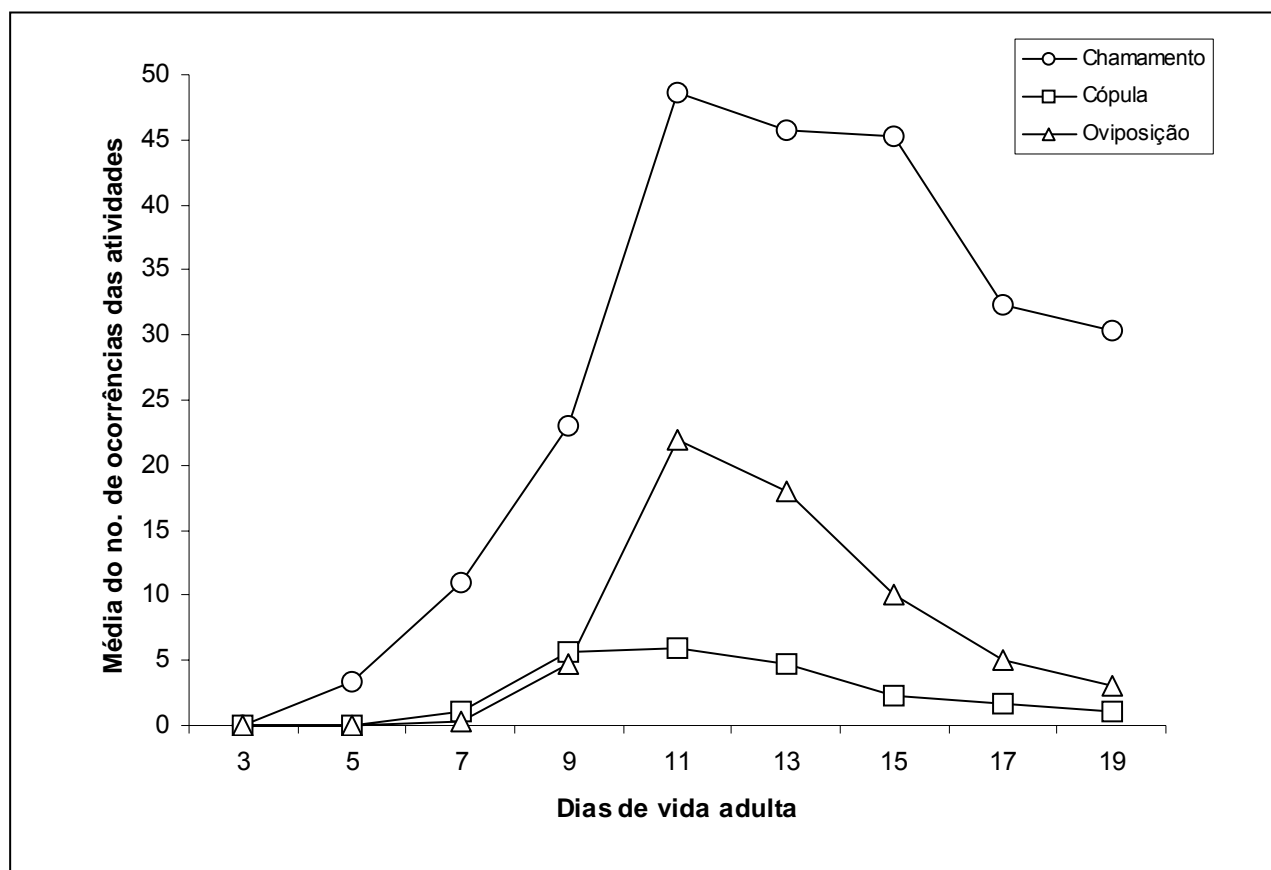


Figura 5.1. Padrão de comportamento reprodutivo de *C. capitata* segundo a idade em casa de vegetação.

A atividade de oviposição foi observada a partir do 7º dia de vida adulta e manteve-se até o final do experimento, da mesma forma que o comportamento de cópula. Igualmente, o padrão de manifestação assemelhou-se ao de chamamento. Porém, os percentuais de ocorrência foram superiores aos de cópula, o que pode ser observado na **tabela 5.1** e na **figura 5.1**. Do 7º ao 9º dia observou-se uma elevação do número médio de ocorrências de oviposição (de 0,33 a 4,67), que atingiram o ápice de manifestação entre o 11º e o 13º dia (médias estatisticamente semelhantes), sendo o 11º dia o de maior ocorrência deste comportamento (22,00). Como nos demais comportamentos avaliados, após o 11º dia ocorreu uma sucessiva redução no número de manifestações de oviposições (de 18,00 a 3,00).

De acordo com os dados obtidos, os machos de *C. capitata* foram observados manifestando o comportamento de chamamento a partir do 5º dia de vida adulta, enquanto que as cópulas e as oviposições só puderam ser observadas a partir do 7º dia pós-emergência, quando as fêmeas aceitaram a corte dos machos. Esses resultados foram concordantes com os relatos de Weens Jr. (1981), segundo os quais os machos desta espécie principiariam a atividade de chamamento no 4º dia pós-emergência, enquanto as fêmeas, só permitiriam a ocorrência de cópulas entre o 6º e o 8º dia de vida adulta, podendo ocorrer oviposição imediatamente após a cópula ou no dia seguinte a esta, dependendo do volume de conteúdo da espermateca.

Quanto ao efeito da idade sobre as atividades de cópula e oviposição na espécie *C. capitata*, a concordância no padrão de manifestação dos dois comportamentos era previsível, uma vez que, para que haja um aumento no número de oviposições é necessária a elevação do número de cópulas. No entanto, não foram encontrados experimentos semelhantes com tefritídeos para que estes resultados pudessem ser comparados.

5.1.1.2. PADRÃO DIÁRIO

A atividade de chamamento em *C. capitata* teve início com as primeiras luzes do dia e prolongou-se até às 16h. Entretanto, a média do número de insetos chamando pela manhã foi bem maior que a observada durante à tarde, como pode ser visto na **tabela 5.2** e na **figura 5.2**. A média do número de machos em chamamento foi significativamente maior entre 6:00 e 13:00 horas, com horários de maior ocorrência entre 6h e 7h (32,33), 7h e 8h (30,00) e 8h e 9h (29,67). Nos horários após as 13h a redução nas médias acentuou-se bastante. Estes resultados diferiram dos obtidos por Hendrichs e Hendrichs (1990) em condições de campo no Egito, onde foi observado um padrão bimodal de chamamento com um pico maior entre 8h e 11h (52 %) e outro menor entre 14h e 17h (33 %), e dos obtidos por Landolt *et al.* (1992a) em laboratório com iluminação artificial, em que o pico de chamamento ocorreu entre 11h30min. e 12h30min. Embora neste último experimento, o horário do final da atividade de chamamento tenha coincidido com o observado em nosso ensaio.

A atividade de cópula principiou uma hora após o início do chamamento (6h) e prosseguiu até o término deste comportamento (16h), diferindo do chamamento quanto às médias do número de indivíduos manifestando a atividade, que foram muito menores para a cópula, como pode ser observado na **tabela 5.2** e na **figura 5.2**. O intervalo de maior observação de cópulas se estendeu das 9h às 13h, com horários de pico de ocorrência entre 10h e 11h (8,00) e 11h e 12h (9,00). Este padrão diário de ocorrência de cópulas divergiu do observado por Hendrichs e Hendrichs (1990) em condições naturais, onde foi detectado, tal qual com o chamamento, um padrão bimodal com um pico maior entre 10h e 13h (25 %) e outro menor entre 16h e 17h (17 %). A pequena proporção de cópulas observadas no presente ensaio, em relação ao número de machos chamando (um máximo de 27,84 % de sucesso comparando-se a maior média de chamamento com a maior média de cópula), está de acordo com o estudo de Lima e Howse (1997) sobre o comportamento reprodutivo de *A. fraterculus* em laboratório, no qual as fêmeas rejeitaram 71 % das tentativas de cópula dos machos.

TABELA 5.2. Padrão diário de comportamento reprodutivo de *C. capitata* em casa de vegetação. Resultados em média (n=3) do número de ocorrências das atividades. Médias (\pm EP) da mesma atividade seguidas pela mesma letra não diferiram significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

HORA	ATIVIDADES		
	CHAMAMENTO (MACHOS)	CÓPULA (MACHOS E FÊMEAS)	OVIPOSIÇÃO (FÊMEAS)
5:00 – 6:00	14,00 (\pm 3,51) ^{cd}	0 ^c	0 ^d
6:00 – 7:00	32,33 (\pm 9,53) ^a	0,33 (\pm 0,33) ^{bc}	0 ^d
7:00 – 8:00	30,00 (\pm 9,45) ^a	1,67 (\pm 1,67) ^{bc}	1,33 (\pm 0,67) ^d
8:00 – 9:00	29,67 (\pm 7,45) ^a	1,67 (\pm 1,67) ^{bc}	2,67 (\pm 0,67) ^{cd}
9:00 – 10:00	28,67 (\pm 9,53) ^{ab}	2,67 (\pm 0,88) ^{abc}	3,33 (\pm 0,67) ^{bcd}
10:00 – 11:00	26,67 (\pm 6,96) ^{ab}	8,00 (\pm 0,88) ^a	9,00 (\pm 2,64) ^{ab}
11:00 – 12:00	26,00 (\pm 6,66) ^{ab}	9,00 (\pm 2,52) ^a	7,33 (\pm 1,45) ^{abc}
12:00 – 13:00	25,67 (\pm 7,05) ^{ab}	3,33 (\pm 0,88) ^{ab}	3,33 (\pm 1,33) ^{bcd}
13:00 – 14:00	18,67 (\pm 5,78) ^{bc}	0,67 (\pm 0,33) ^{bc}	7,00 (\pm 1,53) ^{abc}
14:00 – 15:00	7,33 (\pm 2,18) ^d	0,33 (\pm 0,33) ^{bc}	10,33 (\pm 1,76) ^a
15:00 – 16:00	0,67 (\pm 0,33) ^e	0,33 (\pm 0,33) ^{bc}	11,67 (\pm 3,18) ^a
16:00 – 17:00	0 ^e	0 ^c	6,67 (\pm 1,85) ^{abc}
17:00 – 18:00	0 ^e	0 ^c	0,33 (\pm 0,33) ^d

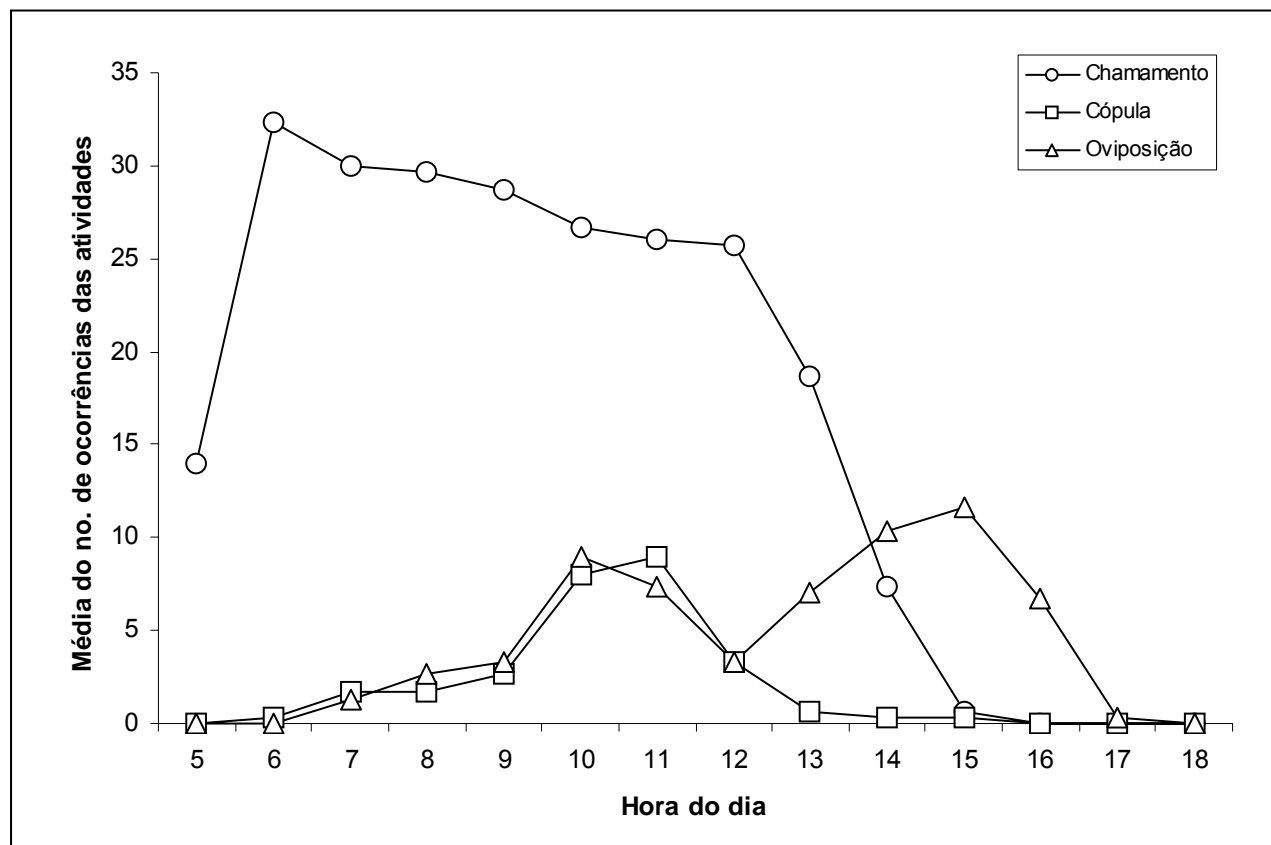


Figura 5.2. Padrão diário de comportamento reprodutivo de *C. capitata* em casa de vegetação.

As variações entre os padrões de chamamento e cópula observados no presente estudo e o do trabalho realizado no Egito (Hendrichs e Hendrichs, 1990) talvez possam ser atribuídas à diferença de condições climáticas entre as regiões biogeográficas de realização dos bioensaios, visto que já foi demonstrado que a atividade sexual de muitas espécies de moscas-das-frutas é controlada por uma combinação de ritmos circadianos e fatores ambientais (Burk, 1983). Por outro lado, o uso de iluminação natural em nosso experimento também pode ter contribuído na divergência entre os nossos resultados e os de Landolt *et al.*, pois, segundo Epsky e Heath (1992) algumas espécies de moscas-das-frutas, como *A. suspensa*, necessitam da mudança gradual de intensidade de iluminação que ocorre no início da manhã e no final da tarde para estimular seu comportamento reprodutivo. Na ausência da graduação de intensidade luminosa, como ocorre nos bioensaios com o uso de iluminação artificial, pode haver variações na periodicidade de chamamento e de cópula em relação ao que ocorre em condições naturais, uma vez que com iluminação artificial a manifestação destes comportamentos é dependente apenas dos fatores endógenos dos insetos.

A atividade de oviposição foi iniciada às 7h e prosseguiu até às 18h. O padrão de manifestação observado foi bimodal com um pico menor pela manhã e um ligeiramente superior à tarde. Estes resultados podem ser observados na **tabela 5.2** e na **figura 5.2**. A média do número de fêmeas ovipositando teve seu máximo nos intervalos de 10 às 12h e de 13h às 17h, com

horários de pico entre 14h e 15h (10,33) e entre 15h e 16h (11,67). Diferindo dos demais comportamentos reprodutivos, os resultados de padrão diário de oviposição aproximaram-se dos obtidos por Hendrichs e Hendrichs (1990) no campo, em que se observou um padrão bimodal desta atividade com início no princípio da manhã, cessando durante as horas quentes do dia e aumentando progressivamente à tarde até atingir seu pico entre 16h e 17h. No nosso caso, no entanto, o pico da atividade ocorreu na hora anterior ao do experimento no Egito. Estes resultados talvez demonstrem que o comportamento de oviposição sofre maior influência dos fatores endógenos dos insetos que de fatores ambientais como a intensidade luminosa.

5.1.2. ESPÉCIE *A. obliqua*

5.1.2.1. IDADE

A atividade de chamamento na espécie *A. obliqua* foi observada inicialmente no 7º dia de vida adulta e manteve-se até o último dia do experimento (21º dia) com médias representativas de ocorrência, como pode ser observado na **tabela 5.3** e na **figura 5.3**. Do 7º ao 13º dia a ocorrência de chamamentos teve uma progressiva elevação (de 5,00 a 39,33). Entre o 15º e o 19º dia foi observado um número médio de manifestações de chamamentos significativamente maior que os dos demais dias avaliados, sendo o dia de pico da atividade o 15º (45,33). No entanto, a partir deste 15º dia as médias de ocorrência de chamamentos foram paulatinamente reduzidas. Tais resultados estão de acordo com Bressan (1996), que observou um aumento significativo no número médio de espermatozóides a partir do 7º dia de vida adulta de machos de *A. obliqua*, tornando-os aptos para reprodução. Entretanto, em um experimento de laboratório realizado no México, divergindo dos resultados aqui encontrados, Ibañes-López e Cruz-López (2001) observaram o início da atividade de chamamento para machos desta espécie no 5º dia de vida adulta. O uso de insetos de criação massal - que tem um período de pré-oviposição conhecidamente reduzido (Nation, 1990) - pelos colegas mexicanos talvez possa explicar as diferenças nos resultados obtidos.

As cópulas foram observadas apenas no 11º dia de vida adulta e ocorreram até o final do experimento. Entretanto, as médias de ocorrência foram ainda inferiores aos da espécie *C. capitata*, como pode ser visto na **tabela 5.3** e na **figura 5.3**. Apesar do pequeno número de ocorrências, observou-se que o padrão de manifestação de cópulas assemelhou-se ao de chamamento. Houve um crescimento gradual do número médio de ocorrências entre o 11º e o 13º dia (de 0,33 a 0,67) e, de modo análogo ao chamamento, um máximo no 15º dia (2,67) com um progressivo declínio dos índices de manifestação do 17º ao 21º dia (de 1,67 a 0,67). Apesar de não ter havido diferença estatística entre qualquer das médias do 13º dia ao 21º dia. Porém, a média do dia de pico foi a única estatisticamente superior as dos horários onde não ocorreram cópulas. Os resultados foram discordantes dos encontrados por Ibañes-López e Cruz-López

(2001), os quais observaram um maior número de cópulas entre o 7º e o 10º dia de vida adulta dos insetos desta espécie. As diferenças apresentadas entre os dois experimentos talvez possam ser explicadas pelos motivos já expostos no parágrafo anterior.

TABELA 5.3. Padrão de comportamento reprodutivo de *A. obliqua* segundo a idade em casa de vegetação. Resultados em número médio (n=3) de indivíduos do grupo manifestando as atividades. Médias (\pm EP) da mesma atividade seguidas pela mesma letra não diferiram significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

DIA DE VIDA ADULTA	ATIVIDADES		
	CHAMAMENTO (MACHOS)	CÓPULA (MACHOS E	OVIPOSIÇÃO (FÊMEAS)
5º	0 ^f	0 ^b	0 ^b
7º	5,00 (\pm 2,52) ^e	0 ^b	0 ^b
9º	17,33 (\pm 5,04) ^d	0 ^b	0 ^b
11º	25,00 (\pm 5,29) ^c	0,33 (\pm 0,33) ^b	0,33 (\pm 0,33) ^b
13º	39,33 (\pm 5,78) ^b	0,67 (\pm 0,33) ^{a,b}	0,67 (\pm 0,33) ^b
15º	45,33 (\pm 3,93) ^a	2,67 (\pm 0,88) ^a	1,00 (\pm 1,00) ^b
17º	43,67 (\pm 3,67) ^{a,b}	1,67 (\pm 0,33) ^{a,b}	14,33 (\pm 6,17) ^a
19º	43,33 (\pm 2,85) ^{a,b}	1,00 (\pm 0,58) ^{a,b}	13,33 (\pm 7,53) ^a
21º	37,33 (\pm 2,60) ^b	0,67 (\pm 0,33) ^{a,b}	12,00 (\pm 3,00) ^a

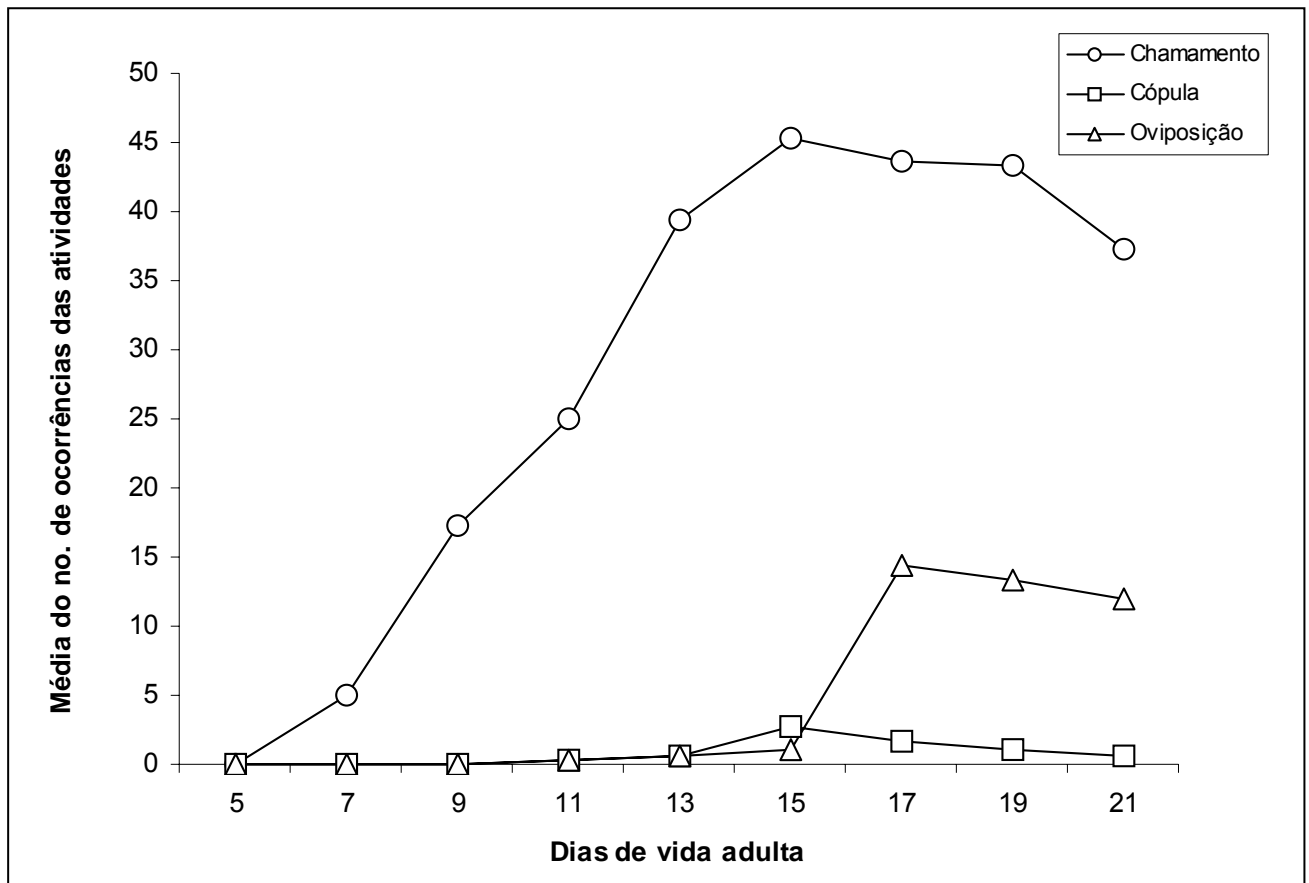


Figura 5.3. Padrão de comportamento reprodutivo de *A. obliqua* segundo a idade em casa de vegetação.

A atividade de oviposição, do mesmo modo que a de cópula, foi observada inicialmente no 11º dia de vida adulta, ainda assim com médias muito reduzidas de ocorrência, que vieram a se elevar somente a partir do 17º dia e mantiveram-se até o final do experimento, conforme a **tabela 5.3** e a **figura 5.3**. Do 11º ao 15º dia os números médios de ocorrência apresentaram uma pequena elevação (de 0,33 a 1,00). O período de maior observação de oviposições foi entre o 17º o 21º dia, tendo seu pico no 17º dia (14,33). Os resultados corroboram o estudo de Liedo *et al.* (1992), os quais demonstraram que as fêmeas desta espécie dão início as oviposições no 10º dia pós-emergência. Em relação a elevação dos percentuais de ocorrência da atividade de oviposição somente a partir do 17º dia de vida adulta nos insetos avaliados, esta, provavelmente, deveu-se a necessidade de complementação do conteúdo da espermateca das fêmeas para a efetivação das oviposições, uma condição comum entre os tefritídeos (Sugayama *et al.*, 1998). Quanto ao dia de pico da atividade de oviposição, não foram encontradas na literatura informações que pudessem ser comparadas com os nossos resultados.

5.1.2.2. PADRÃO DIÁRIO

A atividade de chamamento na espécie *A. obliqua*, do mesmo modo que em *C. capitata*, teve início assim que as primeiras luzes do dia incidiram sobre o ambiente experimental. Porém,

no caso de *A. obliqua*, foi observado um padrão bimodal de manifestação do comportamento com um pico maior no início da manhã e um menor no final da tarde, como pode ser observado na **tabela 5.4** e na **figura 5.4**. O intervalo de maior ocorrência de chamamentos foi entre 6h e 9h, havendo no horário de 6h às 7h o pico desta atividade (em média 35,67 ocorrências). Das 9h às 14h os números médios de manifestações deste comportamento foram bastante reduzidos (de 29,67 a 3,33). Entre 14h e 16h os índices de ocorrência de chamamentos se elevaram novamente (de 5,67 a 8,33), atingindo um segundo ápice no intervalo das 16h às 18h, com horário de pico de 17h às 18h (21,33).

Malavasi e Barros (1988) encontraram resultados diferentes. Estes autores observaram que o horário de manifestação de chamamento de *A. obliqua* no campo foi entre 9h e 11h e 30 min. e em laboratório foi entre 13h e 18 h, com horário de pico entre 17h e 18h. Muito embora a presença de um pico de chamamento no final da tarde tenha sido observada em nosso experimento. No entanto, as proporções aqui obtidas para esse segundo pico tenham sido inferiores. As divergências apontadas talvez possam ser justificadas pelas diferenças de local de execução dos experimentos. No caso dos experimentos realizados por eles no campo, as diferenças de luminosidade entre a região nordeste, onde foi realizado o nosso ensaio, e a sudeste, local de realização do deles, pode causar significativas alterações nos horários de manifestação do comportamento, uma vez que, nos estados do sudeste o nascer do sol é tardio em relação aos do nordeste. Em relação ao experimento realizado em laboratório, talvez a ausência de graduação da intensidade luminosa, já referida anteriormente, possa explicar as diferenças nos resultados.

As cópulas tiveram início entre 6h e 7h, ocorrendo até as 10h. A partir deste horário houve um intervalo na manifestação deste comportamento até às 16h. Entre 16h e 17h o comportamento voltou a ocorrer, cessando ao final deste horário. Este padrão pode ser observado na **tabela 5.4** e na **figura 5.4**. Observou-se que, tal qual para a espécie *C. capitata*, o padrão de ocorrência de cópulas assemelhou-se ao de chamamento, diferindo do mesmo modo quanto ao número médio de manifestações, muito reduzido para a atividade de cópula. O intervalo de maior ocorrência do comportamento foi entre 7h e 10h, no qual todos os horários obtiveram o mesmo número médio de manifestações (1,67). Embora as médias do intervalo de pico da atividade não tenham diferido estatisticamente daquelas dos horários de 6h às 7h e de 16h às 17h, foram as únicas estatisticamente superiores às dos horários onde não ocorreram cópulas. Os resultados foram concordantes com as observações realizadas em plantações de manga no México por Aluja e Birke (1993), onde o maior número de cópulas ocorreu no período da manhã, entre 7h e 10h horas. O padrão de manifestação observado no experimento do México também foi do tipo bimodal. Ibañes-López e Cruz-López (2001) observaram uma maior atividade de cópula entre 7h e 9h, resultado bastante semelhante ao nosso.

