



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA



THYAGO FERNANDO LISBOA RIBEIRO

**ESTUDO DA INTERAÇÃO ENTRE CULTIVARES DE MANDIOCA E
MOSCA-BRANCA *Aleurothrixus aepim* (Goeldi, 1886) (Hemiptera: Aleyrodidae) EM
BUSCA DE NOVAS FONTES DE RESISTÊNCIA**

Maceió

2020

THYAGO FERNANDO LISBOA RIBEIRO

**ESTUDO DA INTERAÇÃO ENTRE CULTIVARES DE MANDIOCA E
MOSCA-BRANCA *Aleurothrixus aepim* (Goeldi, 1886) (Hemiptera: Aleyrodidae) EM
BUSCA DE NOVAS FONTES DE RESISTÊNCIA**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Química e Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Sant'ana

Co-Orientador: Dr. Alessandro Riffel (*in memoriam*)

Maceió

2020

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

R484e Ribeiro, Thyago Fernando Lisboa.

Estudo da interação entre cultivares de mandioca e mosca-branca *Aleurothrixus aepim* (Goeldi, 1886) (Hemiptera: Aleyrodidae) : em busca de novas fontes de resistência / Thyago Fernando Lisboa Ribeiro. – 2020.
125 f. : il., graf., tabs. color.

Orientador: Antônio Euzébio Goulart Sant'ana.

Co-orientador: Alessandro Riffel.

Tese (doutorado em ciências) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia. Maceió, 2020.

Bibliografia: f. 103-125.

1. Compostos orgânicos voláteis. 2. (E)- β -ocimeno. 3. Resistência a doenças e pragas. 4. Metabolômica. 5. Mandioca. 6. Mosca-branca. I. Título.

CDU: 661.163



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E
BIOTECNOLOGIA



BR 104 Km14, Campus A. C. Simões
Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins
57072-970, Maceió-AL, Brasil
Fone: (82) 3214-1144
Email: ppgqb.ufal@gmail.com

FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora da Defesa de Tese do Doutorando **THYAGO FERNANDO LISBOA RIBEIRO** intitulada: “**ESTUDO DA INTERAÇÃO ENTRE CULTIVARES DE MANDIOCA E MOSCA-BRANCA *Aleurothrixus aepim* (Goeldi, 1886) (Hemiptera: Aleyrodidae) EM BUSCA DE NOVAS FONTES DE RESISTÊNCIA**”, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas no dia 7 de agosto de 2020, às 9h, por meio de videoconferência, link: meet.google.com/yfg-pvkf-bkd.

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart
Santana
Orientador (PPGQB/IQB/UFAL)

Prof. Dra. Fabiane Caxico de Abreu Galdino
(Pesq. CNPq/PPGQB-IQB-UFAL)

Prof. Dr. João Gomes da Costa
(Pesq. CNPq/EMBRAPA/PPGAA)

Prof. Dr. Johnatan Duarte de Freitas
(IFAL)

Prof. Dr. Charles dos Santos Estevam
(Pesq. CNPq/UFS)

Ao meu Pai Antonio Ribeiro e à minha mãe Maria Lisboa, à minha amada esposa Lanne Machado e à minha linda e amada filha Isabelly e aos meus irmãos Paullo, Marcyo e Karlos, por acreditarem no meu sonho, pela compreensão, carinho e por se fazerem presentes em todos os momentos de dificuldade e alegria.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por ter me guiado, me protegido e ter colocado pessoas iluminadas na minha vida. “(Deus é a luz do meu Caminho)”.

Ao Professor Dr. Antônio Euzébio Goulart Santana pela orientação, paciência, oportunidades e ensinamentos imprescindíveis para realização deste trabalho.

Aos Amigos Demétrios, Miguel Gutierrez, Jaqueline, Regina, Thássia, Isis, Vanderson, Alexandre, Adeildo, Alex altair, Analice, Ellen, Eliane, Joice, Raisa rios, Raissa, Viviane, Adilson sabino pelas boas horas de estudo e distração.

A todos os Amigos e colegas do laboratório de Pesquisa em Produtos e Recursos Naturais (LPqRN).

Ao técnico Aldy pela atenção, colaboração e amizade.