TABELA 5.4. Padrão diário de comportamento reprodutivo de *A. obliqua* em casa de vegetação. Resultados em número médio (n=3) de indivíduos do grupo manifestando as atividades. Médias (\pm EP) da mesma atividade seguidas pela mesma letra não diferiram significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

HORA	ATIVIDADES		
	CHAMAMENTO (MACHOS)	CÓPULA (MACHOS E FÊMEAS)	OVIPOSIÇÃO (FÊMEAS)
5:00 – 6:00	30,67 (\pm 2,33) ^b	0 ^b	0 ^b
6:00 – 7:00	35,67 (\pm 3,33) ^a	0,67 (\pm 0,33) ^{a b}	0,33 (\pm 0,33) ^b
7:00 – 8:00	35,00 (\pm 3,05) ^a	1,67 (\pm 0,88) ^a	0,33 (\pm 0,33) ^b
8:00 – 9:00	30,33 (\pm 2,18) ^a	1,67 (\pm 1,20) ^a	4,33 (\pm 3,84) ^{a b}
9:00 – 10:00	29,67 (\pm 2,85) ^b	1,67 (\pm 0,33) ^a	10,33 (\pm 5,17) ^a
10:00 – 11:00	20,33 (\pm 1,76) ^c	0 ^b	9,33 (\pm 3,84) ^a
11:00 – 12:00	7,67 (\pm 0,67) ^d	0 ^b	7,33 (\pm 1,76) ^{a b}
12:00 – 13:00	7,67 (\pm 1,76) ^d	0 ^b	2,00 (\pm 1,15) ^{a b}
13:00 – 14:00	3,33 (\pm 1,85) ^e	0 ^b	0,67 (\pm 0,67) ^b
14:00 – 15:00	5,67 (\pm 1,45) ^d	0 ^b	0,67 (\pm 0,67) ^b
15:00 – 16:00	8,33 (\pm 1,45) ^d	0 ^b	2,00 (\pm 1,00) ^{a b}
16:00 – 17:00	20,67 (\pm 2,85) ^c	1,33 (\pm 0,88) ^{a b}	2,33 (\pm 0,88) ^{a b}
17:00 – 18:00	21,33 (\pm 1,76) ^c	0 ^b	2,00 (\pm 1,53) ^{a b}

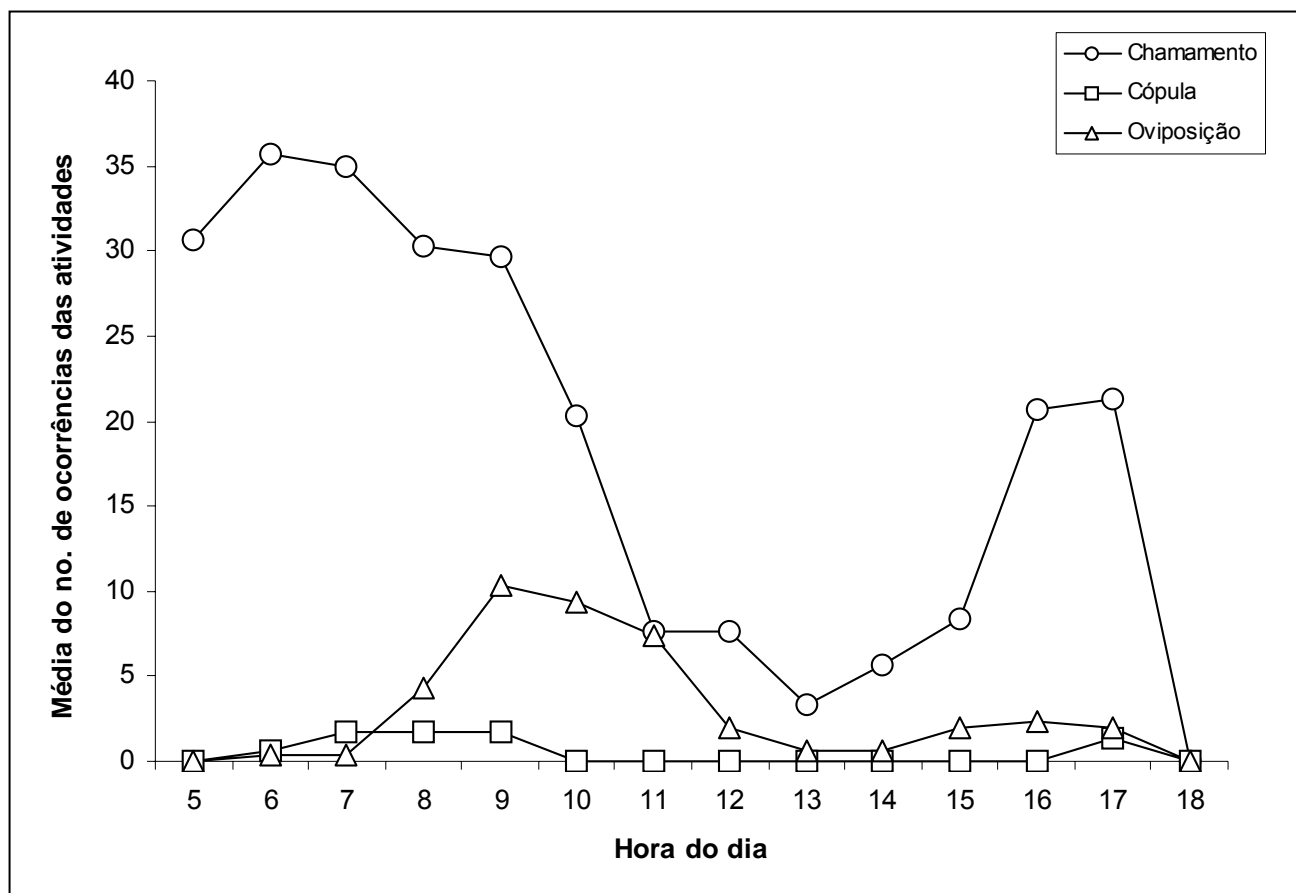


Figura 5.4. Padrão diário de comportamento reprodutivo de *A. obliqua* em casa de vegetação.

A atividade de oviposição principiou entre 6h e 7h e foi observada até às 18h. Assim como para os demais comportamentos avaliados para a espécie, o padrão diário foi bimodal com um pico maior no meio da manhã e um bastante reduzido no final da tarde, conforme a **tabela 5.4** e a **figura 5.4**. O intervalo de maior manifestação da atividade foi entre 8h e 13h, com horários de maior ocorrência de 9h às 10h (10,33) e de 10h às 11h (9,33). As médias do citado intervalo foram semelhantes às do intervalo entre 15h e 18h, segundo ápice de manifestação do comportamento, com horário de pico de 16h às 17h (2,33). Entretanto, as médias do período de maior manifestação da atividade (entre 9h e 11h) foram as únicas estatisticamente superiores aquelas dos horários em que não ocorreram oviposições.

O padrão diário de oviposições bimodal foi comum às duas espécies estudadas. Entretanto, o maior pico ocorreu em períodos opostos, para *A. obliqua* pela manhã e à tarde para *C. capitata*. Uma vez que, no caso específico deste estudo, estas espécies eram simpátricas, infestando um mesmo hospedeiro, possivelmente, esta diferença de horários seja uma estratégia de sobrevivência dessas espécies. Porém, não foram encontrados na literatura dados sobre o padrão diário de oviposição da espécie *A. obliqua* que pudessem fundamentar essa suposição.

A partir deste experimento para determinação da idade e do padrão diário de comportamentos reprodutivos foi demonstrado que, para as condições climáticas do Estado de Alagoas, a idade de maior ocorrência das atividades reprodutivas foi aos 11 dias de vida adulta para *C. capitata* e aos 15 dias para *A. obliqua*, exceto para a oviposição cuja idade de maior ocorrência foi aos 17 dias para esta última espécie. Para *C. capitata* os horários de pico para as atividades de chamamento, cópula e oviposição foram 6h – 9h, 10h – 12h e 14h – 16h, respectivamente, enquanto para *A. obliqua* tais horários foram: 5h – 9h, 7h – 10h e 9h – 11h. De posse destes resultados pôde-se estabelecer a idade dos insetos e os horários adequados para realização dos experimentos posteriores. Assim, o bioensaio para avaliação do estágio de maturação do fruto hospedeiro preferencial para oviposição foi realizado no período de pico da atividade de oviposição: insetos com idade de 11 a 13 dias de vida adulta (estatisticamente semelhantes) no horário das 14h às 16h para a espécie *C. capitata* e com idade de 17 a 21 dias pós-emergência (estatisticamente semelhantes) entre 9h e 11h para *A. obliqua*. A extração de glândulas salivares e a aeração de machos das duas espécies, por sua vez, foram executadas no período de pico de chamamento: aos 11 dias de vida adulta para *C. capitata* e aos 15 dias para *A. obliqua*, entre 6h e 9h para ambas espécies. Do mesmo modo, o bioensaio de atratividade dos extratos de glândulas salivares e de aeração de machos de *A. obliqua* em chamamento foi conduzido com fêmeas da espécie no período de pico da atividade de cópula: 15º dia entre 7h e 10h.

5.2. ESTÁGIO DE MATURAÇÃO DO FRUTO HOSPEDEIRO PREFERENCIAL PARA OVIPOSIÇÃO

5.2.1. FÊMEAS DE *C. capitata*

As fêmeas acasaladas de *C. capitata* demonstraram preferência para oviposição em frutos maduros de *A. carambola* (carambola). A maior média do número de observações de oviposição foi observada, portanto, em frutos maduros, 18,2 vezes, contra 4,3 vezes tanto em frutos no estágio intermediário de maturação quanto nos verdes. A média de frutos maduros diferiu significativamente das dos demais estágios de maturação pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade, como pode ser visto na **figura 5.5**. Os resultados estão de acordo com a informação de Weens Jr. (1981) de que, diferindo das fêmeas do gênero *Anastrepha*, as de *C. capitata*, devido ao reduzido tamanho e a fragilidade do ovipositor, geralmente preferem depositar seus ovos em frutos maduros ou em condições de maturação bem próximas a esta. Ademais, a escolha de frutos maduros também pode estar relacionada à menor duração dos estágios embrionário e larval na espécie *C. capitata* (em média 2 e 8 dias contra 3 e 11 do gênero *Anastrepha*).

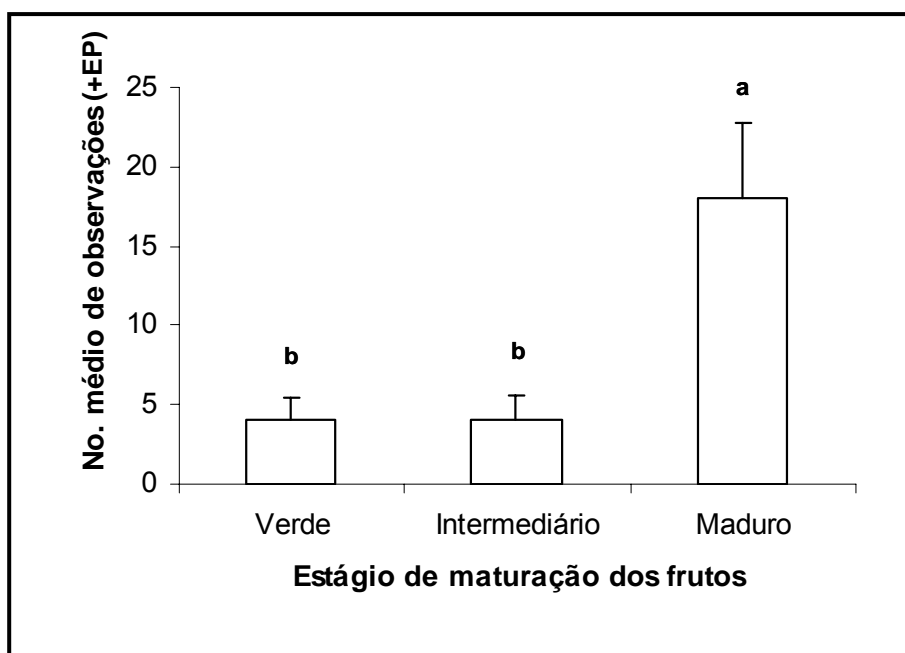


Figura 5.5. Número de vezes (média +EP) que fêmeas de *C. capitata* foram observadas ovipositando em frutos de *A. carambola* nos estágios de maturação: verde, intermediário e maduro. Médias acompanhadas da mesma letra não diferiram significativamente pelo testes de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Médias acompanhadas de letras distintas diferiram entre si.

5.2.2. FÊMEAS DE *A. obliqua*

As fêmeas acasaladas de *A. obliqua* demonstraram preferência para oviposição em frutos verdes de *A. carambola*. A maior média do número de observações de oviposição foi observada em frutos verdes, 16,3 vezes, contra 10 vezes em frutos de estágio de maturação intermediário e 5,1 vezes em frutos maduros. As médias de frutos verdes, intermediários e maduros diferiram estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de probabilidade de 5 %, como pode ser observado na **figura 5.6**. Os resultados comprovam as afirmações de Weens Jr. *et al.* (2001) de que as fêmeas de *A. obliqua* preferem realizar postura em frutos verdes totalmente desenvolvidos, de modo análogo ao que ocorre com fêmeas de *T. curvicauda* (Landolt *et al.*, 1992b). Talvez possam contribuir para esta preferência a estrutura maior e mais rígida do ovipositor e a já referida maior duração do estágio embrionário e larval desta espécie em relação à *C. capitata*. A composição química dos frutos nos dois estágios de maturação citados pode também influenciar a preferência de cada um destes estágios pelas fêmeas das duas espécies.

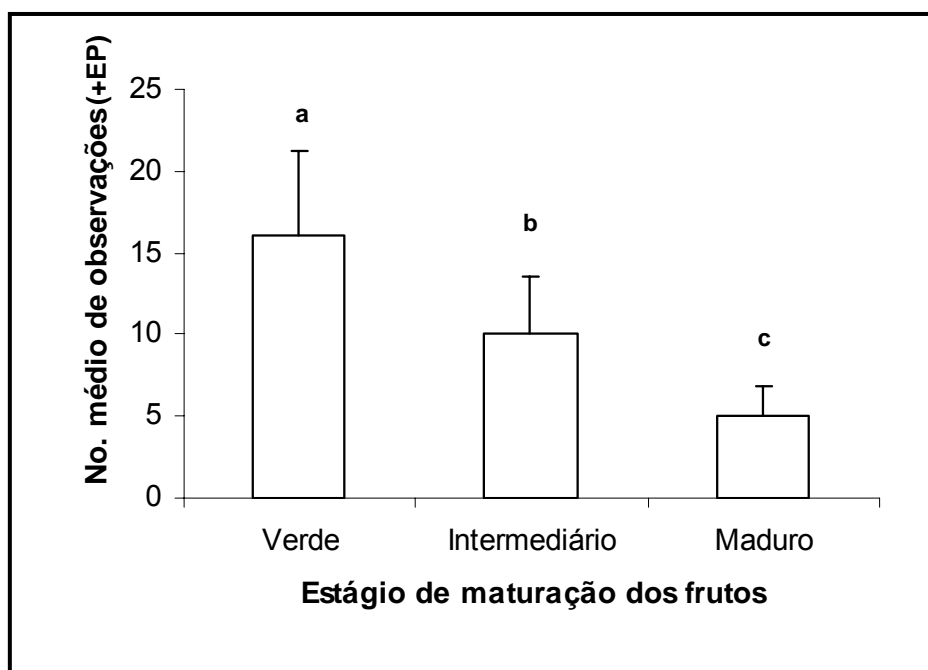


Figura 5.6. Número de vezes (média +EP) que fêmeas de *A. obliqua* foram observadas ovipositando em frutos de *A. carambola* nos estágios de maturação: verde, intermediário e maduro. Médias acompanhadas de letras distintas diferiram entre si pelo testes de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

5.3. CONSTITUINTES VOLÁTEIS DO FRUTO HOSPEDEIRO NO ESTÁGIO DE MATURAÇÃO PREFERENCIAL PARA OVIPOSIÇÃO

5.3.1. FRUTOS DE *A. carambola* MADUROS

Os frutos de *A. carambola* (carambola) maduros, estágio de maturação preferido por fêmeas de *C. capitata* para oviposição, liberaram uma mistura de 27 compostos voláteis constituída de diversos ésteres, principalmente metílicos e etílicos, e uma cetona, a 2-heptanona (pico **8**). O composto mais abundante foi o 4-metil-pentanoato de etila (pico **13**), seguido pelo 2-octenoato de etila (pico **24**), pelo butanoato de etila (pico **3**) e pelo hexanoato de metila (pico **10**). Como compostos de abundância intermediária foram identificados o acetato de 2-metilbutila (pico **7**), o octanoato de metila (pico **20**), o decanoato de etila (pico **27**) e o 4-octenoato de etila (pico **23**). Os demais compostos foram encontrados em proporções reduzidas. Os resultados podem ser comprovados pela observação da **figura 5.7** e da **tabela 5.5**.

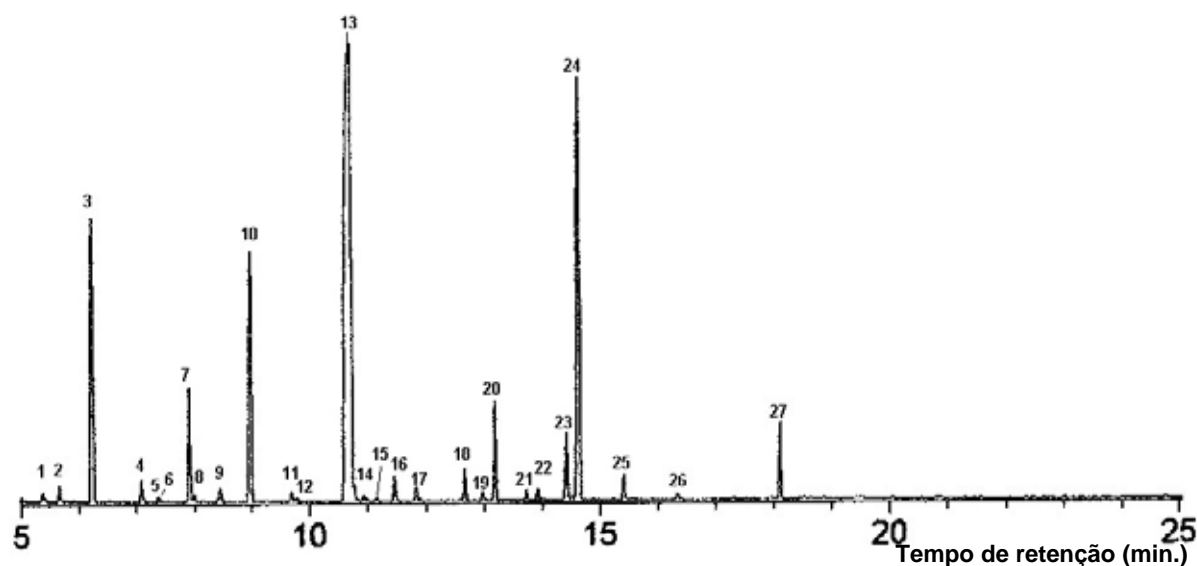


Figura 5.7. Cromatograma apresentando os constituintes voláteis presentes em extratos de aeração de frutos de *A. carambola* maduros, estágio de maturação preferido por fêmeas de *C. capitata* para oviposição. Identificação dos compostos na tabela 5.5.

TABELA 5.5. Compostos voláteis presentes em extratos de aeração de frutos de *A. carambola* maduros. A proporção de cada composto na mistura de voláteis identificada é dada como média percentual ($n=8 \pm EP$).

Nº DO PICO NA FIG. 5.7	T.R. (min.)	NOME DO COMPOSTO	MÉDIA PERCENTUAL ($\pm EP$)
1	5,35	Crotonoato de metila	0,29 ($\pm 0,17$)
2	5,68	Acetato de isobutila	0,48 ($\pm 0,22$)
3	6,25	Butanoato de etila	10,14 ($\pm 3,42$)
4	7,09	Crotonoato de etila	0,58 ($\pm 0,34$)
5	7,37	2-Metilbutanoato de etila	0,23 ($\pm 0,12$)
6	7,44	3-Metilbutanoato de etila	0,10 ($\pm 0,03$)
7	8,00	Acetato de 2-metilbutila	3,12 ($\pm 0,87$)
8	8,15	2-Heptanona	0,36 ($\pm 0,11$)
9	8,46	Pentanoato de etila	0,40 ($\pm 0,25$)
10	8,99	Hexanoato de metila	8,19 ($\pm 1,33$)
11	9,70	Butirato de isobutila	0,30 ($\pm 0,02$)
12	9,79	2-Hexenoato de metila	0,34 ($\pm 0,16$)
13	10,73	4-Metilpentanoato de etila	46,33 ($\pm 10,58$)
14	10,77	3-Hexenoato de etila	0,06 ($\pm 0,02$)
15	10,93	Acetato de hexila	0,02 ($\pm 0,01$)
16	11,47	2-Hexenoato de etila	0,63 ($\pm 0,44$)
17	11,83	Butirato de isoamila	0,40 ($\pm 0,28$)
18	12,60	Hexanoato de propila	1,10 ($\pm 0,75$)
19	12,97	4-Octenoato de metila	0,28 ($\pm 0,08$)
20	13,19	Octanoato de metila	2,44 ($\pm 0,43$)

TABELA 5.5. Continuação.

Nº DO PICO NA FIG. 5.7	T.R. (min.)	NOME DO COMPOSTO	MÉDIA PERCENTUAL (\pm EP)
21	13,73	Hexanoato de butila	0,27 (\pm 0,09)
22	13,93	Benzoato de etila	0,44 (\pm 0,11)
23	14,42	4-Octenoato de etila	1,76 (\pm 0,69)
24	15,42	2-Octenoato de etila	19,28 (\pm 5,38)
25	15,58	Hexanoato de isoamila	0,30 (\pm 0,10)
26	16,41	Nonoato de etila	0,10 (\pm 0,06)
27	18,13	Decanoato de etila	1,85 (\pm 0,92)

5.3.2. FRUTOS DE *A. carambola* VERDES

Os frutos de *A. carambola* verdes, estágio de maturação preferido por fêmeas de *A. obliqua* para oviposição, liberaram uma mistura de 15 compostos voláteis constituída de cetonas (5), ésteres (5), monoterpenos (2), um hidrocarboneto, um álcool e um sesquiterpeno. O composto mais abundante foi a 2-hexanona (pico 2), seguida pelo hexanoato de etila (pico 9) e pelo 2-hexenoato de metila (pico 6). Além destes, destacaram-se também o acetato de isoamila (pico 3), o hexanoato de metila (pico 5) e a 2-heptanona (pico 4). Os monoterpenos característicos nos voláteis dos frutos neste estágio de maturação foram o limoneno (pico 12) e o (*Z*)- β -ocimeno (pico 13). O sesquiterpeno encontrado foi o germacreno (pico 15), como pode ser evidenciado na **figura 5.8** e na **tabela 5.6**.

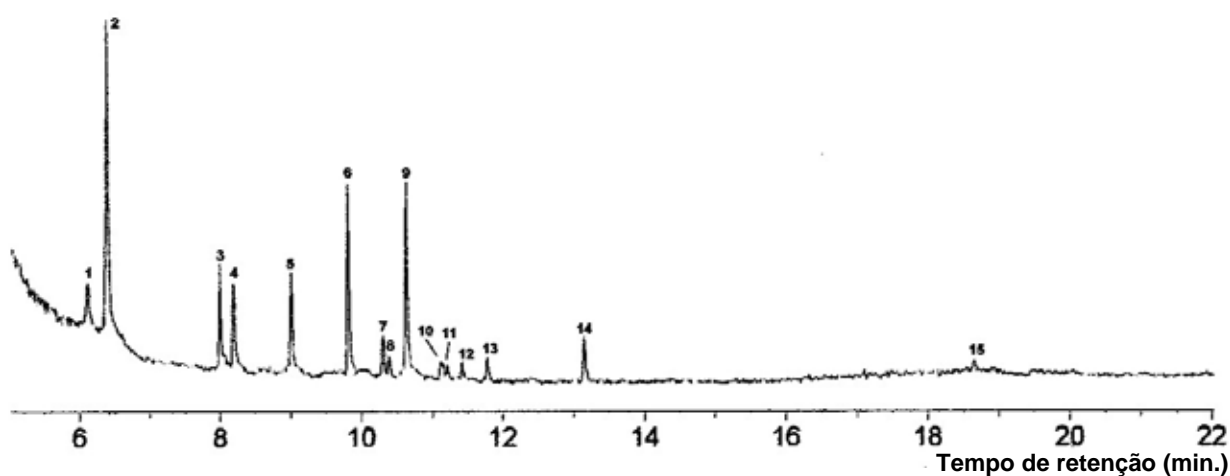


Figura 5.8. Cromatograma apresentando os constituintes voláteis presentes em extratos de aeração de frutos de *A. carambola* verdes, estágio de maturação preferido por fêmeas de *A. obliqua* para oviposição. Identificação dos compostos na tabela 5.6.

TABELA 5.6. Compostos voláteis presentes em extratos de aeração de frutos de *A. carambola* imaturos. A proporção de cada composto na mistura de voláteis identificada é dada como média percentual ($n=8 \pm EP$).

Nº DO PICO NA FIG. 5.8	T.R. (min.)	NOME DO COMPOSTO	MÉDIA PERCENTUAL ($\pm EP$)
1	6,11	3-Hexanona	4,36 ($\pm 0,97$)
2	6,40	2-Hexanona	27,73 ($\pm 7,08$)
3	7,99	Acetato de isoamila	8,61 ($\pm 5,12$)
4	8,19	2-Heptanona	7,09 ($\pm 1,54$)
5	9,01	Hexanoato de metila	7,38 ($\pm 0,83$)
6	9,81	2-Hexenoato de metila	11,42 ($\pm 3,66$)
7	10,30	3-Octanona	3,68 ($\pm 0,89$)
8	10,38	2-Octanona	1,47 ($\pm 0,39$)
9	10,62	Hexanoato de etila	17,65 ($\pm 8,16$)
10	11,12	Heptanoato de metila	1,71 ($\pm 0,25$)
11	11,27	2-Etil-1-hexanol	1,00 ($\pm 0,09$)
12	11,41	Limoneno	1,74 ($\pm 0,37$)
13	11,77	(Z)- β -Ocimeno	2,47 ($\pm 0,22$)
14	13,14	Undecano	2,70 ($\pm 1,58$)
15	18,67	Germacreno	0,98 ($\pm 0,92$)

Os compostos identificados nos frutos maduros foram os mesmos encontrados em Gonçalves (2001) para este estágio de maturação, no entanto, a composição dos frutos verdes apresentou cinco compostos que não haviam sido encontrados no referido trabalho. Entre esses cinco compostos foi observada a presença do limoneno e do germacreno. O primeiro, um conhecido constituinte dos voláteis de espécies de tefritídeos do gênero *Anastrepha* (Roca et al., 1992; Silva, 1999; Lima et al., 2001; Gonçalves, 2001; Santos, 2003) e de *C. capitata* (Gonçalves, 2001). O segundo, considerado como precursor de muitos sesquiterpenos (Bülow e König, 2000), entre eles, alguns já referidos para as espécies em estudo (Gonçalves, 2001), como o α -copaeno, o δ -cadineno e o δ -elemeno. Estes resultados parecem reforçar a hipótese de que o odor dos frutos pode influenciar a preferência das fêmeas por determinado estágio de maturação, pelo menos no que diz respeito à espécie *A. obliqua*, que manifestou preferência pelos frutos verdes. As diferenças observadas na composição dos extratos de frutos imaturos entre Gonçalves (2001) e o presente estudo talvez possam ser atribuídas ao maior número de extrações aqui realizadas, bem como, ao aperfeiçoamento da metodologia de extração.

5.4. CONSTITUINTES VOLÁTEIS DE SECREÇÕES DAS GLÂNDULAS SALIVARES E OS LIBERADOS POR MACHOS

A análise qualitativa dos extratos de glândulas salivares de machos de *C. capitata* e *A. obliqua* em chamamento revelou a presença de similaridades entre a composição destes e a de extratos de aeração das respectivas espécies.

5.4.1. MACHOS DE *C. capitata*

Os extratos de secreções de glândulas salivares de machos de *C. capitata* em chamamento apresentaram uma mistura de 14 compostos voláteis constituída de cetonas (2), sesquiterpenos (2), ésteres (5), álcoois (2), um composto nitrogenado, um monoterpreno e um hidrocarboneto. O composto mais abundante foi a cetona 2-heptanona (pico 1), seguido pelo sesquiterpeno (*E,E*)- α -farneseno (pico 14), pelo éster hexanoato de etila (pico 4), pelo composto nitrogenado 2,5-dimetilpirazina (pico 2) e pelo álcool 1-nonanol (pico 5). Destacaram-se também a cetona 3-octanona (pico 3), o éster octanoato de etila (pico 12) e o monoterpreno limoneno (pico 8). Além desses, foram observados os sesquiterpenos α -*trans*-bergamoteno (pico 13) e (*E,E*)- α -farneseno (pico 14), como pode ser observado na **figura 5.9** e na **tabela 5.7**.

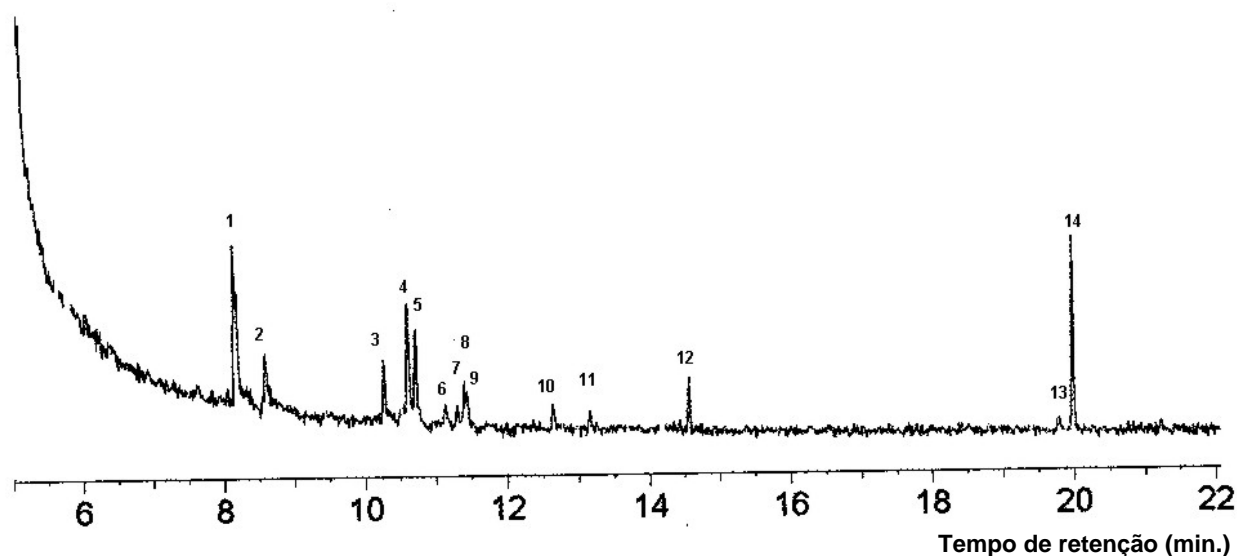


Figura 5.9. Cromatograma apresentando os constituintes voláteis presentes nos extratos de glândulas salivares de machos de *C. capitata* (hospedeiro carambola) em chamamento. Identificação dos compostos na tabela 5.7.

TABELA 5.7. Compostos voláteis presentes em extratos de glândulas salivares de machos de *C. capitata* (hospedeiro carambola) em chamamento. A proporção de cada composto na mistura de voláteis identificada é dada como média percentual ($n=8 \pm EP$). Os espectros de massas dos compostos são apresentados no anexo nº 2.

Nº DO PICO NA FIG. 5.9	T.R. (min.)	NOME DO COMPOSTO	MÉDIA PERCENTUAL ($\pm EP$)	ESPECTRO
1	8,14	2-Heptanona	19,57 ($\pm 3,45$)	A3
2	8,58	2,5-Dimetilpirazina	12,33 ($\pm 2,06$)	G1
3	10,26	3-Octanona	6,32 ($\pm 3,16$)	A5
4	10,60	Hexanoato de etila	13,93 ($\pm 1,79$)	C1
5	10,71	1-Nonanol	10,84 ($\pm 2,37$)	-
6	11,13	Heptanoato de metila	2,93 ($\pm 1,19$)	C2
7	11,29	2-Etil-1-hexanol	2,01 ($\pm 0,65$)	B2
8	11,39	Limoneno	3,43 ($\pm 1,01$)	E1
9	11,43	1-H-Indeno	2,99 ($\pm 0,67$)	D1
10	12,63	Heptanoato de etila	2,93 ($\pm 0,79$)	C3
11	13,16	Octanoato de metila	2,19 ($\pm 0,84$)	C4
12	14,56	Octanoato de etila	4,49 ($\pm 1,23$)	C5
13	19,79	α -trans-Bergamoteno	0,97 ($\pm 0,19$)	F5
14	19,99	(E,E)- α -Farneseno	15,02 ($\pm 1,25$)	F6

Os machos de *C. capitata*, quando em chamamento, liberaram uma mistura de 24 compostos voláteis constituída de sesquiterpenos (5), ésteres (6), cetonas (3), compostos nitrogenados (3), monoterpenos (3), álcoois (3) e um hidrocarboneto. O composto mais abundante foi o sesquiterpeno (*E,E*)- α -farneseno (pico **24**), seguido pelo éster de terpeno acetato de geranila (pico **20**), pelos ésteres 3-octenoato de etila (pico **19**) e hexanoato de etila (pico **8**), e pela cetona 2-heptanona (pico **2**). Além destes, destacaram-se também os compostos nitrogenados 2,5-dimetilpirazina (pico **4**) e indol (pico **9**) e a cetona 3-octanona (pico **7**). Os monoterpenos característicos nos voláteis dos machos desta espécie foram o limoneno (pico **12**) e o (*Z*)- β -ocimeno (pico **14**). O sesquiterpeno α -*trans*-bergamoteno (pico **23**) também foi observado entre os componentes da mistura. Estes resultados podem ser evidenciados na **figura 5.10** e na **tabela 5.8**.

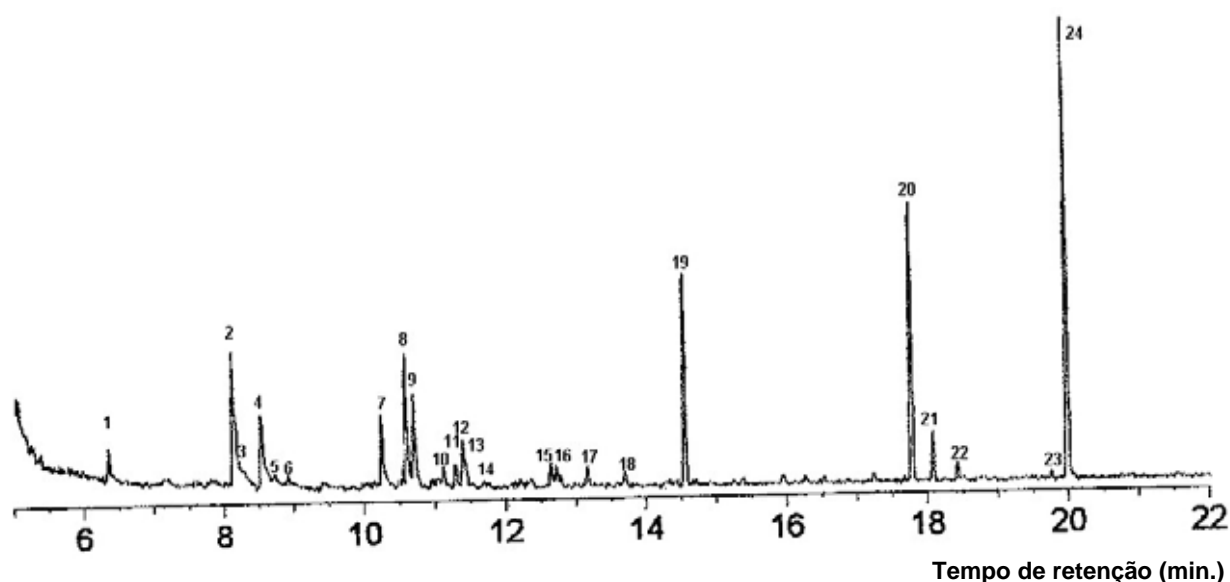


Figura 5.10. Cromatograma apresentando os constituintes voláteis presentes nos extratos de aeração de machos de *C. capitata* (hospedeiro carambola) em chamamento. Identificação dos compostos na tabela 5.8.

TABELA 5.8. Compostos voláteis presentes em extratos de aeração de machos de *C. capitata* (hospedeiro carambola) em chamamento. A proporção de cada composto na mistura de voláteis identificada é dada como média percentual ($n=8 \pm EP$). Os espectros de massas dos compostos são apresentados no anexo nº 2.

Nº DO PICO NA FIG. 5.10	T.R. (min.)	NOME DO COMPOSTO	MÉDIA PERCENTUAL ($\pm EP$)	ESPECTRO
1	6,40	1-Heptanol	2,50 ($\pm 0,86$)	B1
2	8,13	2-Heptanona	9,11 ($\pm 2,14$)	A3
3	8,17	Acetato de 2-feniletila	1,61 ($\pm 0,53$)	-
4	8,53	2,5-Dimetilpirazina	5,68 ($\pm 1,77$)	G1
5	8,73	2,6-Dimetilpirazina	0,49 ($\pm 0,13$)	-
6	8,91	2-Metil-4-heptanona	0,48 ($\pm 0,20$)	A4
7	10,25	3-Octanona	4,36 ($\pm 1,26$)	A5
8	10,59	Hexanoato de etila	6,87 ($\pm 1,05$)	C1
9	10,71	Indol	5,17 ($\pm 2,18$)	G3
10	11,12	Heptanoato de metila	1,21 ($\pm 0,49$)	C2
11	11,29	2-Etil-1-hexanol	1,62 ($\pm 0,57$)	B2
12	11,39	Limoneno	3,58 ($\pm 0,91$)	E1
13	11,43	1-H-Indeno	2,04 ($\pm 0,65$)	D1
14	11,71	(Z)- β -Ocimeno	0,29 ($\pm 0,07$)	E2
15	12,63	Heptanoato de etila	1,38 ($\pm 0,49$)	C3
16	12,78	Linalol	1,03 ($\pm 0,29$)	E3
17	13,16	(E,Z)-3,6-Nonadien-1-ol	1,35 ($\pm 0,22$)	B3
18	13,75	Octanoato de metila	0,87 ($\pm 0,36$)	C4
19	14,56	3-Octenoato de etila	11,09 ($\pm 3,08$)	-
20	17,78	Acetato de geranila	13,34 ($\pm 1,57$)	F1

TABELA 5.8. Continuação.

Nº DO PICO NA FIG. 5.9	T.R. (min.)	NOME DO COMPOSTO	MÉDIA PERCENTUAL (\pm EP)	ESPECTRO
21	18,07	<i>trans</i> -Cariofileno	2,42 (\pm 0,54)	F3
22	18,45	α -Copaeno	0,95 (\pm 0,37)	F2
23	19,76	α - <i>trans</i> -Bergamoteno	0,42 (\pm 0,12)	F5
24	19,99	(<i>E,E</i>)- α -Farneseno	22,13 (\pm 3,03)	F6

Somando-se os constituintes químicos identificados nos extratos de aeração e de glândulas salivares de machos de *C. capitata* de hospedeiro carambola foram obtidos 20 compostos inéditos para a espécie: 1-heptanol, 2-heptanona, acetato de 2-feniletila, 2,5-dimetilpirazina, 2,6-dimetilpirazina, 2-metil-4-heptanona, 3-octanona, hexanoato de etila, 1-nonanol, heptanoato de metila, 2-etil-1-hexanol, limoneno, 1-H-indeno, heptanoato de etila, (*E,Z*)-3,6-nonadien-1-ol, octanoato de metila, octanoato de etila, *trans*-cariofileno, α -copaeno e α -*trans*-bergamoteno. Além destes, foram também identificados o 3-octenoato de etila, o acetato de geranila, o (*E,E*)- α -farneseno e o linalol, já relatados para a espécie por Baker *et al.* (1985) e Jang *et al.* (1989), assim como o (*Z*)- β -ocimeno por este último, e o indol por Cossé *et al.* (1995).

Cinco constituintes químicos: *trans*-cariofileno, α -*trans*-bergamoteno, (*E,E*)- α -farneseno, limoneno e/ou (*Z*)- β -ocimeno foram comuns entre *C. capitata*, *A. suspensa* e *A. ludens* (Rocca *et al.*, 1992), além do 3,6-nonadien-1-ol que nas duas últimas espécies foi identificado como o isômero (*Z,Z*). Já entre *C. capitata* e *A. fraterculus* coincidiram o limoneno, o (*Z*)- β -ocimeno e a 2,5-dimetilpirazina (De Lima *et al.*, 2001).

Comparando os 26 compostos aqui apresentados para *C. capitata* com os 57 já isolados e identificados para esta espécie, segundo Cossé *et al.* (1995), a composição química dos extratos de machos de *C. capitata* revelou-se menos complexa que a relatada na literatura. Talvez estas diferenças possam ser explicadas pela variação do fruto hospedeiro, ou mesmo, sejam devidas ao fato dos insetos utilizados nos experimentos anteriormente publicados serem em sua maioria de criação massal, e, portanto, a alimentação artificial na fase larval poderia ter exercido influência nos voláteis liberados por estes machos quando adultos. Por outro lado, o pequeno número de compostos obtidos nos extratos de glândulas salivares de *C. capitata* pode estar relacionado com a fragilidade dos tecidos das referidas glândulas nesta espécie, o que pode ter causado a perda de compostos por volatilização, tanto por rompimento dos tecidos como pelo tempo despendido na tentativa de retirada integral destas estruturas.

Entre os extratos de aeração e os de secreções de glândulas salivares de machos de *C. capitata* em chamamento foram coincidentes 12 compostos: 2-heptanona, 2,5-dimetilpirazina, 3-octanona, hexanoato de etila, heptanoato de metila, 2-etil-1-hexanol, limoneno, 1-H-indeno, heptanoato de etila, octanoato de metila, α -*trans*-bergamoteno e (*E,E*)- α -farneseno. Entretanto, as

proporções dos compostos 2-heptanona, 2,5-dimetilpirazina, hexanoato de etila e (*E,E*)- α -farneseno. variaram significativamente entre as duas misturas de compostos avaliadas, como pode ser visto na **figura 5.11**.

O (*E,E*)- α -farneseno, composto majoritário nos extratos de aeração, com uma abundância relativa de 22,1 %, embora tenha se apresentado nos extratos de glândulas salivares como um dos compostos mais abundantes, sua proporção na mistura foi menor (15 %) que nos extratos anteriormente citados. Enquanto isso, a heptanona, composto de maior abundância (19,6 %) nos extratos de glândulas salivares foi encontrado nos extratos de aeração também em uma proporção menor (9,1%) na mistura. A maioria dos compostos coincidentes se apresentou com uma maior abundância relativa nos extratos de glândulas salivares que nos de aeração. A exceção, além do já citado (*E,E*)- α -farneseno, foi o limoneno, que se encontra em proporções aproximadas em ambas as misturas.

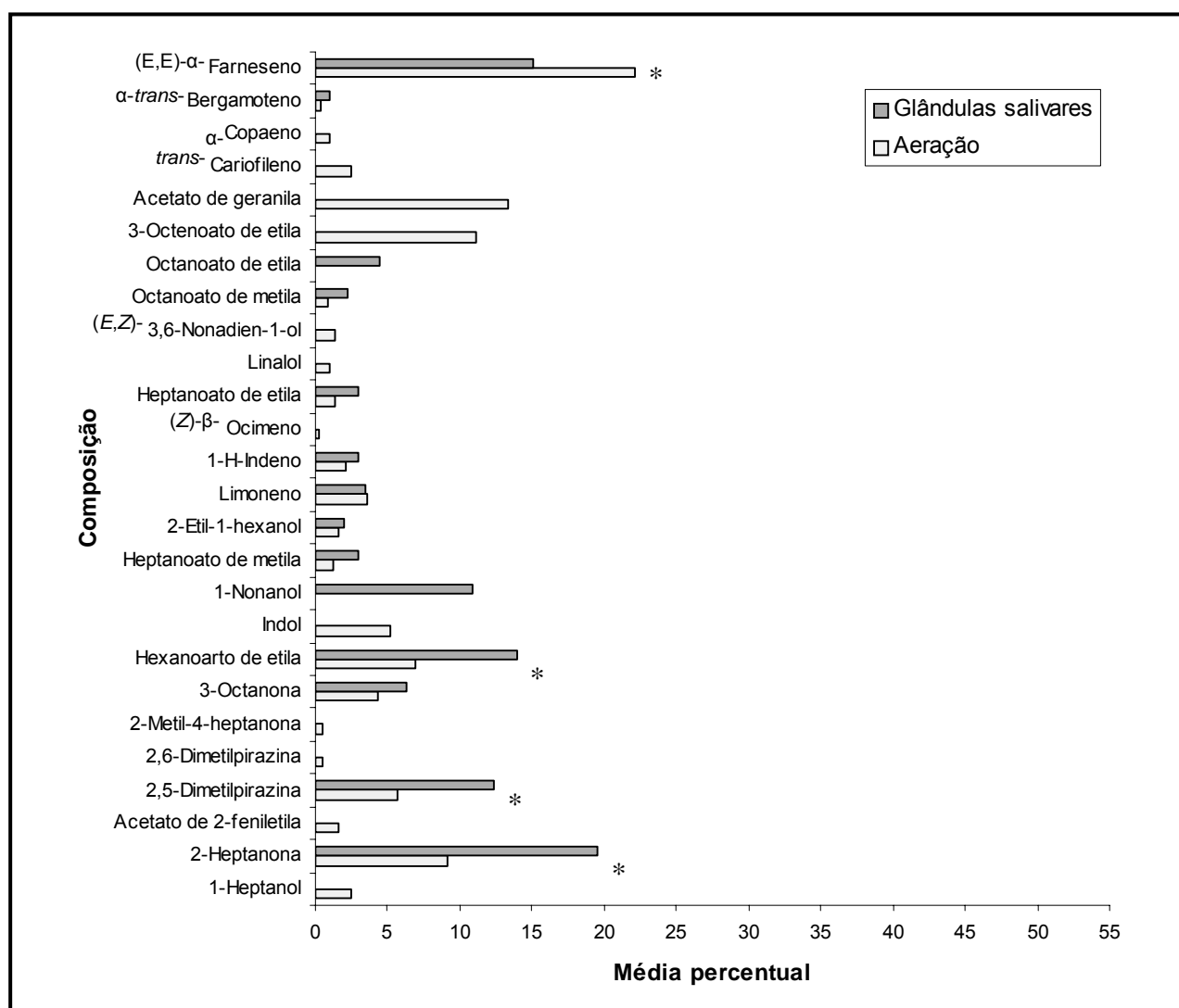


Figura 5.11. Gráfico apresentando as principais diferenças na constituição química dos extratos de aeração e de secreções de glândulas salivares de machos de *C. capitata* em chamamento (hospedeiro carambola). Barras assinaladas com asterisco representam diferenças significativas entre as médias percentuais dos componentes individuais pelo teste *t* ao nível de 5% de probabilidade.

Apesar das diferenças observadas quanto à concentração dos compostos coincidentes, as similaridades encontradas na composição dos extratos de aeração e de glândulas salivares de machos de *C. capitata* de hospedeiro carambola (12 compostos coincidentes dos 24 identificados nos extratos de aeração) nos permitem sugerir que estas glândulas são provavelmente o local de síntese e armazenamento dos compostos coincidentes. Estudos detalhados de estrutura/ função destas glândulas e da origem biossintética destes compostos para *C. capitata* serão necessários para a confirmação dessa hipótese.

Observou-se que foram exclusivos dos extratos de aeração 12 compostos voláteis: os álcoois 1-heptanol, linalol e (*E,Z*)-3,6-nonadien-1-ol; os ésteres acetato de feniletila e 3-octanoato de etila; os compostos nitrogenados 2,6-dimetilpirazina e indol; a cetona 2-metil-4-heptanona; o monoterpene (*Z*)- β -ocimeno; e os sesquiterpenos acetato de geranila, *trans*-cariofileno e α -copaeno. Por outro lado, foram encontrados somente nos extratos de glândulas salivares 2 constituintes voláteis: o álcool 1-nonanol e o éster octanoato de etila.

O fato de compostos já descritos como feromônios de espécies de tefritídeos como (*E,Z*)-3,6-nonadien-1-ol, linalol, (*Z*)- β -ocimeno, acetato de geranila, *trans*-cariofileno, e α -copaeno dos terem sido identificados apenas nos extratos de aeração, sugere que estes compostos têm outro sítio de síntese e estocagem no organismo dos insetos de *C. capitata*. A ausência do nonadienol nas glândulas salivares é concordante com a hipótese de Nation (1990) de que os nonenóis em *A. suspensa* estariam estocados no intestino. Segundo este autor, os sesquiterpenos derivados da glândula salivar, como o α -*trans*-bergamonteno e (*E,E*)- α -farneseno, também identificados no presente experimento, seriam liberados a partir da probóscide, enquanto os nonenóis seriam liberados pela bolsa anal. Quanto ao (*Z*)- β -ocimeno, talvez estes insetos possam converter parte do limoneno contido nas citadas glândulas neste seu isômero.

Ao comparar a composição dos extratos de aeração e de secreções de glândulas salivares de machos em chamamento de *C. capitata* com a de extratos de aeração de seu fruto hospedeiro, *A. carambola* (carambola), no estágio de maturação preferencial para oviposição, o completamente maduro, foram coincidentes apenas 2 compostos: a 2-heptanona e o octanoato de metila. No entanto, as proporções relativas dos compostos similares nestes extratos, principalmente as do primeiro composto, apresentaram visíveis variações, como pode ser observado na **figura 5.12**.

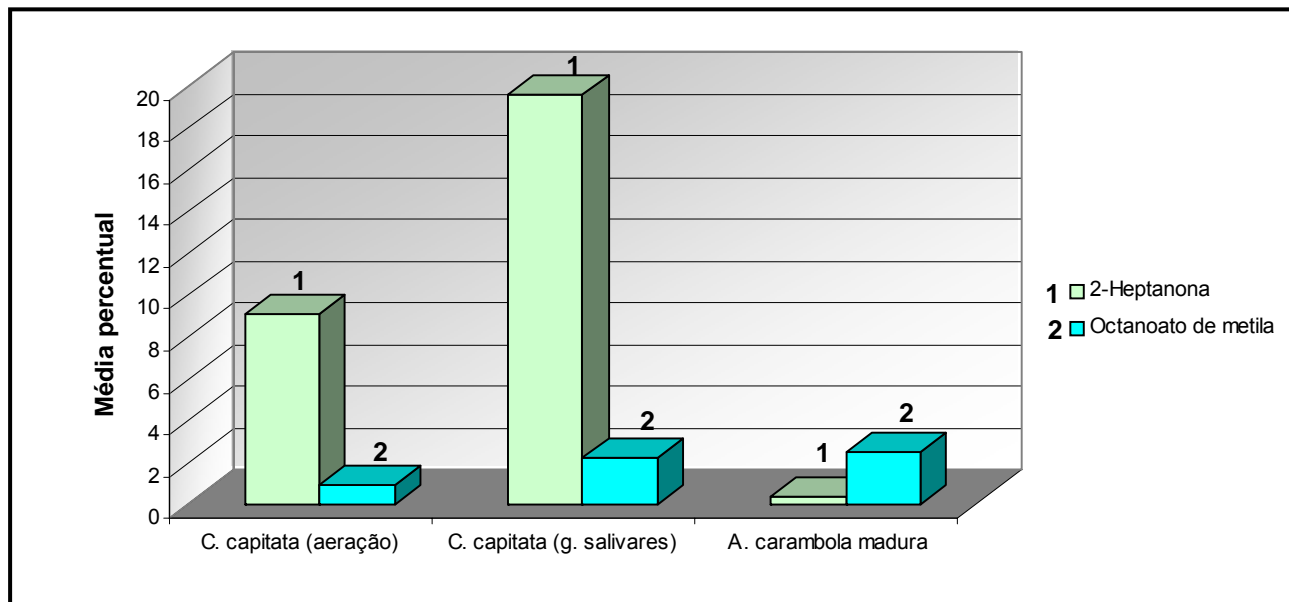


Figura 5.12. Gráfico apresentando as principais diferenças nas proporções relativas dos compostos similares nos extratos de aeração e de secreções de glândulas salivares de machos de *C. capitata* em chamamento e naqueles de aeração de seu hospedeiro *A. carambola* (carambola) no estágio de maturação completamente maduro.

A constatação de que apenas 2 dos 27 compostos identificados nos extratos do fruto hospedeiro, a carambola, no estágio de maturação preferido por fêmeas da espécie para oviposição, o maduro, foram coincidentes com os identificados nos extratos de secreções de glândulas salivares de machos de *C. capitata*, sugere que para esta espécie o impedimento físico da fragilidade do ovipositor poderia ter maior influência na escolha do estágio de maturação do fruto hospedeiro que a atração dos constituintes químicos do fruto.

5.4.2. MACHOS DE *A. obliqua*

Os extratos de secreções de glândulas salivares de machos de *A. obliqua* em chamamento, oriundos de frutos de manga, apresentaram uma mistura de 22 compostos voláteis constituída de ésteres (5), cetonas (6), compostos nitrogenados (2), álcoois (4), sesquiterpenos (2), um monoterpene, um aldeído e um hidrocarboneto. O composto mais abundante foi o éster hexanoato de etila (pico 6), seguido pelas cetonas 2-heptanona (pico 1) e 3-octanona (pico 5), pelo éster octanoato de etila (pico 19), pelo composto nitrogenado 2,5-dimetilpirazina (pico 2) e pelo monoterpene limoneno (pico 9). Além destes, destacaram-se na mistura os ésteres heptanoato de metila (pico 7) e de etila (pico 13) e o álcool 2-etil-1-hexanol (pico 8). Observou-se também a presença dos sesquiterpenos α -*trans*-bergamoteno (pico 21) e (*E,E*)- α -farneseno (pico 22), como pode ser evidenciado na **figura 5.13** e na **tabela 5.9**.

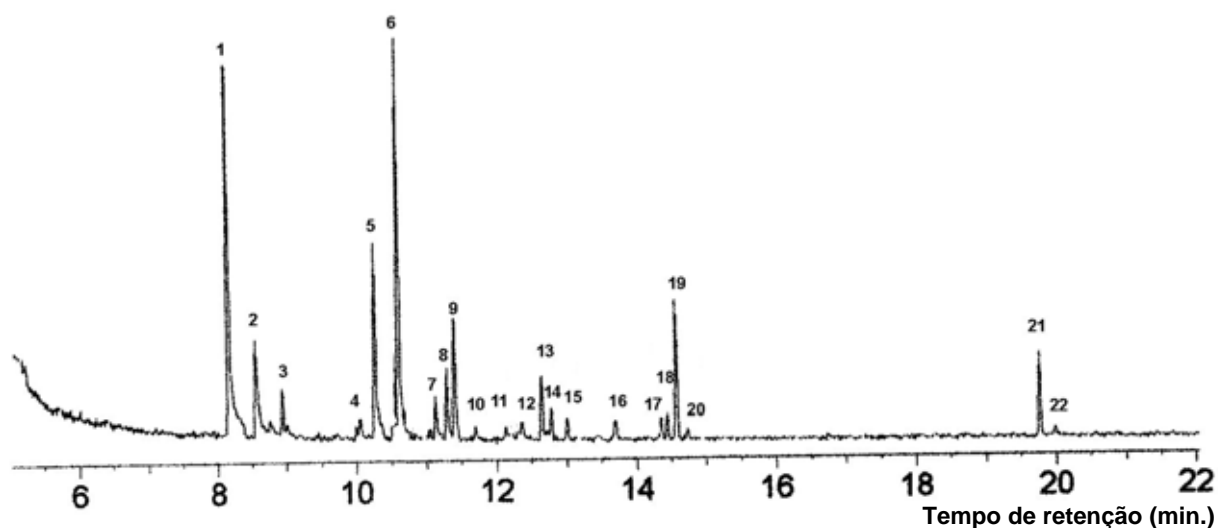


Figura 5.13. Cromatograma apresentando os constituintes voláteis presentes nos extratos de glândulas salivares de machos de *A. obliqua* (hospedeiro manga) em chamamento. Identificação dos compostos na tabela 5.9.

TABELA 5.9. Compostos voláteis presentes em extratos de glândulas salivares de machos de *A. obliqua* (hospedeiro manga) em chamamento. A proporção de cada composto na mistura de voláteis identificada é dada como média percentual ($n=8 \pm EP$). Os espectros de massas dos compostos são apresentados no anexo nº 2.