A todos os amigos e parentes que sempre acreditaram no meu potencial e ajudaram direta ou indiretamente para a realização desse objetivo.

Em especial dedico este trabalho ao meu eterno Orientador e amigo Dr. Alessandro Riffel (in memoriam) pela amizade, orientação, paciência, incentivo, oportunidades e ensinamentos imprescindíveis que foram fundamentais para o meu crescimento intelectual e pessoal, que vou carregar por toda minha vida.

RESUMO

A mandioca é uma das principais culturas agrícolas do Brasil, possuindo uma forte influência econômica, para a agricultura de forma geral. Apesar da alta produção agrícola, essa cultura sofre bastante com a incidência de pragas o que acarreta perdas consideráveis. Os semioquímicos e o desenvolvimento de plantas resistentes aparecem como alternativas viáveis, e ecologicamente correta, para atuar no controle destas pragas. Nesse trabalho, o objetivo foi analisar a fisiologia das folhas de dez cultivares de mandioca, identificar os COVs dos cultivares em plantas controle e infestadas com a mosca-branca, avaliar a atividade de seus COVs e do padrão químico (*E*)- β -ocimeno frente ao inseto e identificar os metabólitos solúveis de uma cultivar resistente (Equador72) e uma cultivar susceptível (BRS Jari) em ambos tratamentos. A análise morfológica foi realizada utilizando MEV, onde foi possível observar uma alta densidade de tricomas nas superfícies abaxial e adaxial da cultivar resistente e diferentes organizações de ceras epicuticulares nos cultivares. Os COVs foram analisados utilizando CG/EM, identificando um total de 59 compostos de diversas classes, como terpenos, hidrocarbonetos, álcoois, cetonas e aldeídos, os quais foram submetidos às análises multivariadas onde foram observadas formações de grupos, de acordo com a similaridade dos COVs emitidos. As plantas do tratamento infestado apresentaram diminuição significativa na emissão dos terpenos em comparação com as plantas sem infestação. Os extratos voláteis das cultivares BRS Jari e Equador 72 não apresentaram diferença significativa nos bioensaios de olfatométrica, entretanto, o padrão (*E*)- β -ocimeno na concentração de 250 ng/ μ L mostrou diferença significativa em relação ao hexano, mostrando uma ação repelente deste composto frente à mosca-branca. Foram identificados 16 metabólitos solúveis presentes nas cultivares Equador 72 e BRS Jari nos tratamentos controle e infestado, entre os metabólitos discriminantes presentes na cultivar resistente foram encontrados dois flavonóides em altas concentrações, a Rutina e o Kaempferol-3-O-rutinosídico que são compostos relacionados a resistência de plantas a insetos, foi observado também um alto nível dos açúcares, sacarose e glicose, muito embora ocorra uma redução significativa nos níveis de açúcares nos dois cultivares após a infestação.

Palavras-chave: Compostos Orgânicos Voláteis; (*E*)- β -ocimeno; Resistência; Metabolômica.

ABSTRACT

Cassava is one of the main crops in Brazil, having a strong economic influence, for agriculture in general. Despite the high agricultural production, this crop suffers greatly from the incidence of pests, which causes considerable losses. Semiochemicals and the development of resistant plants appear as viable and ecologically correct alternatives to act in the control of these pests. In this work, the objective was to analyze the leaf physiology of ten cassava cultivars, identify the VOCs of the cultivars of this cultivar in control plants and infested with whitefly, evaluate the activity of their VOCs and the chemical pattern (E)- β -ocimene against the insect and identify the soluble metabolites of a resistant cultivar (Ecuador 72) and a susceptible cultivar (BRS Jari) in both treatments. The morphological analysis was performed using SEM, where it was possible to observe a high density of trichomes on the abaxial and adaxial surfaces of the resistant cultivar and different organizations of epicuticular waxes in the cultivars. The VOCs were analyzed using CG/MS, identifying a total of 59 compounds from different classes, such as terpenes, hydrocarbons, alcohols, ketones, and aldehydes, which were submitted to multivariate analyzes where group formations were observed, according to the similarity of the VOCs emitted. The plants of the infested treatment showed a significant decrease in the emission of terpenes compared to plants without infestation. The volatile extracts of the BRS Jari and Equador 72 cultivars did not show any significant difference in the olfactometry bioassays, however, the (E)- β -ocimene standard in the concentration of 250 ng/ μ L showed a significant difference about hexane, showing a repellent action of this compound in front of the whitefly. 16 soluble metabolites present in the cultivars Equador 72 and BRS Jari were identified in the control and infested treatments, among the discriminant metabolites present in the resistant cultivar, two flavonoids were found in high concentrations, Rutina and Kaempferol-3-O-rutinosidic which are related compounds the resistance of plants to insects, a high level of sugars, sucrose, and glucose was also observed, although there is a significant reduction in sugar levels in both cultivars after infestation.