Nº DO PICO NA FIG. 5.13	T.R. (min.)	NOME DO COMPOSTO	MÉDIA PERCENTUAL ($\pm EP$)	ESPECTRO
1	8,15	2-Heptanona	21,29 ($\pm 6,91$)	A3
2	8,55	2,5-Dimetilpirazina	4,59 ($\pm 0,83$)	G1
3	8,93	2-Metil-4-heptanona	1,97 ($\pm 0,57$)	A4
4	9,99	1-Heptanol	1,44 ($\pm 0,42$)	B1
5	10,26	3-Octanona	7,89 ($\pm 2,59$)	A5
6	10,59	Hexanoato de etila	29,84 ($\pm 4,35$)	C1
7	11,12	Heptanoato de metila	3,53 ($\pm 0,77$)	C2
8	11,28	2-Etil-1-hexanol	3,27 ($\pm 0,68$)	B2
9	11,39	Limoneno	4,33 ($\pm 1,01$)	E1
10	11,60	1-H-Indeno	0,76 ($\pm 0,24$)	D1
11	12,12	1-Octanol	1,00 ($\pm 0,56$)	-
12	12,29	3-Etil-2,5-dimetilpirazina	1,37 ($\pm 0,43$)	G2
13	12,64	Heptanoato de etila	2,95 ($\pm 0,74$)	C3
14	12,74	1-Nonanol	1,05 ($\pm 0,31$)	-
15	13,15	Octanoato de metila	1,94 ($\pm 0,67$)	C4
16	13,68	1-Fenil propanona	0,98 ($\pm 0,61$)	-
17	14,34	3-Decanona	0,98 ($\pm 0,34$)	-
18	14,43	2-Decanona	1,81 ($\pm 0,68$)	-
19	14,56	Octanoato de etila	4,66 ($\pm 1,03$)	C5
20	14,71	Hexanal	0,39 ($\pm 0,16$)	-
21	19,75	α -trans-Bergamoteno	2,92 ($\pm 0,38$)	F5
22	19,98	(E,E)- α -Farneseno	0,48 ($\pm 0,17$)	F6

Os machos de *A. obliqua*, cujo hospedeiro das formas larvais foi manga, quando em chamamento, liberaram uma mistura de 19 compostos voláteis constituída de álcoois (3), ésteres (2), cetonas (4), mono (2) e sesquiterpenos (7), e um hidrocarboneto. O composto mais abundante foi o álcool 1-heptanol (pico 4), seguido pelas cetonas 3-hexanona (pico 1) e 2-hexanona (pico 2), pelo éster hexanoato de etila (pico 6) e pelos sesquiterpenos *trans*-cariofileno (pico 16) e α -copaeno (pico 14). Destacou-se também a presença do álcool de terpeno linalol (pico 10) e do álcool insaturado (*E,Z*)-3,6-nonadien-1-ol (pico 11). Além disso, observou-se a presença dos sesquiterpenos α -*trans*-bergamoteno (pico 18) e (*E,E*)- α -farneseno (pico 19). Os monoterpênos característicos dos voláteis destes machos foram o limoneno (pico 8) e o linalol (pico 10). Os resultados podem ser observados na **figura 5.14** e da **tabela 5.10**.

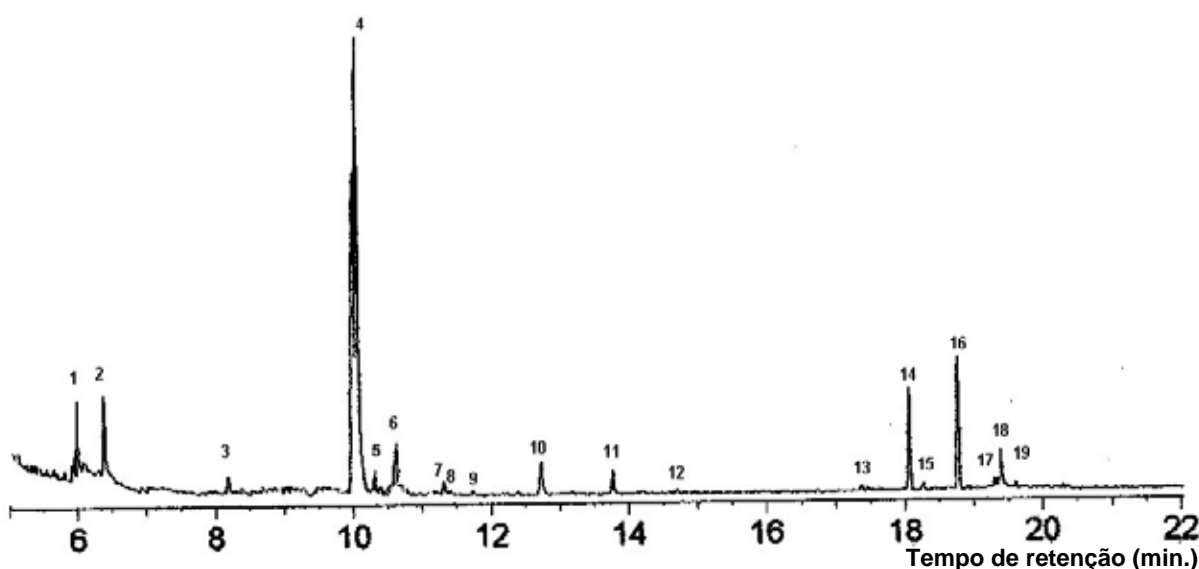


Figura 5.14. Cromatograma apresentando os constituintes voláteis presentes nos extratos de aeração de machos de *A. obliqua* (hospedeiro manga) em chamamento. Identificação dos compostos na tabela 5.10.

TABELA 5.10. Compostos voláteis presentes em extratos de aeração de machos de *A. obliqua* (hospedeiro manga) em chamamento. A proporção de cada composto na mistura de voláteis identificada é dada como média percentual ($n=8 \pm EP$). Os espectros de massas dos compostos são apresentados no anexo nº 2.

Nº DO PICO NA FIG. 5.14	T.R. (min.)	NOME DO COMPOSTO	MÉDIA PERCENTUAL ($\pm EP$)	ESPECTRO
1	5,93	3-Hexanona	10,08 ($\pm 3,32$)	A1
2	6,45	2-Hexanona	10,21 ($\pm 3,21$)	A2
3	8,17	2-Heptanona	1,25 ($\pm 0,61$)	A3
4	10,07	1-Heptanol	51,02 ($\pm 3,97$)	B1
5	10,31	3-Octanona	1,38 ($\pm 0,54$)	A5
6	10,63	Hexanoato de etila	6,54 ($\pm 0,92$)	C1
7	11,30	2-Etil-1-hexanol	0,97 ($\pm 0,33$)	B2
8	11,42	Limoneno	t	E1

TABELA 5.10. Continuação.

Nº DO PICO NA FIG. 5.13	T.R. (min.)	NOME DO COMPOSTO	MÉDIA PERCENTUAL (\pm EP)	ESPECTRO
9	11,60	1-H-Indeno	t	D1
10	12,73	Linalol	2,07 (\pm 0,74)	E3
11	13,78	(<i>E,Z</i>)-3,6-Nonadien-1-ol	1,49 (\pm 0,29)	B3
12	14,61	Octanoato de etila	0,35 (\pm 0,33)	C3
13	17,37	δ -Elemeno	0,32 (\pm 0,21)	-
14	18,07	α -Copaeno	4,89 (\pm 1,46)	F2
15	18,27	β -Elemeno	0,47 (\pm 0,27)	-
16	18,77	<i>trans</i> -Cariofileno	6,26 (\pm 1,52)	F3
17	19,30	α -Humuleno	0,61 (\pm 0,13)	F4
18	19,45	α - <i>trans</i> -Bergamoteno	1,57 (\pm 0,68)	F5
19	19,63	(<i>E,E</i>)- α -Farneseno	0,43 (\pm 0,19)	F6

t: compostos presentes na mistura numa proporção média inferior a 0,02%.

Os extratos de secreções de glândulas salivares de machos de *A. obliqua* em chamamento, oriundos de frutos de carambola, apresentaram uma mistura de 20 compostos voláteis constituída de ésteres (5), cetonas (6), compostos nitrogenados (2), sesquiterpenos (2) álcoois (4) e um monoterpene. O composto mais abundante foi o éster hexanoato de etila (pico 9), seguido pela cetona 2-heptanona (pico 1), pelo composto nitrogenado 2,5-dimetilpirazina (pico 2), pela cetona 3-octanona (pico 7) e pelo sesquiterpene α -*trans*-bergamoteno (pico 19). Destacou-se também a presença do monoterpene limoneno (pico 12), do álcool 1-heptanol (pico 6) e do composto nitrogenado 2,6-dimetilpirazina (pico 3). Além desses, foi identificado o sesquiterpene (*E,E*)- α -farneseno (pico 20), como pode ser visto na **figura 5.15** e na **tabela 5.11**.

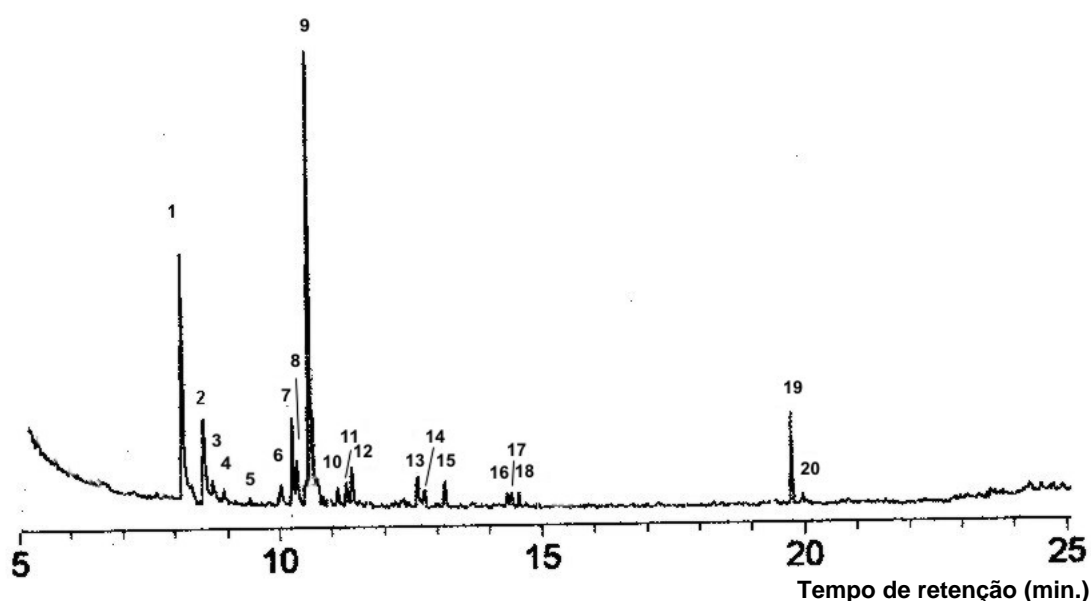


Figura 5.15. Cromatograma apresentando os constituintes voláteis presentes nos extratos de glândulas salivares de machos de *A. obliqua* (hospedeiro carambola) em chamamento. Identificação dos compostos na tabela 5.11.

TABELA 5.11. Compostos voláteis presentes em extratos de glândulas salivares de machos de *A. obliqua* (hospedeiro carambola) em chamamento. A proporção de cada composto na mistura de voláteis identificada é dada como média percentual ($n=8 \pm EP$). Os espectros de massas dos compostos são apresentados no anexo nº 2.

Nº DO PICO NA FIG. 5.15	T.R. (min.)	NOME DO COMPOSTO	MÉDIA PERCENTUAL ($\pm EP$)	ESPECTRO
1	8,14	2-Heptanona	19,71 ($\pm 6,12$)	A3
2	8,54	2,5-Dimetilpirazina	8,63 ($\pm 1,54$)	G1
3	8,71	2,6-Dimetilpirazina	2,97 ($\pm 0,51$)	-
4	8,93	2-Metil-4-heptanona	0,84 ($\pm 0,12$)	A4
5	9,87	4-Metil-3-heptanol	0,53 ($\pm 0,13$)	-
6	10,03	1-Heptanol	2,91 ($\pm 1,01$)	B1
7	10,25	3-Octanona	5,89 ($\pm 1,37$)	A5
8	10,33	2-Octanona	3,79 ($\pm 1,20$)	-
9	10,59	Hexanoato de etila	31,01 ($\pm 7,78$)	C1
10	11,11	Heptanoato de metila	1,72 ($\pm 0,33$)	C2
11	11,27	2-Etil-1-hexanol	2,06 ($\pm 0,69$)	B2
12	11,37	Limoneno	3,01 ($\pm 0,82$)	E1
13	12,62	Heptanoato de etila	2,31 ($\pm 0,61$)	C3
14	12,76	1-Nonanol	1,88 ($\pm 0,73$)	-
15	13,14	Octanoato de metila	2,01 ($\pm 0,68$)	C4
16	14,33	3-Decanona	1,43 ($\pm 0,25$)	-
17	14,41	2-Decanona	1,31 ($\pm 0,79$)	-
18	14,55	Octanoato de etila	1,21 ($\pm 0,13$)	C5
19	19,74	α -trans-Bergamoteno	5,63 ($\pm 1,19$)	F5
20	19,96	(E,E)- α -Farneseno	0,83 ($\pm 0,26$)	F6

Os machos de *A. obliqua*, cujo hospedeiro das formas larvais foi carambola, quando em chamamento, liberaram uma mistura de 23 compostos voláteis constituída de álcoois (4), ésteres (3), cetonas (5), mono (3) e sesquiterpenos (5), hidrocarbonetos (2) e um composto nitrogenado. O composto mais abundante foi o álcool 1-heptanol (pico 5), seguido pelo éster hexanoato de etila (pico 7), pelo álcool de terpeno linalol (pico 13) e pelas cetonas 3-octanona (pico 6) e 2-heptanona (pico 2). Destacou-se também a presença do hidrocarboneto insaturado 1-octeno (pico 1) e o sesquiterpeno α -*trans*-bergamoteno (pico 22). Os monoterpenos característicos nos voláteis destes machos foram o limoneno (pico 11) e o (*Z*)- β -ocimeno (pico 12). Foi observada a presença do composto nitrogenado 2,5-dimetilpirazina (pico 3) e do sesquiterpeno (*E,E*)- α -farneseno (pico 23) nestes extratos de aeração. Estes resultados podem ser observados na **figura 5.16** e na **tabela 5.12**.

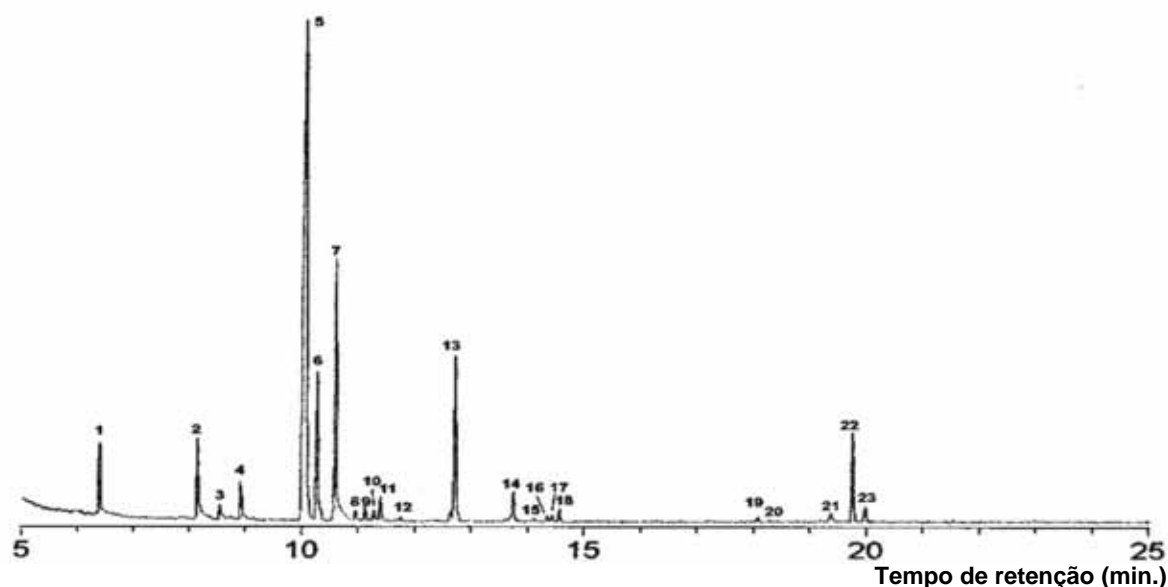


Figura 5.16. Cromatograma apresentando os constituintes voláteis presentes nos extratos de aeração de machos de *A. obliqua* (hospedeiro carambola) em chamamento. Identificação dos compostos na tabela 5.12.

TABELA 5.12. Compostos voláteis presentes em extratos de aeração de machos de *A. obliqua* (hospedeiro carambola) em chamamento. A proporção de cada composto na mistura de voláteis identificada é dada como média percentual ($n=8 \pm EP$). Os espectros de massas dos compostos são apresentados no anexo nº 2.

Nº DO PICO NA FIG. 5.16	T.R. (min.)	NOME DO COMPOSTO	MÉDIA PERCENTUAL ($\pm EP$)	ESPECTRO
1	6,40	1-Octeno	4,10 ($\pm 1,12$)	-
2	8,15	2-Heptanona	4,31 ($\pm 0,79$)	A3
3	8,55	2,5-Dimetilpirazina	1,13 ($\pm 0,38$)	G1
4	8,92	2-Metil-4-heptanona	1,96 ($\pm 0,65$)	A4
5	10,08	1-Heptanol	44,46 ($\pm 8,17$)	B1
6	10,28	3-Octanona	7,46 ($\pm 2,44$)	A5
7	10,61	Hexanoato de etila	17,57 ($\pm 4,17$)	C1
8	10,96	Decano	0,49 ($\pm 0,19$)	-
9	11,13	Heptanoato de metila	0,72 ($\pm 0,16$)	C2
10	11,29	2-Etil-1-hexanol	0,51 ($\pm 0,11$)	B2
11	11,40	Limoneno	1,05 ($\pm 0,31$)	E1
12	11,75	(Z)- β -Ocimeno	0,38 ($\pm 0,12$)	E2
13	12,72	Linalol	7,98 ($\pm 1,63$)	E3
14	13,75	(E,Z)-3,6-Nonadien-1-ol	1,78 ($\pm 0,26$)	B3
15	14,09	1-Nonanol	t	-
16	14,35	3-Decanona	0,30 ($\pm 0,07$)	-
17	14,43	2-Decanona	0,35 ($\pm 0,19$)	-
18	14,57	Octanoato de etila	0,53 ($\pm 0,11$)	C5
19	18,08	α -Copaeno	0,21 ($\pm 0,03$)	F2
20	18,24	β -Elemeno	t	-

TABELA 5.12. Continuação.

No DO PICO NA FIG. 5.15	T.R. (min.)	NOME DO COMPOSTO	MÉDIA PERCENTUAL (\pm EP)	ESPECTRO
21	19,37	Acetato de geranila	0,73 (\pm 0,25)	F1
22	19,76	α -trans-Bergamoteno	3,20 (\pm 0,77)	F5
23	19,98	(E,E)- α -Farneseno	0,74 (\pm 0,29)	F6

t: compostos presentes na mistura numa proporção média inferior a 0,02%.

A composição química dos extratos de machos de *A. obliqua* em chamamento se apresentou excepcionalmente mais rica que a obtida por Heath et al. (2000), que identificaram o (Z)-3-nonanol, o (E,Z)- α -farneseno e o (E,E)- α -farneseno nos voláteis de machos desta espécie, e por Ibañez-López e Cruz-López (2001), que identificaram apenas o (E,Z)- α -farneseno e o (E,E)- α -farneseno nas glândulas salivares destes. Foi também superior, em número de compostos identificados, a obtida em Gonçalves (2001). Somando-se os constituintes químicos identificados nos extratos de aeração e de glândulas salivares de machos de *A. obliqua* de ambos hospedeiros foram obtidos 18 compostos inéditos para a espécie: 1-octeno, 2,5-dimetilpirazina, 2,6-dimetilpirazina, 2-metil-4-heptanona, 4-metil-3-heptanol, decano, heptanoato de metila, limoneno, 1-H-indeno, 1-octanol, 3-etil-2,5-dimetilpirazina, heptanoato de etila, 1-fenilpropanona, 3-decanona, 2-decanona, octanoato de etila, hexanal, acetato de geranila. além destes, foram também identificados (E,E)- α -farneseno, já relatado para a espécie por Heath et al. (2000) e Ibañez-López e Cruz-López (2001), e 3-hexanona, 2-hexanona, 2-heptanona, 1-heptanol, 3-octanona, 2-octanona, hexanoato de etila, 2-etil-1-hexanol, (Z)- β -ocimeno, linalol, (E,Z)-3,6-nonadien-1-ol, 1-nonanol, octanoato de metila, β -elemeno, δ -elemeno, *trans*-cariofileno, α -copaeno, α -*trans*-bergamoteno e α -humuleno identificados em Gonçalves (2001).

Quatro constituintes químicos: α -*trans*-bergamoteno, (E,E)- α -farneseno, limoneno e/ou (Z)- β -ocimeno foram comuns entre *A. obliqua* e as duas espécies mais estudadas do gênero: *A. suspensa* e *A. ludens* (Rocca et al., 1992), além do 3,6-nonadien-1-ol que nas citadas espécies foi identificado como o isômero (Z,Z). Já entre *A. obliqua* e a espécie *A. fraterculus* coincidiram o limoneno e o (Z)- β -ocimeno, bem como as pirazinas 2,5-dimetilpirazina e 3-etil-2,5-dimetilpirazina (Lima et al., 2001). Entretanto, as lactonas isoméricas anastrefina, epianastrefina e suspensolídeo encontradas em *A. suspensa*, *A. ludens* e *A. fraterculus*, não foram detectadas nos extratos de *A. obliqua*.

Entre os extratos de aeração e os de secreções de glândulas salivares de machos de *A. obliqua* em chamamento, provenientes de frutos de manga, foram coincidentes 10 constituintes químicos voláteis: 2-heptanona, 1-heptanol, 3-octanona, hexanoato de etila, 2-etil-1-hexanol, limoneno, 1-H-indeno, octanoato de etila, α -*trans*-bergamoteno e (E,E)- α -farneseno. No entanto, as proporções dos compostos 2-heptanona, 1-heptanol, 3-octanona, hexanoato de etila, 2-etil-1-

hexanol, limoneno e octanoato de etila variaram significativamente nos dois tipos de extrato, como pode ser observado na **figura 5.17**.

O 1-heptanol, composto majoritário nos extratos de aeração, com uma abundância relativa de 51 %, se apresenta nos extratos de glândulas salivares em uma proporção de 1,4 % da mistura. Já o hexanoato de etila, o composto de maior abundância (30 %) nos extratos de glândulas salivares foi encontrado nos extratos de aeração em uma proporção de 6,5 % da mistura. Os demais compostos coincidentes se apresentaram numa maior abundância relativa nos extratos de glândulas salivares que nos de aeração, com exceção do (*E,E*)- α -farneseno que se encontra em proporções aproximadas em ambas misturas.

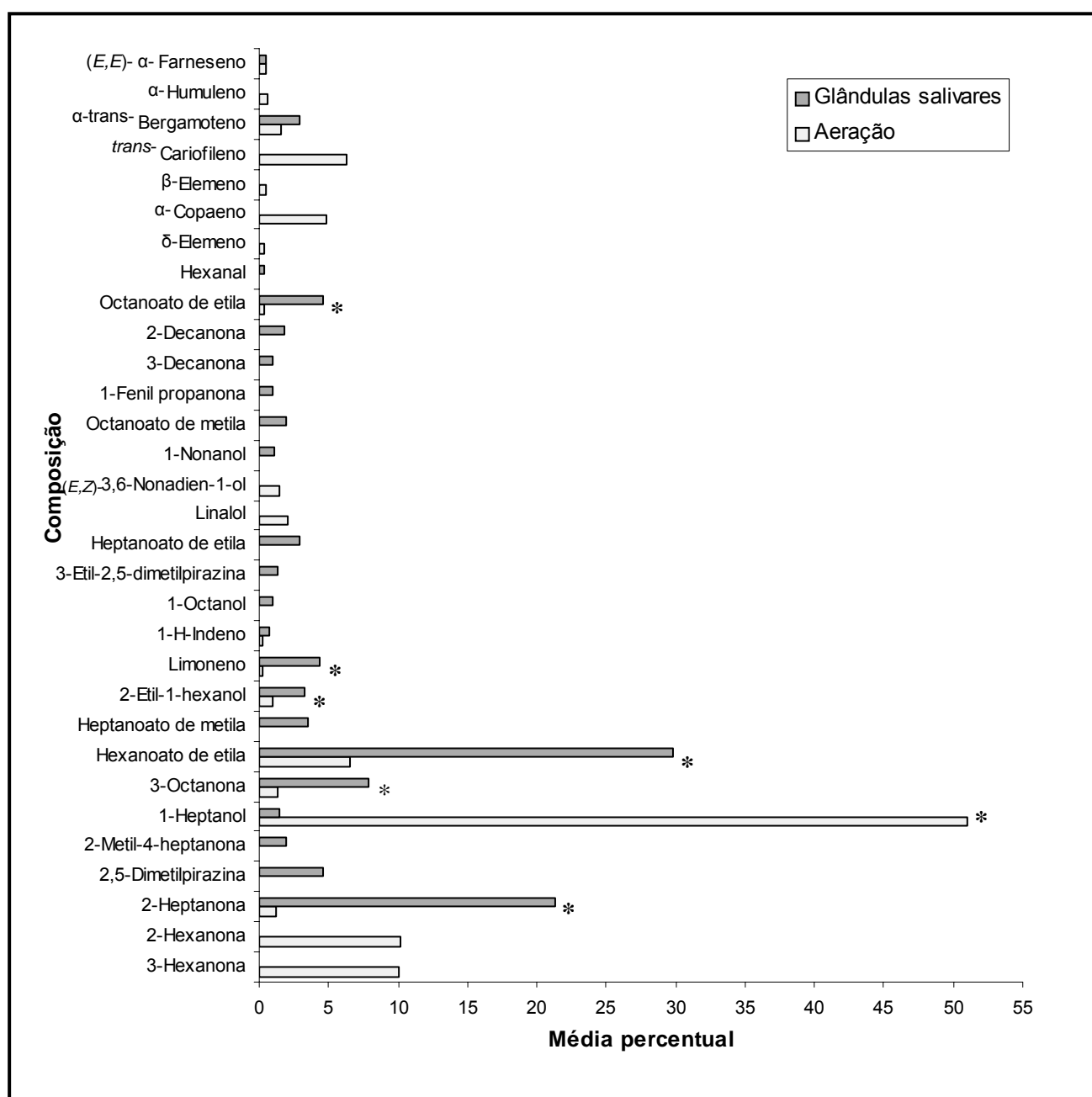


Figura 5.17. Gráfico apresentando as principais diferenças na constituição química dos extratos de aeração e de secreções de glândulas salivares de machos de *A. obliqua* em chamamento (hospedeiro manga). Barras assinaladas com asterisco representam diferenças significativas entre as médias percentuais dos componentes individuais pelo teste *t* ao nível de 5% de probabilidade.

Foram exclusivos dos extratos de aeração 9 compostos voláteis: as cetonas 3-hexanona e 2-hexanona; os álcoois linalol e (*E,Z*)-3,6-nonadien-1-ol; e os sesquiterpenos δ -elemeno, α -copaeno, β -elemeno, *trans*-cariofileno, α -humuleno. Por outro lado, foram encontrados somente nos extratos de glândulas salivares 12 constituintes voláteis: os compostos nitrogenados 2,5-dimetilpirazina e 3-etil-2,5-dimetilpirazina; as cetonas 2-metil-4-heptanona, 1-fenil-propanona, 3-decanona e 2-decanona; os álcoois 1-octanol e 1-nonanol; os ésteres heptanoato de metila, heptanoato de etila e octanoato de metila; e o aldeído hexanal.

Entre os extratos de aeração e os de secreções de glândulas salivares de machos de *A. obliqua* em chamamento, provenientes de frutos de carambola, foram coincidentes 15 compostos: 2-heptanona, 2,5-dimetilpirazina, 2-metil-4-heptanona, 1-heptanol, 3-octanona, hexanoato de etila, heptanoato de metila, 2-etil-1-hexanol, limoneno, 1-nonanol, 3-decanona, 2-decanona, octanoato de etila, α -*trans*-bergamoteno e (*E,E*)- α -farneseno. Entretanto, as proporções dos compostos 2-heptanona, 2,5-dimetilpirazina, 1-heptanol, hexanoato de etila, 1-nonanol variaram significativamente entre as duas misturas de compostos avaliadas, como pode ser visto na **figura 5.18**.

O 1-heptanol, composto majoritário nos extratos de aeração, com uma abundância relativa de 44,5 %, de modo análogo ao ocorrido com insetos desta espécie provenientes de frutos de *M. indica*, se apresentou nos extratos de glândulas salivares em uma proporção menor (2,9 %) na mistura. Enquanto isso, o hexanoato de etila, composto de maior abundância (31 %) nos extratos de glândulas salivares foi encontrado nos extratos de aeração também em uma proporção menor (17,6 %) na mistura, embora a diferença na proporção tenha sido menor que a observada nos insetos do hospedeiro anterior. Os demais compostos coincidentes se apresentaram numa maior abundância relativa nos extratos de glândulas salivares que nos de aeração, com exceção do (*E,E*)- α -farneseno que se encontra em proporções aproximadas em ambas as misturas, e das cetonas 2-metil-4-heptanona e 3-octanona, cujas médias percentuais foram maiores nos extratos de aeração.

Foram exclusivos dos extratos de aeração 7 compostos voláteis: os hidrocarbonetos 1-octeno e decano; o monoterpeneo (*Z*)- β -ocimeno; os álcoois linalol e (*E,Z*)-3,6-nonadien-1-ol; e os sesquiterpenos α -copaeno, β -elemeno, acetato de geranila. Por outro lado, foram encontrados somente nos extratos de glândulas salivares 5 constituintes voláteis: o composto nitrogenado 2,6-dimetilpirazina; o álcool 4-metil-3-heptanol; a cetona 2-octanona; e os ésteres heptanoato de etila, e octanoato de metila.

A despeito das diferenças observadas quanto à concentração dos compostos coincidentes, as similaridades encontradas entre a composição dos extratos de aeração e os de glândulas salivares de machos de *A. obliqua*, tanto de hospedeiro manga (10 compostos coincidentes dos 19 identificados nos extratos de aeração) quanto de hospedeiro carambola (15 compostos

coincidentes dos 23 identificados nos extratos de aeração) nos permitem sugerir que estas glândulas são provavelmente o local de síntese e armazenamento dos compostos coincidentes.

De modo análogo ao visto em *C. capitata*, o fato dos álcoois linalol e (*E,Z*)-3,6-nonadien-1-ol; do monoterpene (*Z*)- β -ocimeno; e dos sesquiterpenos acetato de geranila, *trans*-cariofileno e α -copaeno; serem identificados apenas nos extratos de aeração de machos de *A. obliqua*, sugere que estes compostos têm realmente outro sítio de síntese e estocagem no organismo dos insetos dos gêneros *Ceratitis* e *Anastrepha*, e confirma a hipótese de Nation (1990) quanto aos nonenóis.

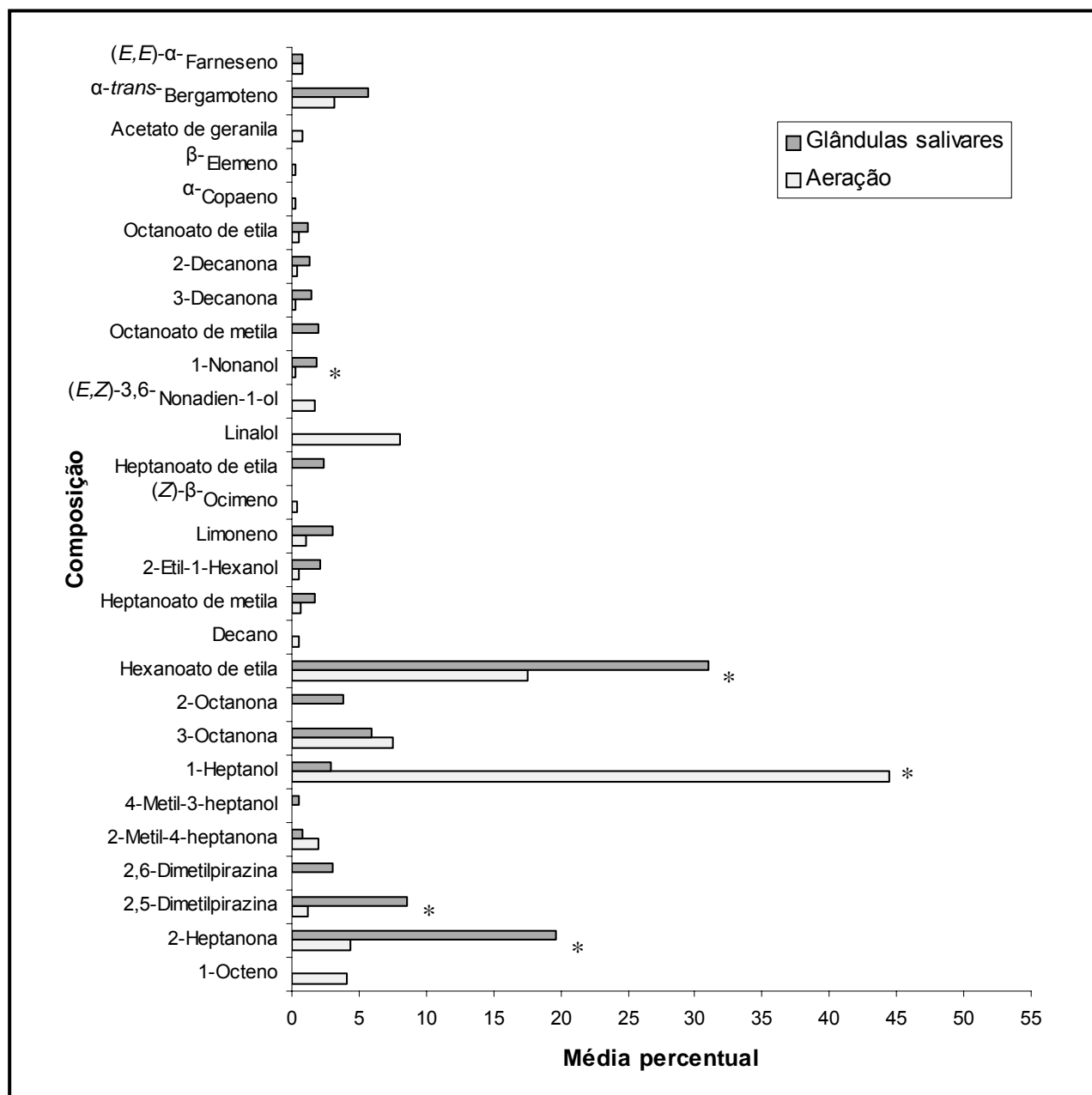


Figura 5.18. Gráfico apresentando as principais diferenças na constituição química dos extratos de aeração e de secreções de glândulas salivares de machos de *A. obliqua* em chamamento (hospedeiro carambola). Barras assinaladas com asterisco representam diferenças significativas entre as médias percentuais dos componentes individuais pelo teste *t* ao nível de 5% de probabilidade.

Comparando a composição dos extratos de secreções de glândulas salivares de machos em chamamento de *A. obliqua* de hospedeiro *M.indica* (manga) com aqueles de hospedeiro *A. carambola* (carambola) foram coincidentes 17 compostos: 2-heptanona, 2,5-dimetilpirazina, 2-metil-4-heptanona, 1-heptanol, 3-octanona, hexanoato de etila, heptanoato de metila, 2-etil-1-hexanol, limoneno, heptanoato de etila, 1-nonanol, octanoato de metila, 3-decanona, 2-decanona, octanoato de etila, α -*trans*-bergamoteno e (*E,E*)- α -farneseno. No entanto, as proporções dos compostos 2,5-dimetilpirazina e octanoato de etila apresentaram variações significativas entre as duas misturas de compostos avaliadas, como pode ser observado na **figura 5.19**.

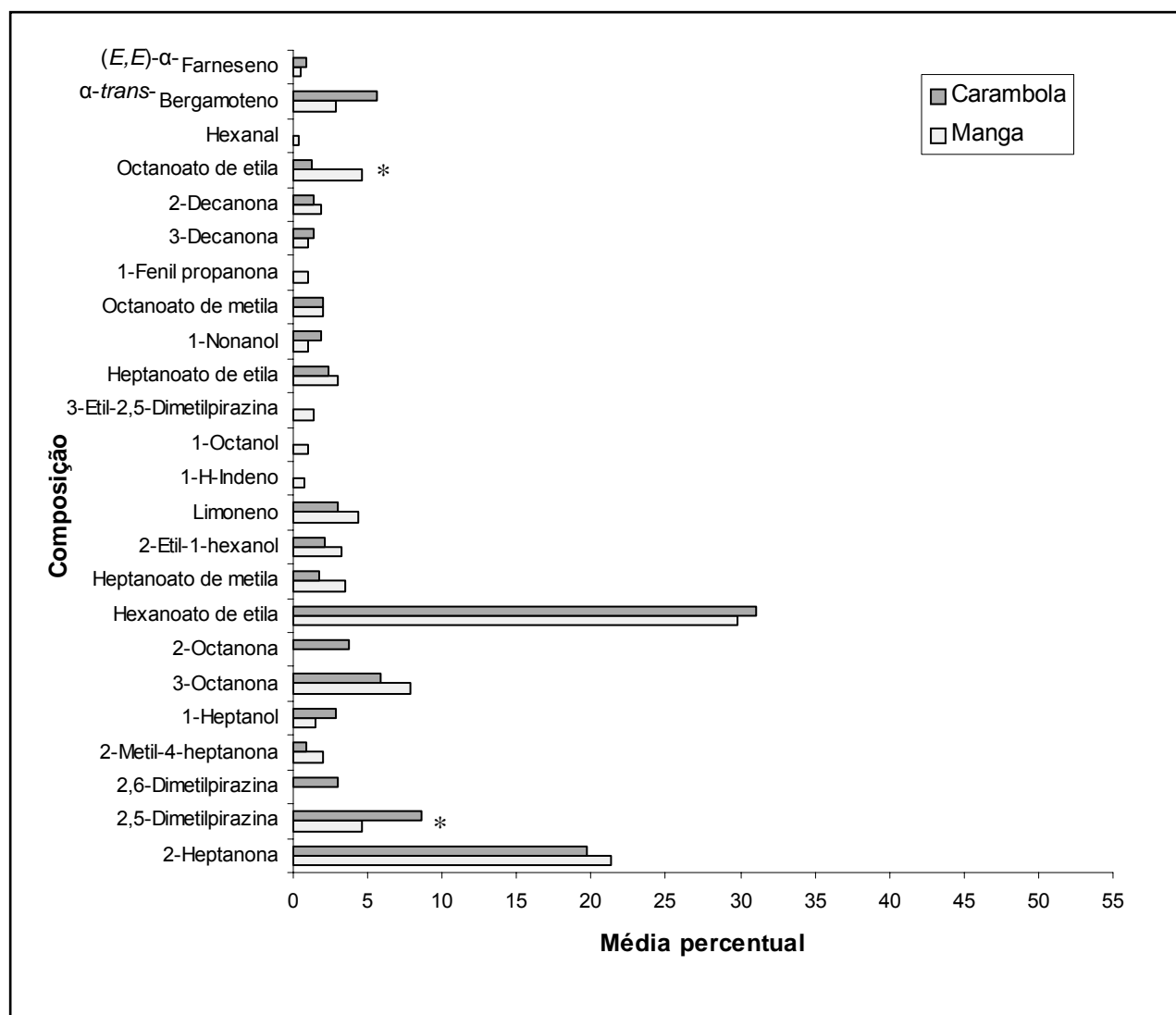


Figura 5.19. Gráfico apresentando as principais diferenças na constituição química dos extratos de secreções de glândulas salivares de machos de *A. obliqua* em chamamento de hospedeiro manga e carambola. Barras assinaladas com asterisco representam diferenças significativas entre as médias percentuais dos componentes individuais pelo teste *t* ao nível de 5% de probabilidade.

A maioria dos compostos coincidentes apresentou uma maior abundância relativa nos extratos de machos provenientes de manga. Foram exceções o octanoato de metila, que se encontra em proporções aproximadas em ambas as misturas, e a 2,5-dimetilpirazina, o 1-

heptanol, o hexanoato de etila, o 1-nonanol, a 3-decanona, o α -*trans*-bergamoteno e o (*E,E*)- α -farneseno, cujas médias percentuais foram maiores nos extratos de machos provenientes de carambola.

Foram exclusivos dos extratos de glândulas salivares de machos oriundos de manga 5 compostos voláteis: o 1-H-indeno, o 1-octanol, a 3-etil-2,5-dimetilpirazina, a 1-fenilpropanona e o hexanal. Por outro lado, foram encontrados somente nos extratos de glândulas salivares de machos oriundos de carambola 2 constituintes voláteis: a 2,6-dimetilpirazina e a 2-octanona.

O pequeno número de compostos (2) com variação significativa no percentual médio observado na comparação entre os extratos de secreções de glândulas salivares de machos de *A. obliqua* dos dois hospedeiros quando confrontado com as variações observadas nas comparações de extratos de aeração e de glândulas salivares de machos de cada hospedeiro sugere uma regularidade na composição de extratos de glândulas salivares nesta espécie, independente do fruto hospedeiro.

Ao comparar a composição dos extratos de aeração e de secreções de glândulas salivares de machos em chamamento de *A. obliqua* com a de extratos de aeração de seu fruto hospedeiro (carambola), no estágio de maturação preferido pelas fêmeas para oviposição (verde), foram coincidentes 8 compostos: a 2-heptanona, a 3-octanona, a 2-octanona, o hexanoato de etila, o heptanoato de metila, o 2-etil-1-hexanol, o limoneno e o (*Z*)- β -ocimeno. Embora as proporções relativas de alguns compostos similares nestes extratos tenham apresentado visíveis variações, como pode ser observado na **figura 5.20**.

A grande similaridade entre os extratos de secreções de glândulas salivares de machos de *A. obliqua* e aqueles de seu fruto hospedeiro, a carambola, no estágio de maturação preferido por fêmeas da espécie para oviposição, o verde (8 compostos dos 15 identificados para o fruto), sugere que, diferindo do ocorrido com *C. capitata*, estes constituintes químicos poderiam exercer forte influência na preferência das fêmeas por este estágio de maturação. Esta hipótese está de acordo com a teoria de Landolt e Phillips (1997) do seqüestro de compostos químicos por larvas de insetos para subsequente uso na comunicação sexual dos adultos. Assim, tais constituintes químicos seriam adquiridos por machos dessa espécie ainda nos primeiros instares larvais e posteriormente liberados como feromônio sexual. A fêmea, ao demonstrar preferência pelos frutos que conteriam estes compostos químicos, estaria contribuindo para o sucesso da sua prole.

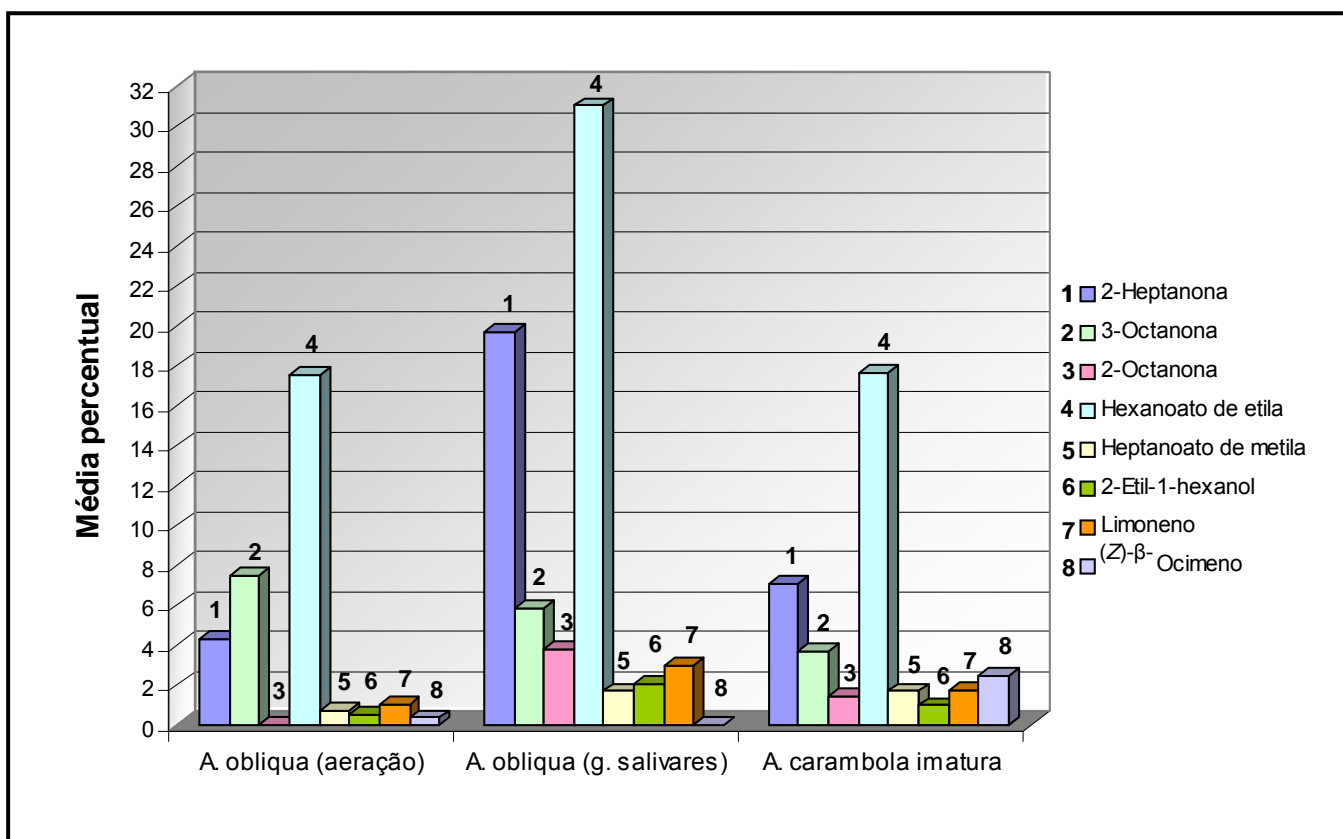


Figura 5.20. Gráfico apresentando as principais diferenças nas proporções relativas dos compostos similares nos extratos de aeração e de secreções de glândulas salivares de machos de *A. obliqua* em chamamento e naqueles de aeração de seu hospedeiro *A. carambola* (carambola) no estágio de maturação verde ou imaturo.

5.5. RESPOSTA DE FÊMEAS VIRGENS AOS EXTRATOS DE AERAÇÃO E DE GLÂNDULAS SALIVARES DE MACHOS EM CHAMAMENTO

As fêmeas virgens de *A. obliqua* demonstraram uma atração à curta distância para os extratos de glândulas salivares de machos da mesma espécie em chamamento significativamente semelhante a dos extratos de aeração destes machos. O maior número de observações de aproximações e toques na fonte de odor ocorreu em extratos de glândulas salivares, em média 13,6 vezes, contra 12,8 vezes em extratos de aeração e 3,5 vezes no solvente (controle). Entretanto, as médias dos extratos de glândulas salivares e de aeração não diferiram estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de probabilidade de 5 %, como pode ser observado na **figura 5.21**. Estes resultados sugerem que entre os compostos identificados nos extratos de glândulas salivares de machos podem haver constituintes químicos responsáveis pela atração sexual na espécie *A. obliqua*, como demonstrado por Nation (1989) para *A. suspensa* e sugerido por Lima *et al.* (2001) para *A. fraterculus*. Estes últimos, demonstraram que essas glândulas não só atraíram fêmeas virgens à curta distância como tiveram um efeito arrestante para estas.

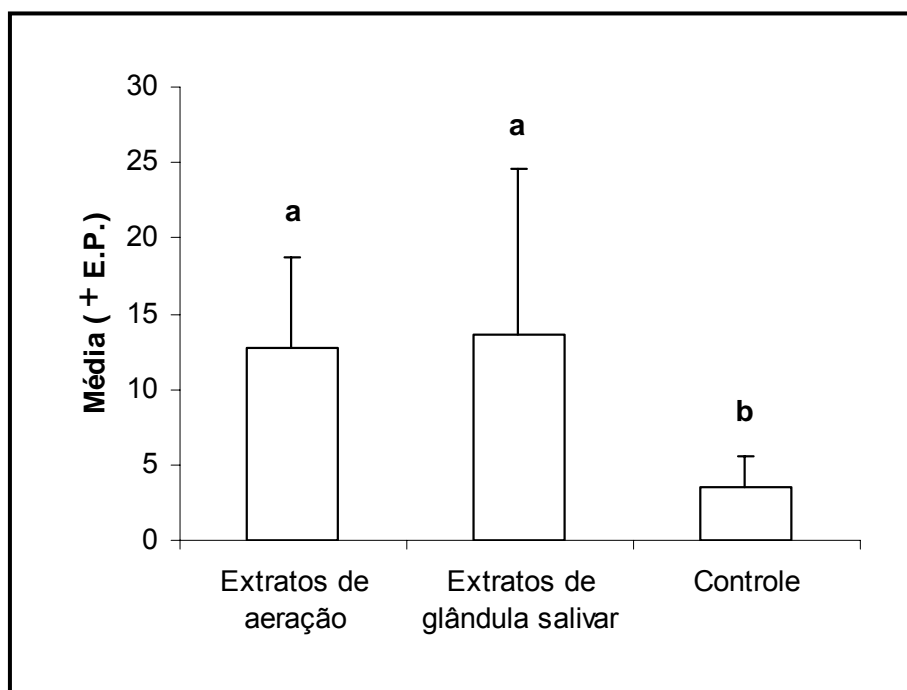


Figura 5.21. Média do número de vezes que fêmeas virgens de *A. obliqua* foram observadas se aproximando ou tocando nas fontes de odor (extratos de aeração e de glândulas salivares de machos da mesma espécie em chamamento e solvente). Médias acompanhadas da mesma letra não diferiram significativamente pelo testes de Tukey ao nível de probabilidade de 5%. Médias acompanhadas de letras distintas diferiram entre si.

6

CONCLUSÕES

- A idade de maior ocorrência das atividades de chamamento, cópula e oviposição em *C. capitata* foi aos 11 dias de vida adulta;
- Os horários de pico das atividades de chamamento, cópula e oviposição em *C. capitata* foram respectivamente: 6:00 – 9:00, 10:00 – 12:00 e 14:00 – 16:00 h.;
- A idade de maior ocorrência das atividades de chamamento e cópula em *A. obliqua* foi aos 15 dias de vida adulta, enquanto para oviposição foi aos 17 dias;
- Os horários de pico das atividades de chamamento, cópula e oviposição em *A. obliqua* foram respectivamente: 5:00 – 9:00, 7:00 – 10:00 e 9:00 – 11:00 h.;
- Os estágios de maturação do fruto hospedeiro *A. carambola* preferidos por fêmeas de *A. obliqua* e *C. capitata* para oviposição foram, respectivamente, verde e maduro;
- Na composição química dos extratos de aeração de frutos de carambola nos estágios de maturação verde e maduro foram observadas significativas diferenças. Enquanto os frutos maduros possuem quase exclusivamente ésteres saturados e insaturados, principalmente metílicos e etílicos, e apenas uma cetona, a 2-heptanona; nos frutos verdes, embora o número de compostos identificados tenha sido menor, há um equilíbrio numérico entre ésteres e cetonas, e foram encontrados também um álcool, o 2-etil-1-hexanol; dois monoterpenos, o limoneno e o (*Z*)- β -Ocimeno; um hidrocarboneto, o undecano; e um sesquiterpeno, o germacreno;

- Entre os extratos de aeração e de glândulas salivares de machos de *C. capitata* foram coincidentes 12 componentes: os relatados para *A. obliqua* de hospedeiro manga, excluindo 1-heptanol e octanoato de etila, e acrescentando 2,5-dimetilpirazina, heptanoato de metila, heptanoato de etila e octanoato de metila;
- A composição química dos extratos de aeração e de glândulas salivares de machos de *A. obliqua* de hospedeiro manga coincidiu em 10 componentes: 2-heptanona, 1-heptanol, 3-octanona, hexanoato de etila, 2-etil-1-hexanol, limoneno, 1-H-indeno, octanoato de etila, α -trans-bergamoteno e (*E,E*)- α -farneseno;
- Entre os extratos de aeração e de glândulas salivares de machos de *A. obliqua* de hospedeiro carambola foram coincidentes 15 componentes: os relatados para os de hospedeiro manga, excluindo 1-H-indeno, e acrescentando 2,5-dimetilpirazina, 2-metil-4-heptanona, heptanoato de metila, 1-nonanol, 3-decanona e 2-decanona;
- As similaridades encontradas na composição dos extratos de aeração e de glândulas salivares de machos de *C. capitata* e *A. obliqua* sugerem que estas glândulas são provavelmente o local de síntese e armazenamento dos compostos coincidentes;
- A composição química dos extratos de aeração e/ou de glândulas salivares de machos de *C. capitata* em chamamento apresentou 20 compostos inéditos para a espécie: 1-heptanol, 2-heptanona, acetato de 2-feniletila, 2,5-dimetilpirazina, 2,6-dimetilpirazina, 2-metil-4-heptanona, 3-octanona, hexanoato de etila, 1-nonanol, heptanoato de metila, 2-etil-1-hexanol, limoneno, 1-H-indeno, heptanoato de etila, (*E,Z*)-3,6-nonadien-1-ol, octanoato de metila, octanoato de etila, *trans*-cariofileno, α -copaeno e α -*trans*-bergamoteno; além de 6 constituintes químicos já relatados para a espécie: 3-octenoato de etila, acetato de geranila, indol, linalol, (*Z*)- β -ocimeno e (*E,E*)- α -farneseno;
- A composição química dos extratos de aeração e/ou de glândulas salivares de machos de *A. obliqua* em chamamento apresentou 37 compostos inéditos para a espécie: 3-hexanona, 2-hexanona, 1-octeno, 2-heptanona, 2,5-dimetilpirazina, 2,6-dimetilpirazina, 2-metil-4-heptanona, 4-metil-3-heptanol, 1-heptanol, 3-octanona, 2-octanona, hexanoato de etila, decano, heptanoato de metila, 2-etil-1-hexanol, limoneno, 1-H-indeno, (*Z*)- β -ocimeno, 1-octanol, 3-etil-2,5-dimetilpirazina, heptanoato de etila, linalol, (*E,Z*)-3,6-nonadien-1-ol, 1-nonanol, octanoato de metila, 1-fenilpropanona, 3-decanona, 2-decanona, octanoato de etila, hexanal, β -elemeno, δ -elemeno, acetato de geranila, *trans*-cariofileno, α -copaeno, α -

trans-bergamoteno e α -humuleno; além de um constituinte já relatado para a espécie: (*E,E*)- α -farneseno;

- A composição química dos extratos de machos de *A. obliqua*, tanto de aeração quanto de glândulas salivares, não apresentou as lactonas isoméricas anastrefina, epianastrefina e suspensolideo encontradas em três espécies do gênero *Anastrepha*: *A. suspensa*, *A. ludens* e *A. fraterculus*;
- Quatro constituintes químicos: α -*trans*-bergamoteno, (*E,E*)- α -farneseno, limoneno e/ou (*Z*)- β -ocimeno foram comuns entre *A. obliqua* e as duas espécies mais estudadas do gênero: *A. suspensa* e *A. ludens*, além do 3,6-nonadien-1-ol que nas citadas espécies foi identificado como o isômero (*Z,Z*);
- Entre os extratos de secreções de glândulas salivares de machos de *C. capitata* e aqueles de seu fruto hospedeiro, a carambola, no estágio de maturação preferido por fêmeas da espécie para oviposição, o maduro, foram coincidentes apenas 2 compostos dos 27 identificados para o fruto: a 2-heptanona e o octanoato de metila. O que sugere que para esta espécie o impedimento físico da fragilidade do ovipositor possa ter maior influência na escolha do estágio de maturação do fruto hospedeiro que a atração de determinados constituintes químicos do fruto que porventura possam contribuir para o sucesso da sua prole.
- Entre os extratos de secreções de glândulas salivares de machos de *A. obliqua* e aqueles de seu fruto hospedeiro, a carambola, no estágio de maturação preferido por fêmeas da espécie para oviposição, o verde, foram coincidentes 8 compostos dos 15 identificados para o fruto: a 2-heptanona, a 3-octanona, a 2-octanona, o hexanoato de etila, o heptanoato de metila, o 2-etil-1-hexanol, o limoneno e o (*Z*)- β -ocimeno. O que sugere que estes constituintes químicos poderiam ser adquiridos por esse machos ainda nos primeiros instares larvais e que, poderiam também ser responsáveis pela atração das fêmeas para frutos desse estágio de maturação;
- Os extratos de glândulas salivares de machos de *A. obliqua* exerceram uma atração a curta distância à fêmeas virgens da mesma espécie significativamente semelhante a dos extratos de aeração destes machos, sugerindo que entre os compostos identificados nos extratos de glândulas salivares poderiam haver constituintes químicos responsáveis pela atração sexual;

7

SUGESTÕES PARA FUTURAS PESQUISAS

- Testar os compostos identificados na mistura de voláteis liberada por machos de *C. capitata* e *A. obliqua* em chamamento e nas secreções das glândulas salivares destes para selecionar os que apresentam atividade como feromônio sexual;
- Testar os compostos identificados na mistura de voláteis emanada dos frutos hospedeiros no estágio de maturação preferencial para oviposição para selecionar os que apresentam atividade como cairomônio.