Key words: Volatile Organic Compounds; (E)- β -ocimene; Resistance; Metabolomics.

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|------------------|--|----|
| Figura 1 | Plantas de mandioca infestadas com mosca-branca <i>A. aepim</i> | 14 |
| Figura 2 | Principais rotas biossintéticas de COVs produzidos por plantas | 22 |
| Figura 3 | Vias biossintéticas de terpenóides | 24 |
| Figura 4 | Vias biossintéticas de fenilpropanoides/benzenóides | 25 |
| Figura 5 | Via biossintéticas da lipoxigenase (LOX) | 27 |
| Figura 6 | Cultivo das Plantas das diferentes cultivares de mandioca..... | 32 |
| Figura 7 | Mosca-branca (<i>A. aepim</i>) atacando plantas de mandioca campo e os danos causados. | 32 |
| Figura 8 | Microscópio eletrônico de varredura (MEV, Vega LM, TESCAN Orsay Holdin, Ljubljana, Czech República) (A) metalizador Q150R ES, Quoron®, (B) Microscópio parte externa e interna do microscópio com amostras montadas já metalizadas para serem analisadas, (C) Amostras em processo de análise..... | 34 |
| Figura 9 | Coleta dos COVs nas cultivares de mandioca | 35 |
| Figura 10 | Olfatometro em “Y” utilizado nos bioensaios..... | 37 |
| Figura 11 | Bioensaio de eletroantegráficos dos COVs das cultivares de mandioca frente à mosca-branca <i>A. aepim</i> | 38 |
| Figura 12 | Produto da PCR visualizado em gel de agarose | 41 |
| Figura 13 | Sequência final de <i>Aleurothrixus aepim</i> com aproximadamente 700pb obtidas neste trabalho | 42 |
| Figura 14 | Cera presente na parte adaxial (superior) das folhas das dez cultivares de mandioca (20 μm)..... | 44 |
| Figura 15 | Cera presente na parte abaxial (inferior) das folhas das dez cultivares de mandioca (20 μm)..... | 46 |
| Figura 16 | Tecido foliar presente na parte adaxial (superior) das folhas das dez cultivares de mandioca (200 μm)..... | 48 |

| | |
|--|----|
| Figura 17 Tecido foliar presente na parte adaxial (inferior) das folhas das dez cultivares de mandioca (200 µm)..... | 50 |
| Figura 18 Gráfico de scores das amostras obtido por PCA, relacionando as cultivares de mandioca de plantas controle, o qual levou a formação de quatro grupos. Grupo 1 (círculo vermelho); Grupo 2 (círculo verde); Grupo 3 (círculo azul) e Grupo 4 (círculo amarelo)..... | 58 |
| Figura 19 Gráfico de bit-plot dos compostos das dez cultivares de mandioca no tratamento controle..... | 60 |
| Figura 20 Dendograma mostrando o agrupamento de dez cultivares de mandioca do COVs no tratamento controle | 62 |
| Figura 21 Gráfico de scores das amostras obtido por PCA, relacionando as cultivares de mandioca de plantas infestada, o qual levou a formação de quatro grupos. Grupo 1 (círculo vermelho); Grupo 2 (círculo verde); Grupo 3 (círculo azul) e Grupo 4 (círculo amarelo) | 64 |
| Figura 22 Gráfico de bit-plot dos compostos das dez cultivares de mandioca no tratamento infestado..... | 66 |
| Figura 23 Dendograma mostrando o agrupamento de dez cultivares de mandioca do COVs no tratamento infestado..... | 67 |
| Figura 24 Diminuição da liberação de terpenos nas dez cultivares de mandioca infestadas com <i>A. aepim</i> | 73 |
| Figura 25 Porcentagem da repelência olfativa da Mosca-branca <i>A. aepim</i> aos COVs dos cultivares de mandioca e do padrão sintético (E)-β-Ocimeno, em olfatômetro em “Y” | 75 |
| Figura 26 Respostas eletroantegráficas das antenas da mosca-branca <i>A. aepim</i> frente aos COVs das cultivares de mandioca..... | 77 |
| Figura 27 Comparação dos espectros de RMN-1H de extrato de folhas de mandioca do Cultivar Equador 72 (Controle e Infestada) e Cultivar BRS Jari (Controle e Infestada) com as regiões características de algumas classes de metabólitos | 79 |
| Figura 28 Dados processados para análise multivariada das cultivares de mandioca estudada 40 espectros e 886.572 variáveis..... | 82 |