8

REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS

- AGOSTA, W. C. 1990. **Chemical Communication: the Language of Pheromones**. New York: Scientific American Library. 179 p.
- ALUJA, M. 1994. **Manejo Integrado de la Mosca de la Fruta**. México: Trillas. 251 p.
- ALUJA, M. e BIRKE, A. 1993. Habitat Use by *Anastrepha obliqua* Flies (Diptera: Tephritidae) in a Mixed Mango and Tropical Plum Orchard. **Annals Entomological Society of America** 86. p. 799-812.
- ARAÚJO, P.S.R.; SCARPARE FILHO, J.A. e MINANI, K. 2000. **Carambola: Fruto com Formato e Sabor Únicos**. Piracicaba: ESALQ, DIBD. 34p.
- ASHCROFT, A. E. 1997. **Ionization Methods in Organic Mass Spectrometry**. London: The Royal Society of Chemistry. 202 p.
- BAKER, R.; HEBERT, R. H. e GRANT, G. G. 1985. Isolation and Identification of the Sex Pheromone of the Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitis capitata* (Wied.). **Journal of the Chemistry Society, Chemical Communications** 6. p. 824-825.
- BAKER, T. C. e CARDÉ, R. T. 1984. Techniques for Behavioral Bioassays. In: HUMMEL, H. E. e MILLER, T. A. eds. **Techniques in Pheromone Research**. New York: Springer – Verlag. p. 45-73.
- BATTISTE, M. A.; STREKOWSKI, L.; VANDERBILT, D. O.; VISNICK, M.; KING, R. W. e NATION, J. L. 1983. Anastrephin e Epianastrephin, Novel Lactone Components Isolated from the Sex Pheromone Blend of Male Caribbean e Mexican Fruit Flies. **Tetrahedron Letters** 24. p. 2611-2614.

- BENTO, J. M. S. 2001. Fundamentos do Monitoramento, da Coleta Massal e do Confundimento de Insetos-praga. In: VILELA, E. F. e DELLA LUCIA, T. M. C eds. **Feromônios de Insetos: Biologia, Química e Emprego no Manejo de pragas** 2 ed. Ribeirão Preto: Holos. p. 135-144.
- BRESSAN, S. 1996. Desenvolvimento e Potencial Reprodutivo das Fêmeas de *Anastrepha obliqua* (Macquart, 1835) (Diptera: Tephritidae) em Condições Naturais. **Revista Brasileira de Entomologia** 39. p. 849-854.
- BRICEÑO, R. D.; RAMOS, D. e EBERHARD, W. G. 1996. Courtship Behavior of Male *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) in Captivity. **Florida Entomologist** 79. p. 130-143.
- BROWN, W. L. Jr.; EISNER, T. e WHITTAKER, R. H. 1970. Allomone and Kairomones: Transpecific Chemical Messengers. **Bioscience** 20. p. 21-22.
- BÜLOW, N. e KÖNIG, W. A. 2000. The Role of Germacrene D as a Precursor in Sesquiterpene Biosynthesis: Investigations of Acid Catalized, Photochemically and Thermally Induced Rearrangements. *Phytochemistry* 55. p. 141-168.
- BURK, T. 1983. Behavioral Ecology of Mating in the Caribbean Fruit Fly, *Anastrepha suspensa* (Loew) (Diptera: Tephritidae). **Florida Entomologist** 66. p. 330-344.
- BUTERNANDT, A.; BECKMANN, R.; STAMM, D. e HECKER, E. 1959. Über den Sexuallockstoff des Seidenspinners *Bombyx mori*. Reindarstellung und Konstitutionsermittlung. **Z. Naturforsch** 14. p. 283-284.
- CHUMAN, T.; SIVINSKI, J.; HEATH, R. R.; CALKINS, C. O.; TUMLINSON, J. H.; BATTISTE, M. A.; WYDRA, R. L.; STREKOWSKI, L. e NATION, J. L. 1988. Suspensolide , a New Macrolide Component of Male Caribbean Fruit Fly (*Anastrepha suspensa* [Loew]) Volatiles. **Tetrahedron Letters** 29. p. 6561-6564.
- COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L. e BONATO, P. S. 1997. **Introdução a Métodos Cromatográficos** 7 ed. Campinas: Ed. da UNICAMP. 279 p.
- CORRÊA, A. G. e SANT'ANA, J. 2001. Fundamentos da Comunicação Química de Insetos. In: FERREIRA, J. T. B.; CORRÊA, A. G. e VIEIRA, P.C. eds. **Produtos Naturais no Controle de Insetos**. São Carlos: EdUFSCAR. p. 9-22.

- COSSÉ, A. A.; TODD, J. L.; MILLAR, J. G.; MARTÍNEZ, L. A. e BAKER, T. C. 1995. Electroantennographic and Coupled Gas Chromatographic – Electroantennographic Response of the Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitis capitata*, to Male – Produced Volatiles and Mango Odor. **Journal of Chemical Ecology** 21. p. 1823-1836.
- CROCOMO, W. C. 1990. O que é Manejo de Pragas? In: CROCOMO, W. C. ed. **Manejo Integrado de Pragas**. São Paulo: Universidade Estadual Paulista. 558 p.
- CRUZ, I. B. M.; NASCIMENTO, J. C.; TAUFER, M. e OLIVEIRA, A. K. 2000. Morfologia do Aparelho Reprodutor e Biologia do Desenvolvimento. In: MALVASI, A. e ZUCCHI, R. A. eds. **Moscas-das-frutas de Importância Econômica no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos. p. 55-66.
- DICKE, M. e SABELIS, M. W. 1988. Infochemical Terminology: Should it be Based on Cost – Benefit Analysis rather than Origin of Compounds? **Func. Ecol.** 2. p. 131-139.
- DICKE, M. e SABELIS, M. W. 1992. Cost and Benefits of Chemical Information Conveyance: Proximate and Ultimate Factors. In: ROITBERG, B. D. e ISMAN, M. B. eds. **Insect Chemical Ecology: an Evolutionary Approach**. New York: Chapman & Hall. p. 341-358.
- DONADIO, L.C. 1989. Carambola Growing in Brazil. **Proceedings of the Interamerican Society of the Tropical Horticulture** 33. p. 26-29.
- DUARTE, A. L. e MALVASI, A. 2000. Tratamentos Quarentenários. In: MALVASI, A. e ZUCCHI, R. A. eds. **Moscas-das-frutas de Importância Econômica no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos. p. 187-192.
- EIRAS, A. E. e MAFRA NETO, A. 2001. Olfatometria Aplicada ao Estudo do Comportamento de Insetos. In: VILELA, E. F. e DELLA LUCIA, T. M. C. eds. **Feromônios de Insetos: Biologia, Química e Emprego no Manejo de Pragas** 2 ed. Ribeirão Preto: Holos. p. 27-39.
- EPSKY, N. D. e HEATH, R. R. 1992. Pheromone Production by Male *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae) Under Natural Light Cycles Greenhouse Studies. **Physiology and Chemical Ecology** 79. p. 130-136.
- ESPONDA-GAXIOLA, R. E. 1977. **Contribucion al Estudio Quimico del Atrayente Sexual de la Mosca Mexicana de la Fruta, *Anastrepha ludens* (Loew)**. MSc Thesis. Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores Monterrey, Mexico.

- FAO. 1994. Sustainable Agriculture through Integrated Pest Management. Manila: Twenty-Second Regional Conference for Asia and the Pacific. 8 p.
- FAO. Dados agrícolas de FAOSTAT - Producción - Cultivos Primários - Mango. Disponível em: [www.url: http://apps.fao.org/](http://apps.fao.org/). Acesso em: 31 de julho de 2001.
- FERREIRA, J. T. B. e ZARBIN, P. H. G. 1998. Amor ao Primeiro Odor: A Comunicação Química entre Insetos. **Química Nova na Escola** 7. p. 3-6.
- FOOTE, R. H. 1967. 57. Family Tephritidae. In: PAPPAVERO, H. ed. **A Catalogue of the Diptera of the Americas South of the United States**. Departamentode Zoologia, Secretaria da Agricultura, São Paulo. p. 1-91.
- FOOTE, R. H. 1980. **Fruit Fly Genera South of the United States**. USDA Tech. Bull.1600. 79 p.
- GALAN, V. 1993. The Situations of Mango Culture in the World. **Acta Horticulture** 241. p.31-41.
- GATEHOUSE, A. M. R.; HILDER, V. A. e BOUTER, D. 1992. Potential of Plant-derived Genes in the Genetic Manipulation of Crops for Insect Resistance. In: GATEHOUSE, A. M. R.; HILDER, V. A. e BOUTER, D. eds. **Biotechnology in Agriculture nº 7: Plant Genetic Manipulation for Crop Protection**. Wallingford: CAB International. p. 155-181.
- GONÇALVES, G. B. 2001. **Influência dos Constituintes Voláteis dos Hospedeiros *Averrhoa carambola* L. e *Mangifera indica* L. na Composição Química das Substâncias Liberadas por Machos de *Anastrepha obliqua* e *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae)**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Alagoas, 106 p.
- HEATH, R. R.; LANDOLT, P. J.; ROBACKER, D. C.; DUEBEN, B. D. e EPSKY, N. D. 2000. Sexual Pheromones of Tephritid Flies: Clues to Unravel Phylogeny and Behavior. In: ALUJA, M. e Allen, N. eds. **Fruit Flies (Tephritidae) Phylogeny and Evolution of Behavior**. New York: CRC Press LLC. p. 793-809.
- HENDRICHS, J. e HENDRICHS, M. A. 1990. Mediterranean Fruit Fly (Diptera: Tephritidae) in Nature: Location and Diel Pattern of Feeding and other Activities on Fruiting and Nonfruiting Hosts and Nonhosts. **Annals of the Entomological Society of America** 83. p. 632-641.
- HILDER, V. A. e BOULTER, D. 1999. Genetic Engineering of Crop Plants for Insect Resistance – A Critical Review. **Crop Protection** 18. p. 177-191.

- HOWSE, P. E.; JONES, O. T. e STEVENS, I. D. R. 1998. **Insect Pheromones and their Use in Pest Management**. London: Chapman e Hall. 345 p.
- IBAÑEZ-LÓPEZ, A. e CRUZ-LÓPEZ, L. 2001. Glandulas Salivales de *Anastrepha obliqua* (Macquart) (Diptera: Tephritidae) Analisis Quimico y Morfologico, y Atividade Biologica de los Componentes Volatiles. **Folia Entomologica Mexicana** 40. p. 221-230.
- JACOBSON, M.; REDFERN, R. E.; JONES, W. A. e ALDRIDGE, M. H. 1970. Sex Pheromones of the Southern Armyworm Moth: Isolation, Identification and Synthesis. **Science** 170. p. 542-544.
- JACOBSON, M.; OHINATA, K.; CHAMBERS, D. L.; JONES, W. A. e FUJIMOTO, M. S. 1973. Insect Sex Attractants. 13. Isolation, Identification, and Synthesis of Sex Pheromones of the Male Mediterranean Fruit Fly. **Journal of Medicinal Chemistry** 16 (2). p. 248-251.
- JANG, E. B.; LIGHT, D. M.; BINDER, R. G.; FLATH, R. A. e CARVALHO, L. A. 1989. Electroantennogram Response of the Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitis capitata*, to Identified Constituents from Calling Males. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 50. p. 7-19.
- JIRÓN, L. F. 1995. Opciones al Uso de Unilateral de Insecticidas en el Mango. In: GARCIA, G.; FUENTES, G. e MONGE-NAJERA, J. eds. **Opciones al Uso de Unilateral de Insecticidas en Costa Rica: Pasado – Presente – Futuro**. San Jose: Editorial EUNED. 32 p.
- JOUANIN, L.; BONADÉ-BOTTINO, M.; GIRARD, C.; MORROT, G. e GIBAND, G. 1998. Transgenic Plants for Insect Resistance. **Plant Science** 131. p. 1-11.
- JONES, G. R. e OLDHAM, N. J. 1999. Pheromone Analysis Using Capillary Gas Chromatographic Techniques. **Journal of Chromatography A** 843. p. 200-236.
- KARLSON, P. e LÜSCHER, M. 1959. Pheromones, a New Term for a Class of Biologically Active Substances. *Nature* 183. p. 55-56.
- KNIPLING, E. F. 1979. **The Basic Principles of Insect Population Suppression and Management**. Washington: U. S. Dept. of Agriculture. 659 p.
- LANÇAS, M. F. 1993. **Cromatografia em Fase Gasosa**. São Carlos: Acta. 235 p.

- LANDOLT, P. J. 1997. Sex Attractant and Aggregation Pheromones of Male Phytophagous Insects. **American Entomologist** 43. p. 12-22.
- LANDOLT, P. J. e AVERILL, A. L. 1999. Fruit Flies. In: HARDIE, J. e MINKS, A. K. eds. **Pheromones of Non-lepidopteran Insects Associated with Agricultural Plants**. London: CABI Publishing. 3-25.
- LANDOLT, P. J. e PHILLIPS, T. W. 1997. Host Plant Influences on Sex Pheromone Behavior of Phytophagous Insects. **Annual Review Entomology** 43. p. 371-391.
- LANDOLT, P. J.; HEATH, R.R. e CHAMBERS, D. L. 1992a. Oriented Flight Response of Female Mediterranean Fruit Fly to Calling Males, Odor de Calling Males, and a Synthetic Pheromone Blend. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 65. p. 259-266.
- LANDOLT, P. J.; REED, H. C. e HEATH, R. R. 1992b. Attraction of Female Papaya Fruit Fly (Diptera: Tephritidae) to Male Pheromone and Host Fruit. **Environmental Entomology** 21. p. 1154-1159.
- LEITE, L. A. de S.; PESSOA, P. F. A.; ALBUQUERQUE, J. A. e SILVA, P. C. G. 1998. O Agronegócios da Manga no Nordeste. In: CASTRO, A. M. G. ed. **Cadeias Produtivas e Sistemas Naturais - Prospecção Tecnológica**. Brasília: Embrapa-SPI. p. 389-439.
- LENNOX, A. e RAGOONATH, J. 1990. Carambola and Bilimbi. **Fruits** 45. p.497-501.
- LEWIS, T. 1984. The Elements and Frontiers of Insect Communication. In: LEWIS, T. ed. **Insect Communication**. London: Academic Press. p. 1-27.
- LIEDO, P.; CAREY, J. R.; CELEDONIO, H. e GUILLEN, J. 1992. Size Specific Demography of three Species of *Anastrepha* Fruit Flies. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 63. p. 135-142.
- LIGHT, D. M.; JANG, E. B. e DICKENS, J. C. 1998. Electroantennogram Response of the Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitis capitata*, to a Spectrum of Plant Volatiles. **Journal of Chemical Ecology** 14. p. 159-180.
- LIMA, E. R. e DELLA LUCIA, T. M. C. 2001. Biodinâmica dos Feromônios. In: VILELA, E. F. e DELLA LUCIA, T. M. C eds. **Feromônios de Insetos: Biologia, Química e Emprego no Manejo de pragas** 2 ed. Ribeirão Preto: Holos. p. 13-25.

- LIMA, I. S. 2001. Semioquímicos das Moscas-das-Frutas. In: VILELA, E. F. e DELLA LUCIA, T. M. C eds. **Feromônios de Insetos: Biologia, Química e Emprego no Manejo de pragas** 2 ed. Ribeirão Preto: Holos. p. 121-126.
- LIMA, I. S. e HOWSE, P. E. 1997. Diurnal Activity and Sexual Maturation of the South American Fruit Fly (Diptera: Tephritidae) in the Laboratory. **Anais da Sociedade Entomológica Brasileira** 26. p. 299-308.
- LIMA, I. S.; HOWSE, P. E. e DO NASCIMENTO, R.R. 2001. Volatile Substances from Male *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae): Identification and Behavioural Activity. **Journal Brazilian Chemical Society** 12 (2). p. 196-201.
- LIMA, I. S.; HOWSE, P. E. e STEVENS, D.R. 1996. Volatile Components from the Salivary Glands of Calling Males of the South American Fruit Fly, *Anastrepha fraterculus*: Partial Identification and Behavioural Activity. In: MacPherson, B. A. e Steck, G. J. (Eds.). **Fruit Fly Pests. A World Assessment of Their Biology and Management**. London: St. Lucie Press. p. 107-113.
- LIQUIDO, N. J.; SHINODA, L. A. e CUNNINGHAM, R. T. 1991. Host Plants of the Mediterranean Fruit Fly: an Annotated World Review. **Misc. Publ. Entomology Society of America** 77. p. 1-52.
- MALAVASI, A. e BARROS, 1988. Comportamento Sexual e de Oviposição em Moscas-das-frutas (Tephritidae). In: DE SOUZA, H. M. L. coord. **Moscas-das-frutas no Brasil**. Anais do I Encontro sobre Moscas-das-frutas. Campinas: Fundação Cargill. p. 25-53.
- MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. e SUGAYAMA, R. L. 2000. Biogeografia. In: MALVASI, A. e ZUCCHI, R. A. eds. **Moscas-das-frutas de Importância Econômica no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos. p. 93-98.
- MEIJER, G. M.; RITTER, F. J.; PERSOONS, C. J.; MINKS, A. K. e VOERMAN, S. 1972. Sex Pheromone of Summerfruit Tortrix Moth, *Adoxophyes orana*: Two Synergistic Isomers. **Science** 175. p. 1469-1472.
- MORGANTE, J. S. 1991. **Moscas-das-frutas (Tephritidae): Características Biológicas, Detecção e Controle**. Boletim Técnico de Recomendações para os Perímetros Irrigados do Vale do São Francisco nº 2. Brasília: MAARA – SNI. 19 p.

- MORI, K. 1998. Chirality and Insect Pheromones. **Chirality** 10. p. 578-583.
- NAKASONE, H. K. e PAULL, R. E. 1998. **Tropical Fruits**. Wallingford: CAB International. p. 132-148.
- NARAIN, N.; BORA, P. S.; HOLSCHUH, H. J.; VASCONCELOS, M. A. S. e SANTOS, C. M. G. 1988. Caracterização Física dos Frutos de Caramboleira Oriundos do Trópico Semi-Árido da Paraíba. Fortaleza: **Anais do Congresso Brasileiro de Fruticultura - SBF**. p. 205-208.
- NASCIMENTO, A. S. 1997. **Curso de Identificação, Monitoramento, Biologia e Controle de Moscas-das-frutas para o Nordeste do Brasil**. Fortaleza: EMBRAPA. 26 p.
- NASCIMENTO, R. R. e SANT'ANA, A. E. G. 2001. Isolamento e Identificação dos Semioquímicos de Insetos Sociais. In: VILELA, E. F. e DELLA LUCIA, T. M. C. eds. **Feromônios de Insetos: Biologia, Química e Emprego no Manejo de Pragas** 2 ed. Ribeirão Preto: Holos. p. 65-71.
- NATION, J. L. 1974. The Structure and Development of Two Sex Specific Glands in Male Caribbean Fruit Flies. **Annals of the Entomological Society of America** 67. p. 731-734.
- NATION, J. L. 1981. Sex-specific Glands in Tephritid Fruit Flies of the Genera *Anastrepha*, *Ceratitis*, *Dacus* and *Rhagoletis* (Diptera: Tephritidae). **Int. Journal of Insect Morphology and Embriology** 4. p. 27-30.
- NATION, J. L. 1983. Sex Pheromone of the Caribbean Fruit Fly; Chemistry and Field Ecology. **Proceedings of the Fifth Internacional Conference on Pesticide Chemistry** 2. p. 109-110.
- NATION, J. L. 1989. The Role of Pheromones in the Mating System of *Anastrepha* Fruit Flies. In: ROBSON, A. S. e HOOPER, G. eds. **Fruit Flies their Biology, Natural Enemies and Control**. Amsterdam: Elsevier. p. 189-205.
- NATION, J. L. 1990. Biology of Pheromone Release by male Caribbean Fruit Flies, *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae). **Journal of Chemical Ecology** 16. p. 553-571.
- NISHIDA, R.; SHELLY, T. E. e KANESHIRO, K. Y. 1997. Aquisition of Female-attracting Fragrance by Males of Oriental Fruit Fly from a Hawaiian Lei Flower, *Fagraea berteriana*. **Journal of Chemical Ecology** 23. p. 2275-2285.

- NISHIDA, R.; SHELLY, T. E.; WHITTIER, T. S. e KANESHIRO, K. Y. 2000. α -Copaeno, a Potential Rendezvous Cue for the Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitidis capitata*? **Journal of Chemical Ecology** 26. p. 87-99.
- NOGUEIRA NETO, P. O. 1984. **O Comportamento Animal e as Raízes do Comportamento Humano**. São Paulo: Tecnapis. 230 p.
- NORDLUND, D. A. e LEWIS, W. J. 1976. Terminology of Chemical-releasing Stimuli in Intraespecific and Interespecific Interactions. **Journal of Chemical Ecology** 2. p. 211-220.
- NORDLUND, D. A. e LEWIS, W. J. 1984. Semiochemicals: a Review of the Terminology. In: NORDLUND, D. A.; JONES, R. L. e LEWIS, W. J. eds. **Semiochemicals: their Role in Pest Control**. New York: John Wiley. p. 13-28.
- NORRBON, A. L. e KIM, K. C. 1988. **A List of the Reported Host Plants of the Species of *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae)**. U.S. Dept. Agric., APHIS (PPQ) 81-52. 114 p.
- NORRBON, A. L.; CARROL, L. E. e FREIDBERG, A. 1998. Status of Knowledge. In: THOMPSON, F. C. ed. **Fruit Fly Expert Identification System and Systematic Information Database**. Leiden: Backhuys Publishers. p. 9-48.
- OERKE, E. C.; DEHNE, H. W.; SCHÖNBECK, F. e WEBER, A. 1994. **Crop Production and Crop Protection: Estimated Losses in Major Food and Cash Crops**. Amsterdam: Elsevier. 196 p.
- PAPADOPOULOS, N. T.; KATSOYANNOS, N. A.; ECONOMOPOULOS, A. P. e CARREY, J. R. 1998. Effect of Adult Age, Food, and Time of Day on Sexual Calling Incidence of Wild and Mass-reared *Ceratitidis capitata* Males. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 89. p. 175-182.
- PICKETT, J. A.; WADHAMS, L. J. e WOODCOCK, C. M. 1997. Developing Sustainable Pest Control from Chemical Ecology. **Agriculture, Ecosystems and Environment** 64. p. 149-156.
- PIMENTEL, C. R. M.; ALVES, R. E. e FILGUEIRAS, H. A. C. 2000. Mercado Internacional de Manga: Situação Atual e Perspectivas. In: PIMENTEL, C. R. M. ed. **Frutas do Brasil: Manga. Pós-colheita**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical. p. 9-13.

- QUESADA-ALLUÉ, L. A. 1994. **La Mosca Mediterránea – Guia de Laboratorio**. Buenos Aires: Talleres Trama SRL Press. 72 p.
- REVISTA UPDATE. Dezembro/2000. República de Mamões. Exportação nº 367. Brasília: Câmara Americana de Comércio.
- RITTER, F. J. 1971. Some Recent Developments in the Field of Insect Pheromones. **Meded. Fac. Landbouwwet Rijksuniv. Gent**. 36. p. 874-878.
- ROCCA, J. R.; NATION, J. L.; STREKOWSKI, L. e BATTISTE, M. A. 1992. Comparison of Volatiles Emitted by Male Caribbean and Mexican Fruit Flies. **Journal of Chemical Ecology** 18. p. 223-244.
- SALDANHA, L. A. e SILVA, N. M. 1999. Semi-artificial Rearing of the Larvae of *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae) in Manaus, Amazon-Brazil. **Florida Entomologist** 82. P. 82-90.
- SALLES, L. A. B. 1995. **Bioecologia e Controle da Mosca-das-frutas Sul-Americana**. Pelotas: EMBRAPA/CPACT. 57 p.
- SANT'ANA, J. e STEIN, K. 2001. Extração e Identificação de Substâncias Bioativas de Insetos. In: FERREIRA, J. T. B.; CORRÊA, A. G. e VIEIRA, P.C. eds. **Produtos Naturais no Controle de Insetos**. São Carlos: EdUFSCAR. p. 47-74.
- SANTOS, J. C. G. 2003. **Estudo Comparativo dos Constituintes Voláteis Liberados por Machos de *Anastrepha* spp. (Diptera: Tephritidae) e o seu Fruto Hospedeiro, *Psidium guajava***. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Alagoas. 78 p.
- SELIVON, D. 2000. Biologia e Padrões de Especiação. In: MALVASI, A. e ZUCCHI, R. A. eds. **Moscas-das-frutas de Importância Econômica no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos. p. 25-28.
- SHANI, A. 1998. Integrated Pest Management Using Pheromones. **Chemical Technology** 28. p. 30-35.
- SILVA, E. T. 1999. **Estudo sobre as Similaridades do Feromônio Sexual das Moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) e os Constituintes Voláteis dos Frutos de Plantas Hospedeiras**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Alagoas. 56 p.

- SILVA, N.M. 2000. Amapá, Amazonas, Pará, Rondônia e Roraima. In: MALVASI, A. e ZUCCHI, R. A. eds. **Moscas-das-frutas de Importância Econômica no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos. p. 203-209.
- SILVERSTEIN, R. M.; RODIN, J. O.; BURKHOLDER, R. M. e GORMAN, W. E. 1969. Sex Attractant of Female Dermestid Beetle *Tragoderma inclusem* Le Conte. **Science** 165. p. 904-909.
- SKOOG, D. A.; HOLLER, F.J. e NIELMAN, T. A. 1998. **Principles of Instrumental Analyses**. USA: Saunders College Publishing. 195 p.
- SPAIDE, R. G. 2000. **West Indian Fruit Fly Cooperative Eradication Program**. U.S. Dept. Agric., APHIS (PPQ) 128. 56p.
- SUGAYAMA, R. L. e MALAVASI, A. 2000. Ecologia Comportamental. In: MALVASI, A. e ZUCCHI, R. A. eds. **Moscas-das-frutas de Importância Econômica no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos. p. 103-108.
- SUGAYAMA, R. L.; KOVALESKI, A.; LIEDO, P E MALAVASI, A. 1998. Colonization of a New Fruit Crop by *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) in Brazil: a Demographic Analysis. *Environmental Entomology* 27. p. 642-648.
- TAMAKI, Y.; NOGUCHI, H.; SUGIE, H; SATO, R. e KARIYA, A. 1979. Minor Components of the Females Sex Attractant Pheromone of the Smaller Tea Tortrix Moth (Lepidoptera: Tortricidae): Isolation and Identification. **Applied Entomology and Zoology** 14. p. 101-107.
- TELES, M. C. 1987. Structure and Development of Specific Sex Glands in Males of some Brazilian Fruit Flies of the Genus *Anastrepha* Schiner, 1868 ((Diptera: Tephritidae). In: CAVALLORO, R. ed. **Fruit Flies of Economic Importance**. Proc. CEC/IOBC Int. Symp. Rome. Rotterdam: A. A. Balkema. p. 179-189.
- TUMLINSON, J. H. 1988. Contemporary Frontiers in Insect Semiochemical Research. **Journal of Chemical Ecology** 14 (11). p. 2109-2130.
- VILELA, E. F. e DELLA LUCIA, T. M. C. 2001. Introdução aos Semioquímicos e Terminologia. In: VILELA, E. F. e DELLA LUCIA, T. M. C. eds. **Feromônios de Insetos: Biologia, Química e Emprego no Manejo de Pragas** 2 ed. Ribeirão Preto: Holos. p. 9-12.