| | |
|---|----|
| Figura 29 Escores das PCA obtidos por espectros de RMN- ¹ H comparando as amostras BRS Jari e Equador 72..... | 83 |
| Figura 30 Escores da OPLS-DA das cultivares de mandioca BRS Jari Controle e Equador 72 Controle. (A) S-line mostrando os metabólitos discriminantes, sinais com fase positiva referem-se a cultivar BRS Jari e sinais com fase negativa referem-se a cultivar Equador 72 (B)..... | 84 |
| Figura 31 Boxplot das concentrações relativas dos metabólitos discriminantes presentes nas cultivares de mandioca Equador 72 Controle (resistente) e BRS Jari Controle (susceptível)..... | 85 |
| Figura 32 Escores da OPLS-DA das cultivares de mandioca Equador 72 Controle (Verde) e Equador 72 Infestada (Azul) (A). S-line mostrando os metabólitos discriminantes, sinais com fase positiva referem-se a cultivar Equador72 Controle e sinais com fase negativa referem-se a cultivar Equador72 Infestada (B)..... | 86 |
| Figura 33 Boxplot das concentrações relativas dos metabólitos discriminantes presentes nas cultivares de mandioca Equador 72 Controle e Infestado (resistente). | 87 |
| Figura 34 Escores da OPLS-DA das cultivares de mandioca BRS Jari Controle (Vermelho) e BRS Jari Infestada (Amarelo) (A). S-line mostrando os metabólitos discriminantes, sinais com fase positiva referem-se a cultivar BRS Jari Infestada e sinais com fase negativa referem-se a cultivar BRS Jari Controle (B)..... | 88 |
| Figura 35 Boxplot das concentrações relativas dos metabólitos discriminantes presentes nas cultivares de mandioca BRS Jari Controle e Infestado (Susceptível). | 89 |
| Figura 36 Escores da OPLS-DA das cultivares de mandioca Equador 72 Infestada (Azul) e BRS Jari Infestada (Amarelo) (A). S-line mostrando os metabólitos discriminantes, sinais com fase positiva referem-se a cultivar BRS Jari Infestada e sinais com fase negativa referem-se a cultivar Equador 72 infestada (B)..... | 90 |

Figura 37 Boxplot das concentrações relativas dos metabólitos discriminantes presentes nas cultivares de mandioca BRS Jari Infestado (Susceptível) e Equador 72 Infestado (Resistente).....91

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 Produção mundial de mandioca em raiz (milhões de toneladas) | 12 |
| Tabela 2 Cultivares de mandioca utilizadas no estudo..... | 31 |
| Tabela 3 Compostos voláteis identificados nas dez cultivares de mandioca, nos tratamentos de controle e infestado..... | 53 |
| Tabela 4 Agrupamentos entre os dez genótipos de mandioca no tratamento controle, obtidos pelo método de otimização de Tocher, com base na distância Euclidiana média padronizada, considerando os diferentes compostos orgânicos voláteis..... | 61 |
| Tabela 5 Agrupamentos entre os dez genótipos de mandioca no tratamento infestado, obtidos pelo método de otimização de Tocher, com base na distância Euclidiana média padronizada, considerando os diferentes compostos orgânicos voláteis..... | 68 |
| Tabela 6 Metabolitos solúveis encontrados nas cultivares de mandioca Equador 72 e BRS Jari..... | 80 |