- WEENS JR., H. V. 1981. **Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitis capitata* (Wiedemann)**. Florida Department of Agriculture, Division of Plant Industry, Entomology Circular n° 230. 12 p.
- WEENS JR., H. V.; HEPPNER, J. B. e STECK, G.J. 2001. **West Indian Fruit Fly, *Anastrepha obliqua* (Macquart)**. University of Florida, Publication n° 198. 8 p.
- WHITE, I. M. e ELSON-HARRIS, M. M. 1992. **Fruit Flies of Economic Significance: their Identification and Bionomics**. London: CAB/ACIAR. 543 p.
- WHITMAN, D. 1988. Allelochemical Interactions among Plants, Herbivores and their Predators. In: BARBOSA, P. e LETORNEAU, D. K. eds. **Novel Aspects of Insect – Plant Interactions**. New York: John Wiley & Sons. p. 11-64.
- WILSON, E. O. e BOSSERT, W. H. 1963. Chemical Communication among Animals. **Recent Prog. Horm. Res.** 19. p. 673-716.
- ZARBIN, P. H. G. 2001. Extração, Isolamento e Identificação de Substâncias Voláteis de Insetos. In: VILELA, E. F. e DELLA LUCIA, T. M. C. eds. **Feromônios de Insetos: Biologia, Química e Emprego no Manejo de Pragas** 2 ed. Ribeirão Preto: Holos. p. 45-50.
- ZUCCHI, R. A. 2000a. Taxonomia. In: MALVASI, A. e ZUCCHI, R. A. eds. **Moscas-das-frutas de Importância Econômica no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos. p. 13-24.
- ZUCCHI, R. A. 2000b. Espécies de *Anastrepha*, Sinonímias, Plantas Hospedeiras e Parasitóides. In: MALVASI, A. e ZUCCHI, R. A. eds. **Moscas-das-frutas de Importância Econômica no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos. p. 41-48.

ANEXOS

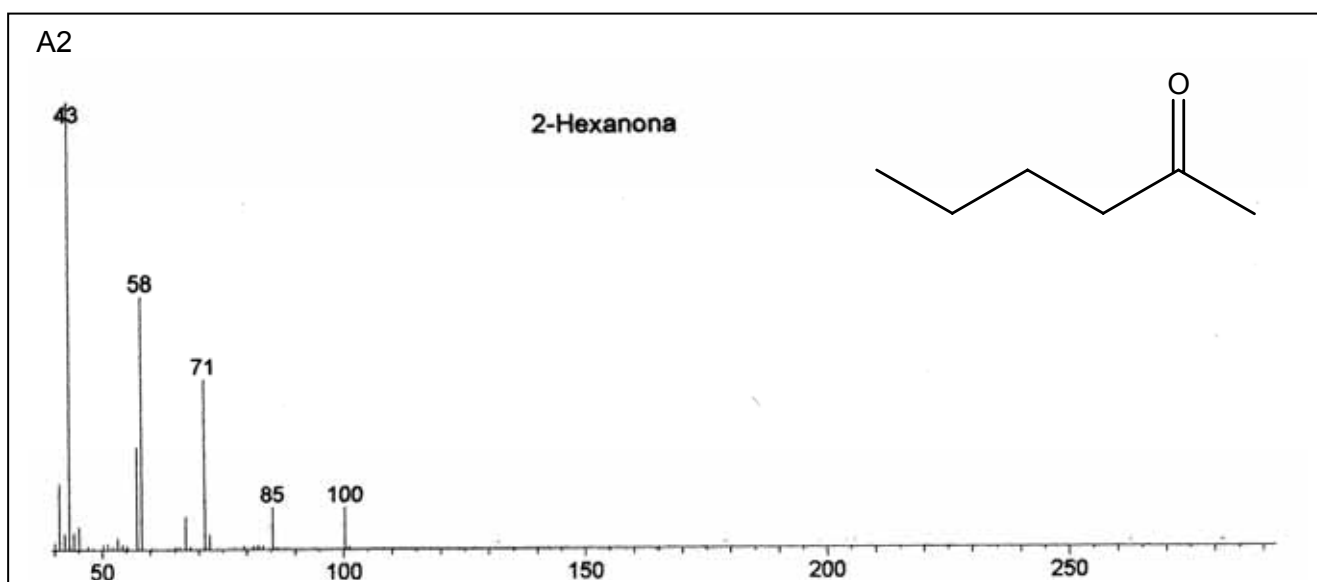
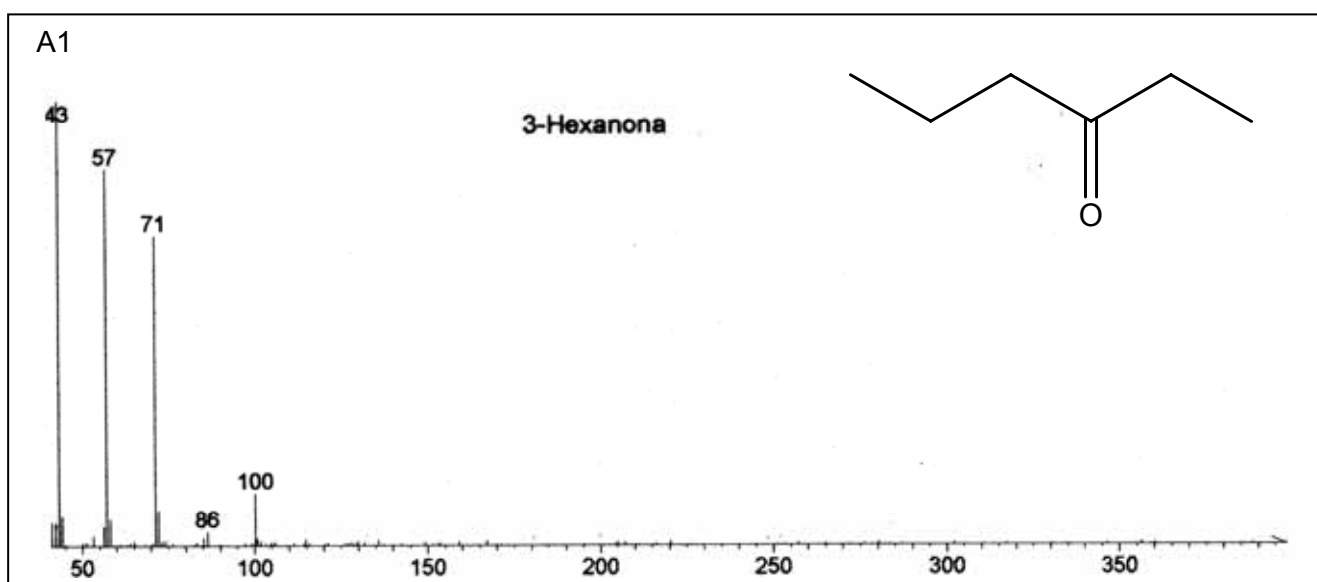
ANEXO Nº 1

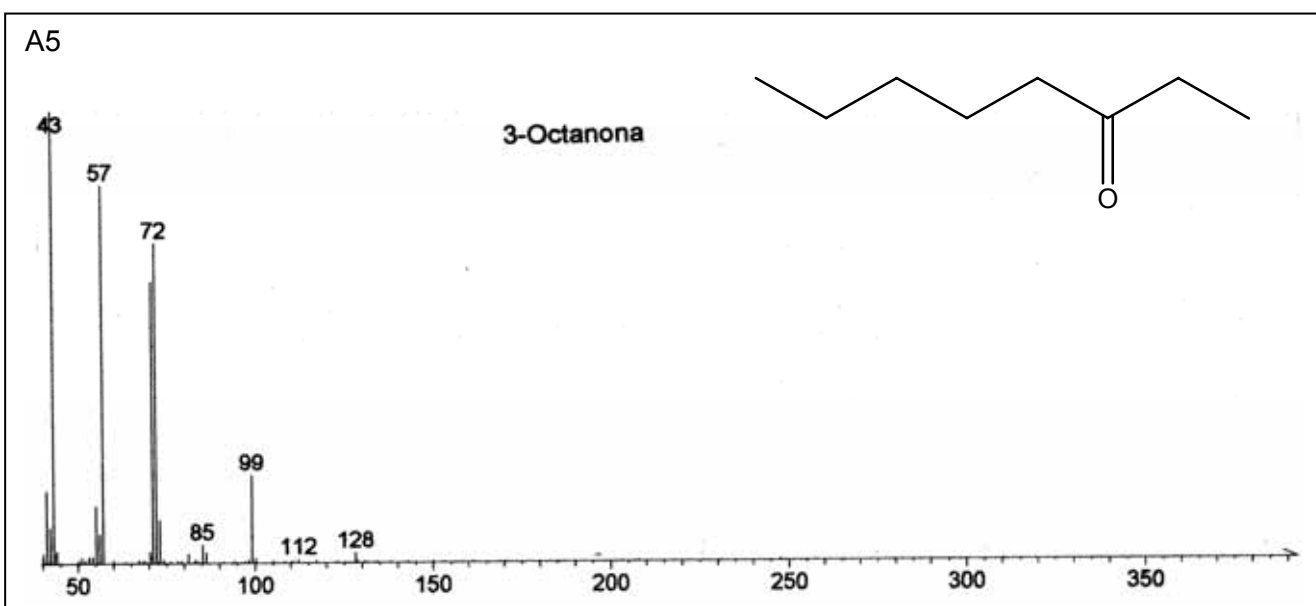
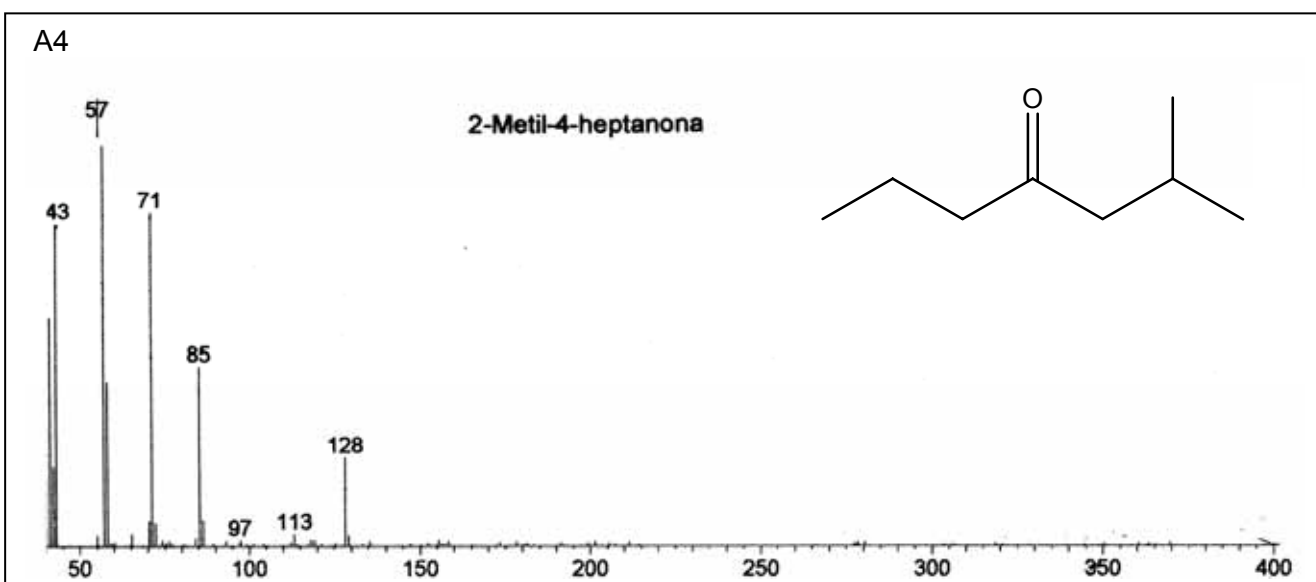
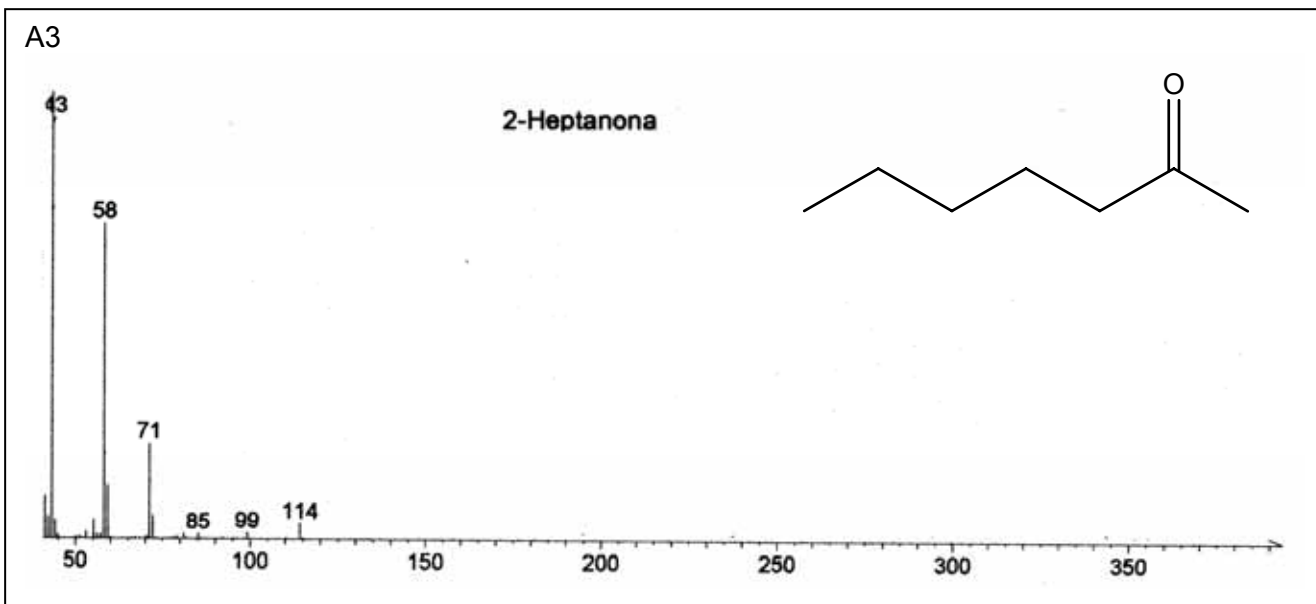
RELAÇÃO DOS ESPECTROS DE MASSAS DOS PRINCIPAIS CONSTITUINTES QUÍMICOS IDENTIFICADOS NOS EXTRATOS DE SECREÇÕES DE GLÂNDULAS SALIVARES E DE AERAÇÃO DE MACHOS DE *C. capitata* E *A. obliqua* EM CHAMAMENTO

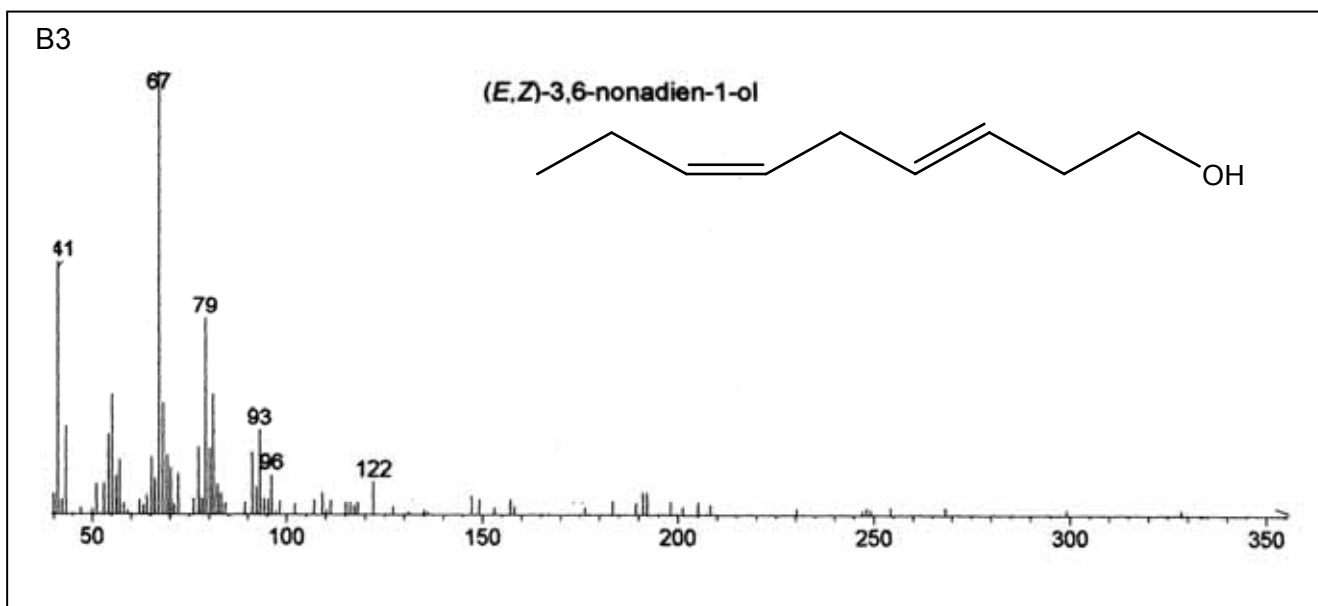
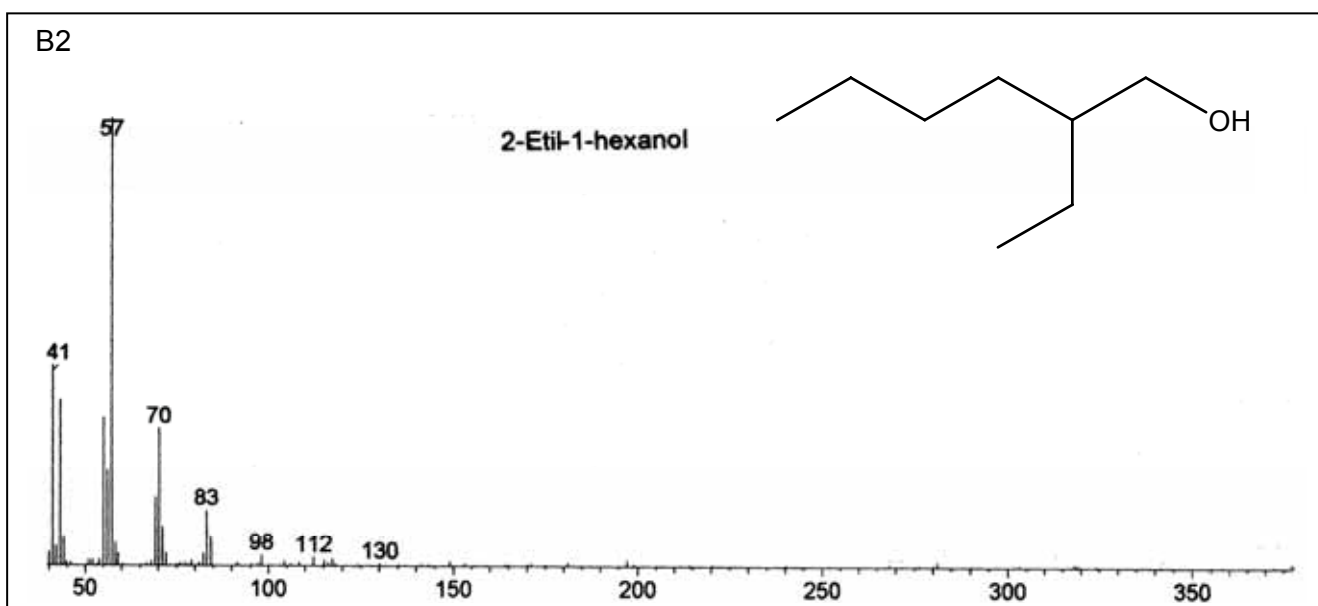
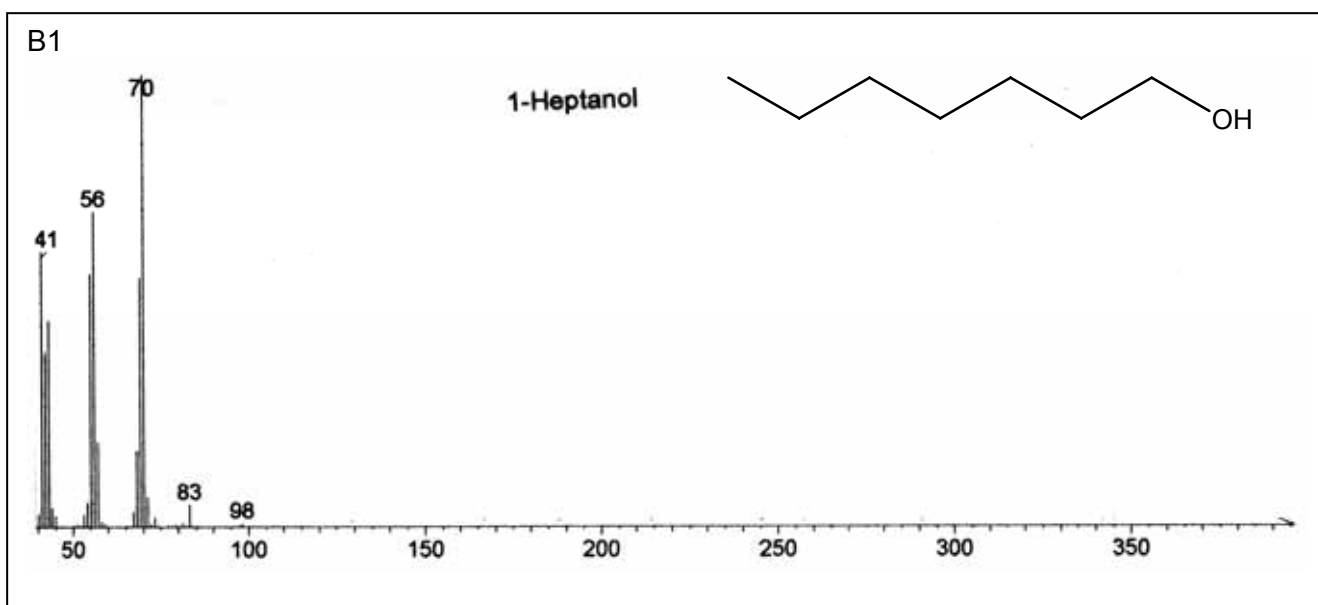
ESPECTRO	NOME DO COMPOSTO	TÉCNICA EMPREGADA NA EXTRAÇÃO
	CETONAS	
A1	3-Hexanona	Aeração
A2	2-Hexanona	Aeração
A3	2-Heptanona	Aeração/extração de glândulas salivares
A4	2-Metil-4-heptanona	Aeração/extração de glândulas salivares
A5	3-Octanona	Aeração/extração de glândulas salivares
	ÁLCOOIS	
B1	1-Heptanol	Aeração/extração de glândulas salivares
B2	2-Etil-1-hexanol	Aeração/extração de glândulas salivares
B3	(<i>E,Z</i>)-3,6-Nonadienol	Aeração
	ÉSTERES	
C1	Hexanoato de etila	Aeração/extração de glândulas salivares
C2	Heptanoato de metila	Aeração/extração de glândulas salivares
C3	Heptanoato de etila	Aeração/extração de glândulas salivares
C4	Octanoato de metila	Aeração/extração de glândulas salivares
C5	Octanoato de etila	Aeração/extração de glândulas salivares
	HIDROCARBONETOS AROMÁTICOS	
D1	1H-Indeno	Aeração/extração de glândulas salivares
	MONOTERPENÓIDES	
E1	Limoneno	Aeração/extração de glândulas salivares
E2	(<i>Z</i>)- β -Ocimeno	Aeração
E3	Linalol	Aeração
	SESQUITERPENÓIDES	
F1	Acetato de geranila	Aeração
F2	α -Copaeno	Aeração
F3	<i>trans</i> -Cariofileno	Aeração
F4	α -Humuleno	Aeração
F5	α - <i>trans</i> -Bergamoteno	Aeração/extração de glândulas salivares
F6	(<i>E,E</i>)- α -Farneseno	Aeração/extração de glândulas salivares
	COMPOSTOS NITROGENADOS	
G1	2,5-Dimetilpirazina	Aeração/extração de glândulas salivares
G2	3-Etil-2,5-dimetilpirazina	Extração de glândulas salivares
G3	Indol	Aeração

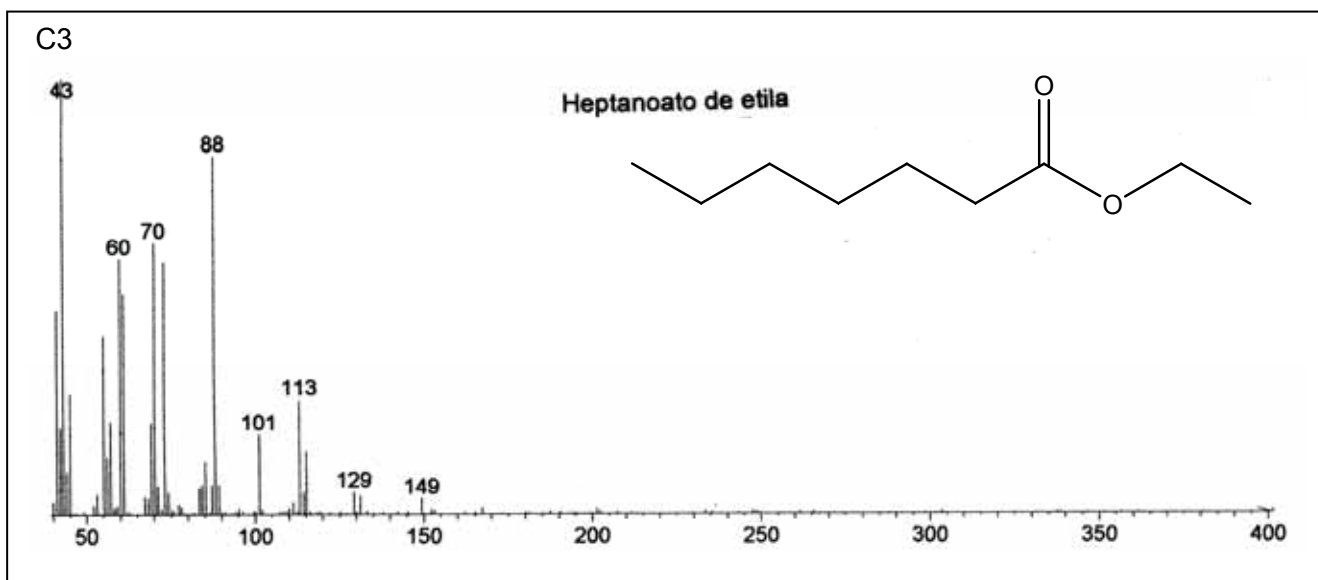
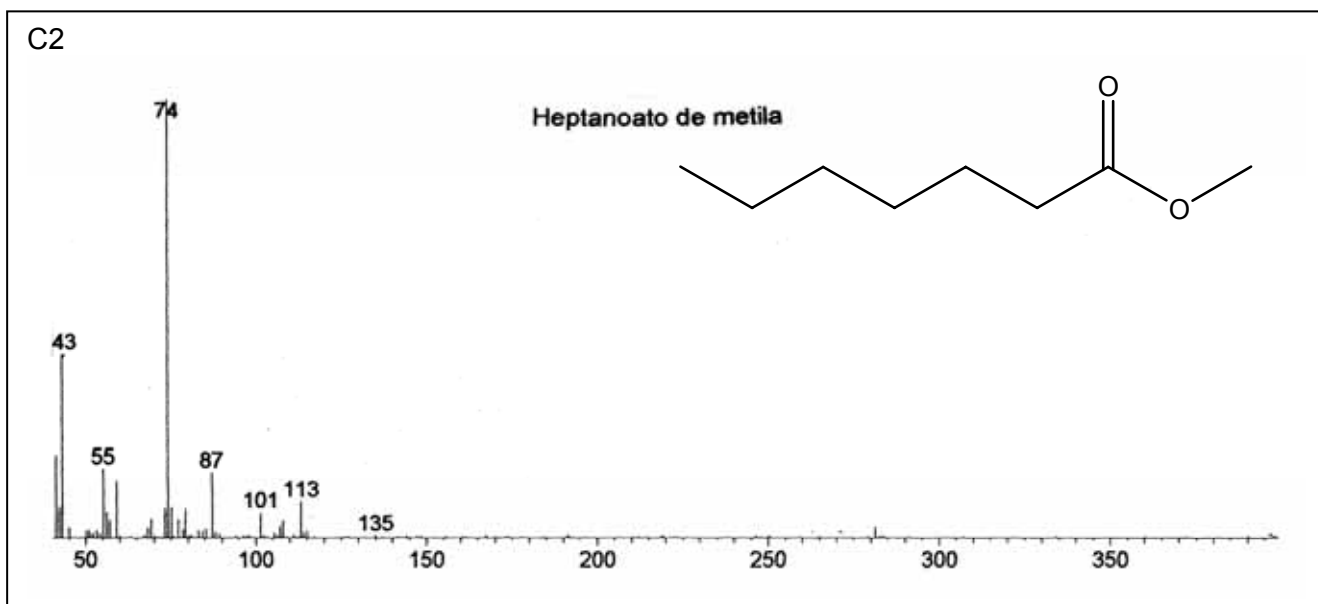
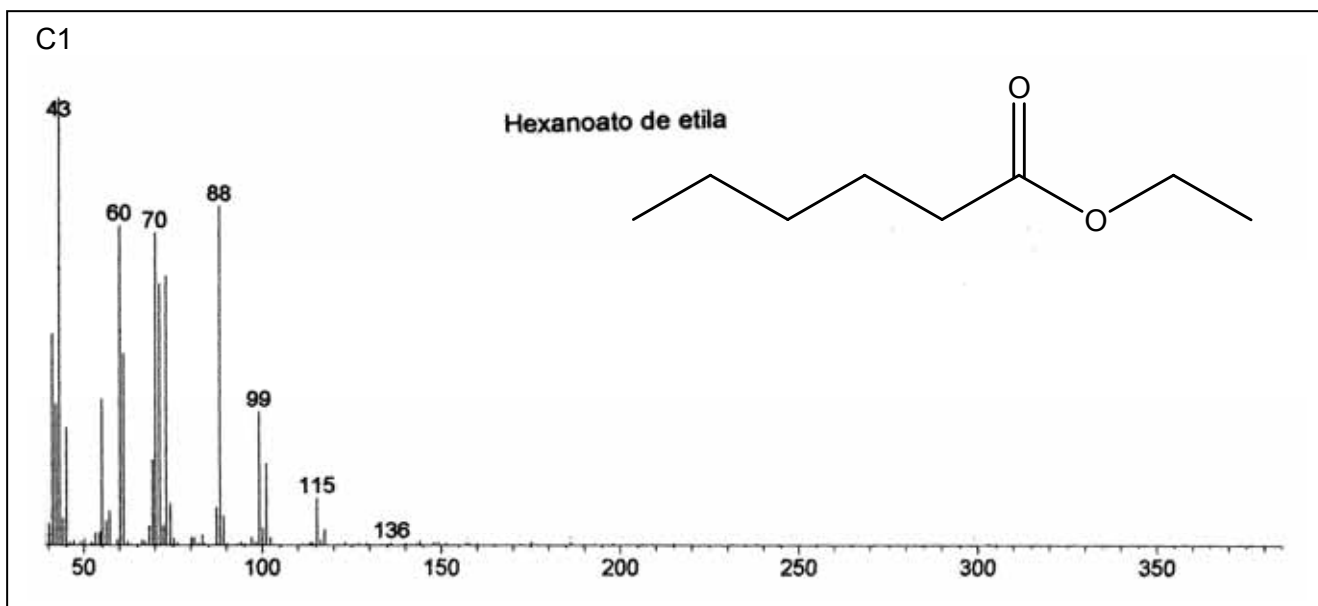
ANEXO Nº 2

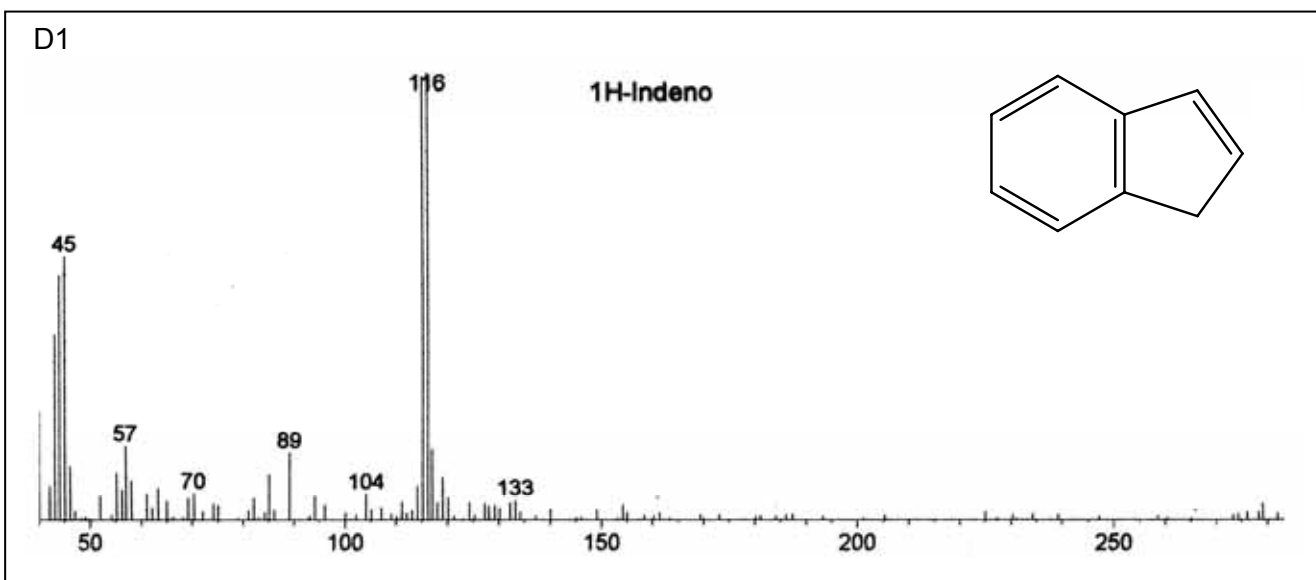
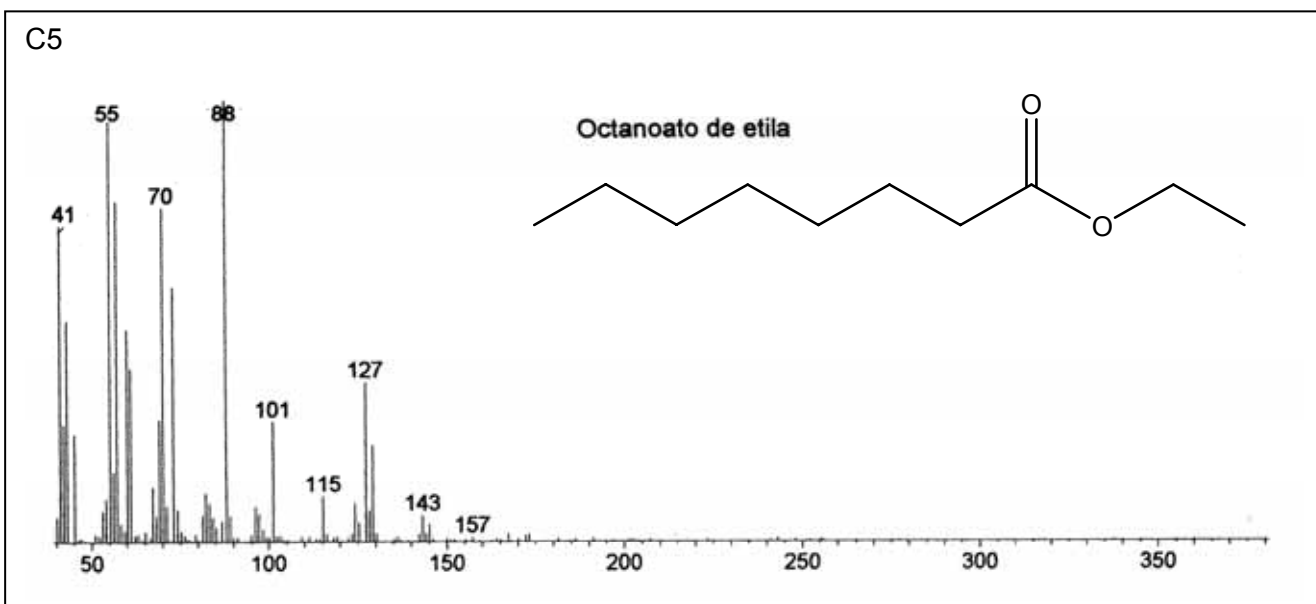
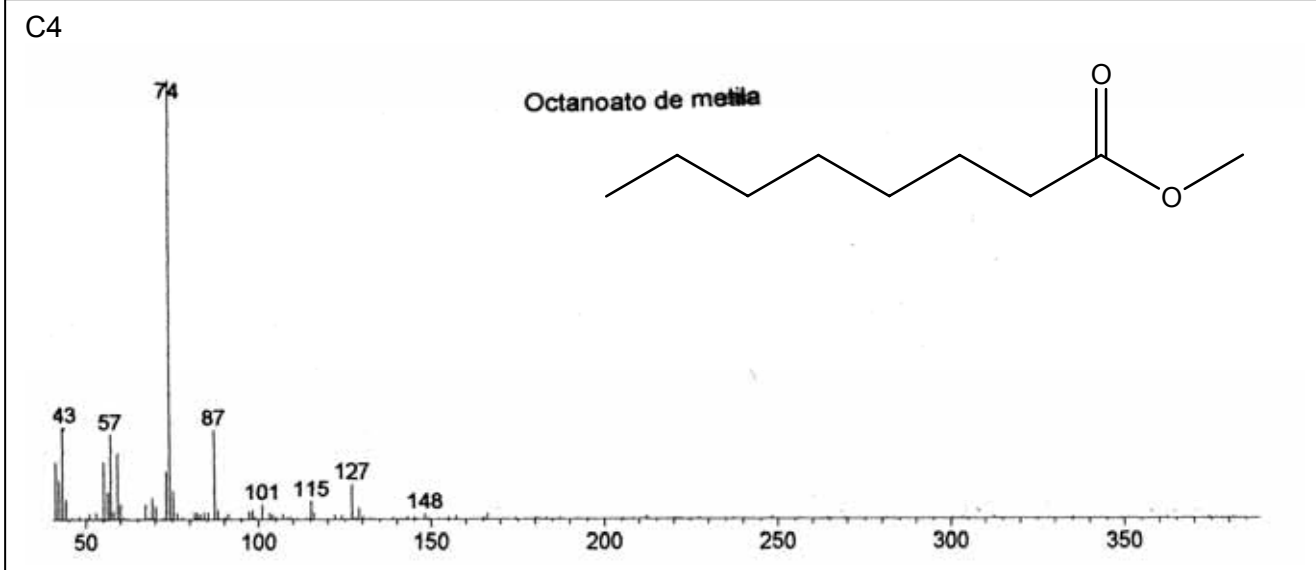
ESPECTROS DE MASSAS DOS PRINCIPAIS CONSTITUINTES QUÍMICOS IDENTIFICADOS
NOS EXTRATOS DE SECREÇÕES DE GLÂNDULAS SALIVARES E DE AERAÇÃO DE
MACHOS DE *C. capitata* E *A. obliqua* EM CHAMAMENTO

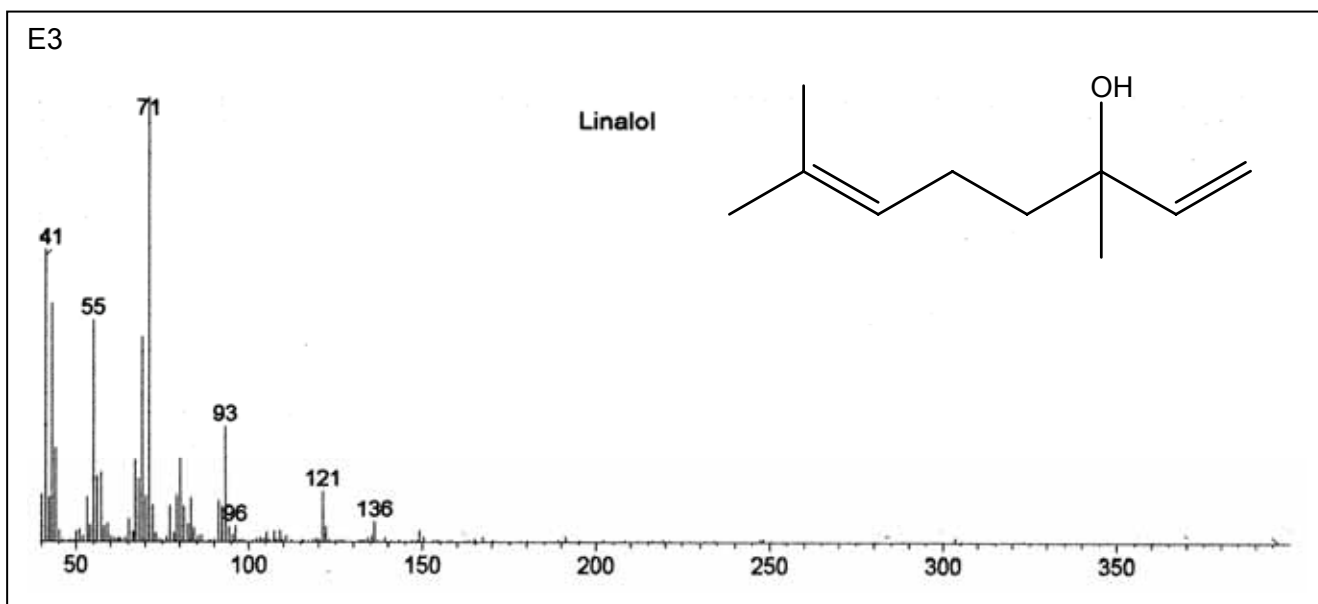
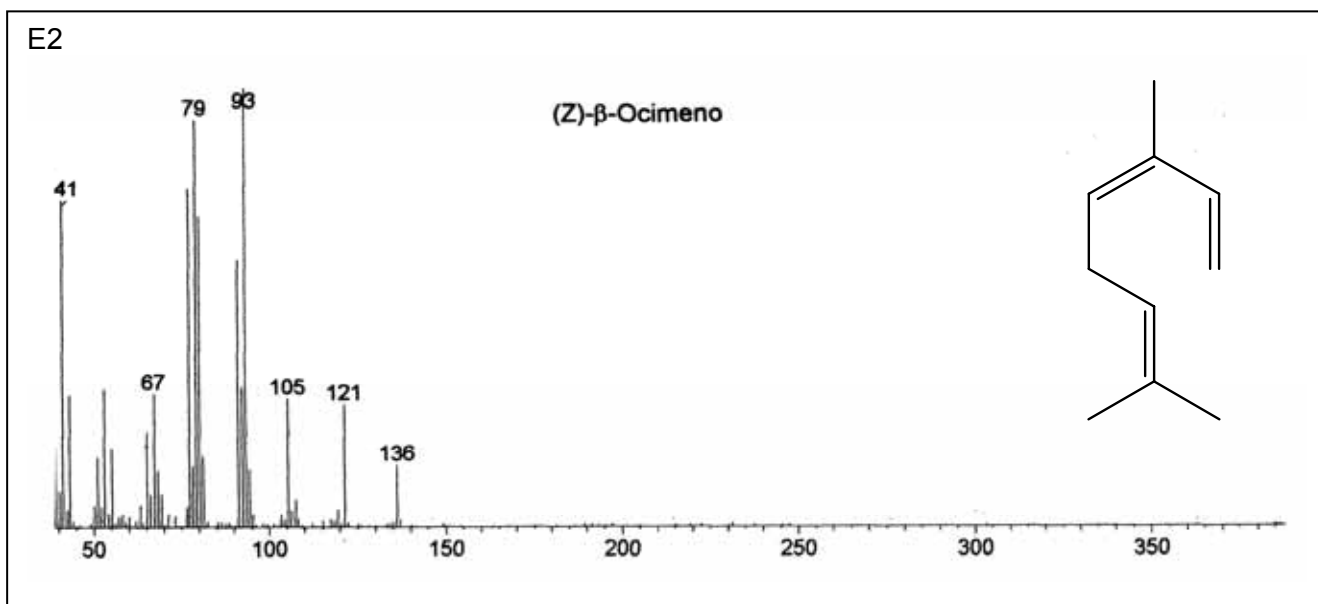
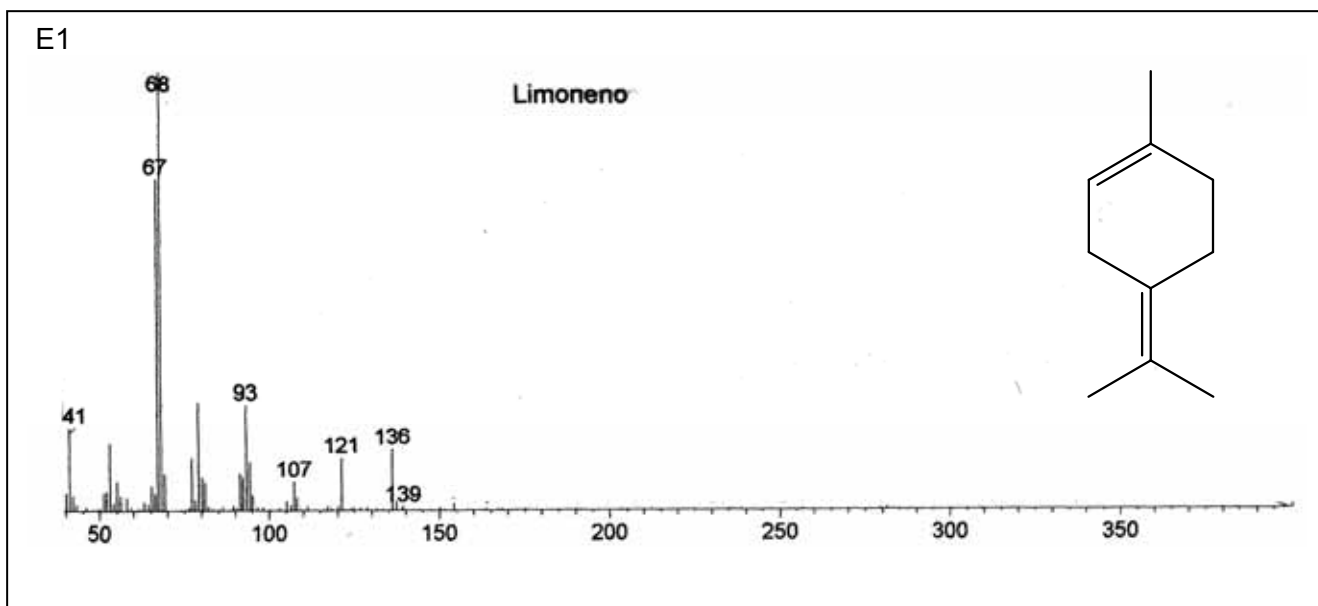




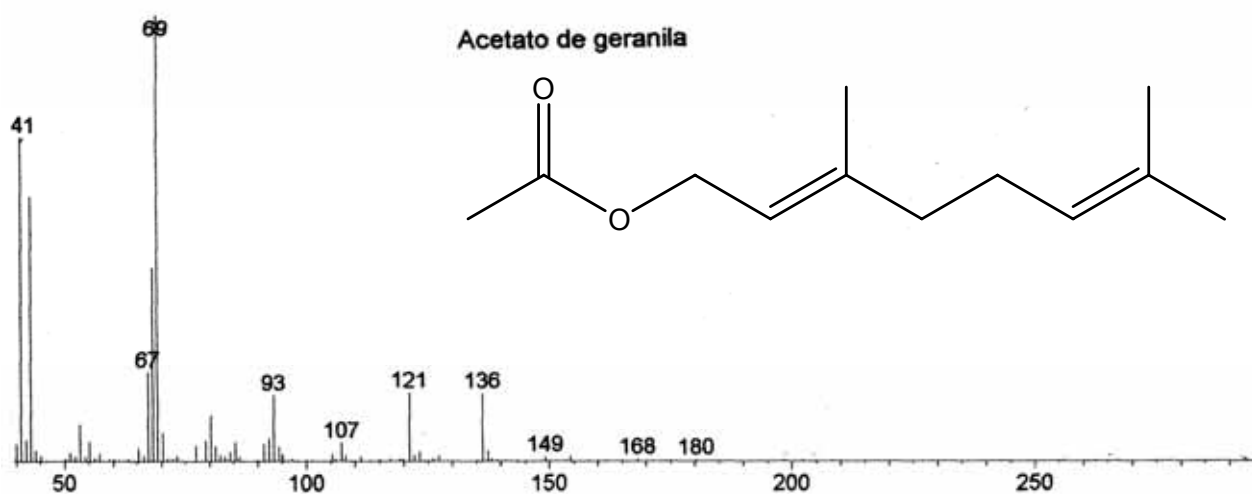




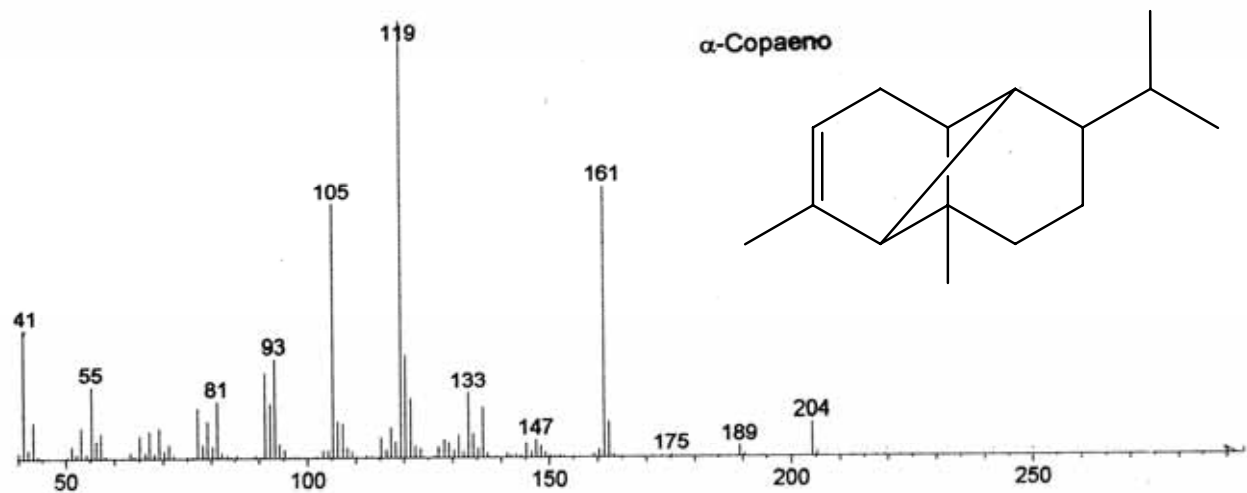




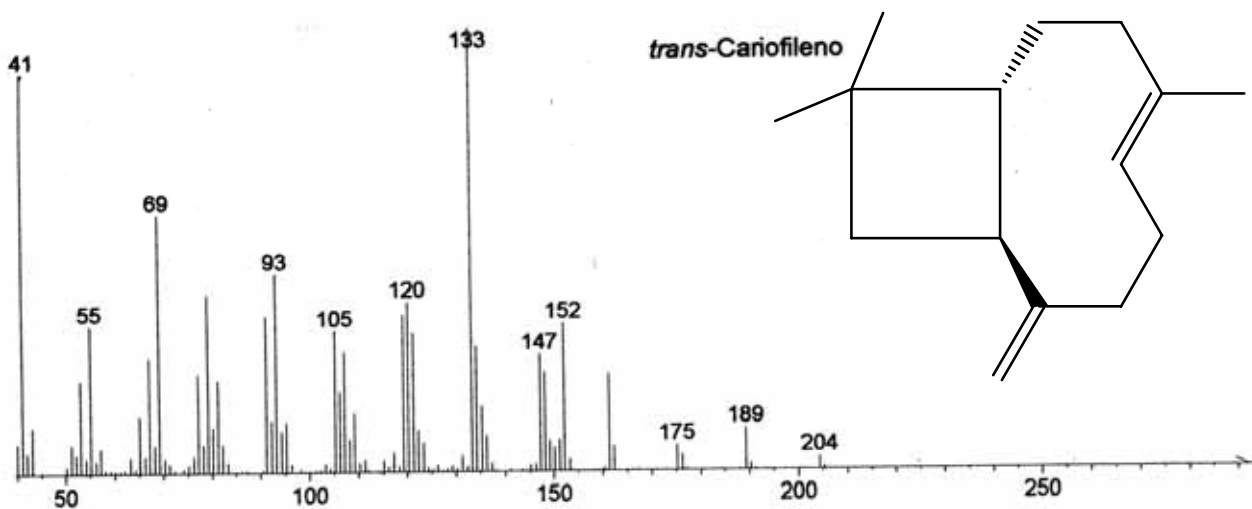
F1



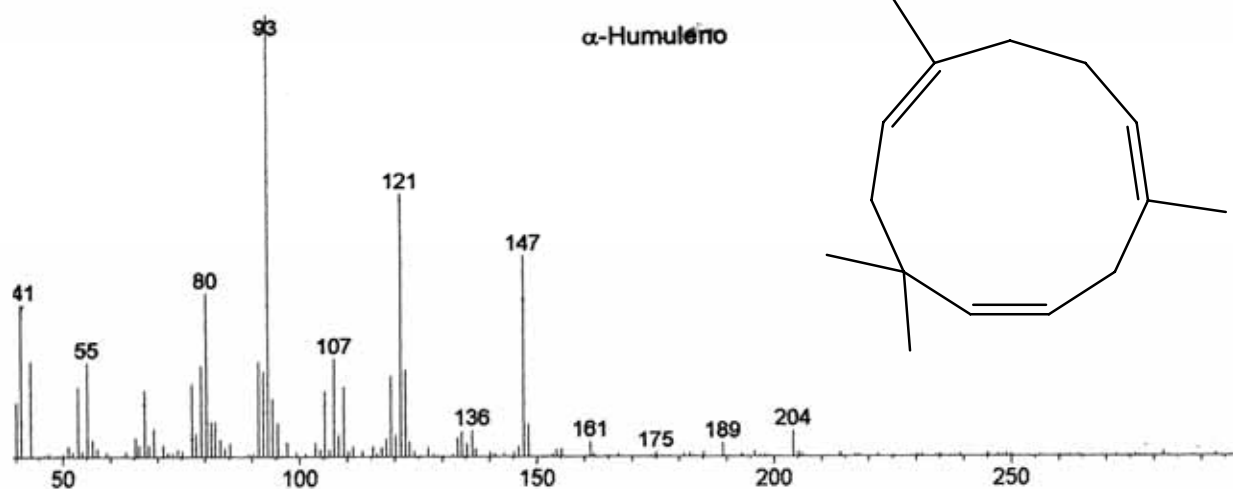
F2



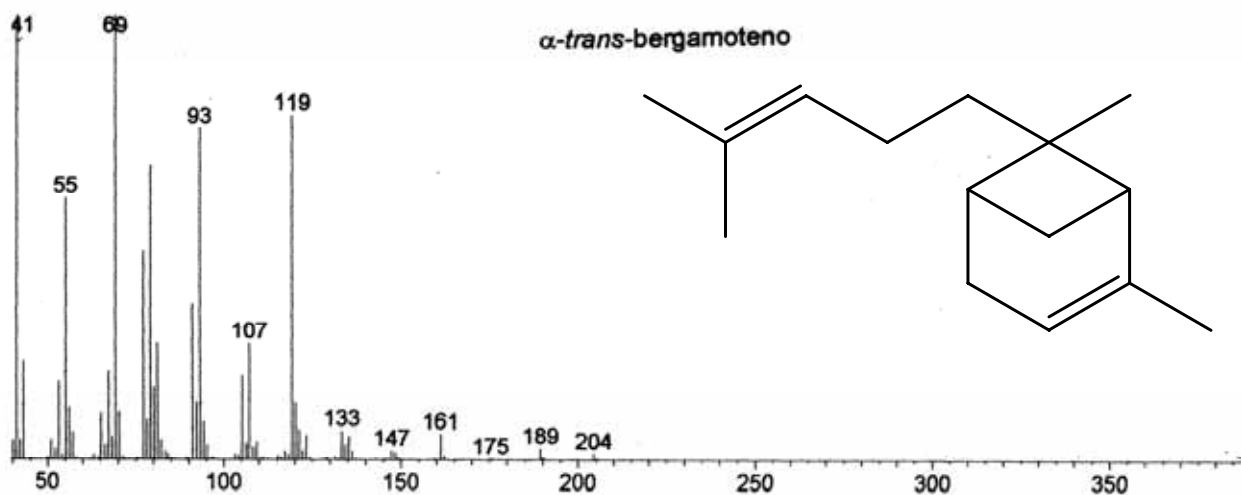
F3



F4



F5



F6