LISTA DE ABREVIATURAS

CG/EM - Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
CG-DIC - Cromatografia gasosa acoplada a um detector por ionização de chama
CNgls - Glicosídeos cianogênicos
DMAPP - Dimetilalil difosfato
DMNT – (*E*)-4,8-dimetil-1,3,7-nonatrieno
DXP – Desoxilulose fosfato
EAG - Eletroantenografia
FPP - Farnesil difosfato
GAP - Gliceraldeído-3-fosfato
GPP - Geranil difosfato
IPP - Isopentenil difosfato
LOX - Lipoxigenase
mA - Miliampere
MEP - Metileritritol-fosfato
MEV - Microscopia eletrônica de varredura
MVA - Ácido mevalônico
PAL - Fenilalanina amônia liase
PCR- Reação em Cadeia da Polimerase
PEP – Fosfoenol piruvato
PGA - Ácido 3-fosfoglicerato
PPP - Pentose fosfato
RMN Ressonância Magnética Nuclear
TMTT - (*E,E*)-4,8,12-trimetil-1,3,7,11-tridecatetraeno

SUMÁRIO

| | | |
|-------------|--|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 9 |
| 2 | REFERENCIAL TEÓRICO | 10 |
| 2.1 | Mandioca | 11 |
| 2.2 | Principais insetos-praga da mandioca | 13 |
| 2.3 | Mosca-branca - <i>Aleurothrixus aepim</i> (Goeldi, 1886) (Hemiptera: Aleyrodidae) | 14 |
| 2.4 | Mecanismos de resistência de planta | 15 |
| 2.5 | Semioquímicos | 17 |
| 2.6 | Manejo integrado de pragas (MIP) | 18 |
| 2.7 | Compostos Orgânicos Voláteis (COVs) liberados por plantas | 20 |
| 2.8 | Biossíntese dos compostos orgânicos voláteis em plantas | 22 |
| 2.9 | Biossíntese de terpenóides | 23 |
| 2.10 | Biossíntese de fenilpropanóides/benzenóides | 24 |
| 2.11 | Biossíntese dos voláteis derivados de ácidos graxos | 26 |
| 2.12 | Análise metabolômica em plantas | 28 |
| 3 | OBJETIVOS | 30 |
| 3.1 | Objetivo geral | 30 |
| 3.2 | Objetivos específicos | 30 |
| 4 | MATERIAL E MÉTODOS | 31 |
| 4.1 | Perfil dos compostos orgânicos voláteis (COVs) de diferentes cultivares de Mandioca | 31 |

| | | |
|------------|--|-----------|
| 4.1.1 | Obtenção e manutenção das planta | 31 |
| 4.1.2 | Obtenção da Mosca-branca <i>Aleurothrixus aepim</i> | 32 |
| 4.2 | Identificação Molecular da mosca-branca (<i>A. aepim</i>) | 33 |
| 4.2.1 | Local de coleta..... | 33 |
| 4.2.2 | Extração de DNA, Reação em cadeia da polimerase (PCR) e sequenciamento..... | 33 |
| 4.2.3 | Análise das sequências de DNA..... | 33 |
| 4.3 | Análises morfológica das folhas dos cultivares de mandioca utilizando MEV.. | 34 |
| 4.4 | Coleta dos compostos orgânicos voláteis das plantas dos dez cultivares de mandioca..... | 35 |
| 4.5 | Análise dos COVs..... | 35 |
| 4.6 | Quantificação dos COVs das cultivares de mandioca | 36 |
| 4.7 | Bioensaios de olfatométrica e eletroantenografia | 36 |
| 4.8 | Extração e análises dos metabolitos solúveis das plantas de mandioca..... | 39 |
| 4.9 | Análises estatísticas..... | 40 |
| 5 | RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 41 |
| 5.1 | Análise molecular da mosca-branca <i>A. aepim</i> | 41 |
| 5.2 | Análise morfológica da superfície de folhas de 10 cultivares de mandioca..... | 43 |
| 5.3 | Perfis dos COVs de dez cultivares de mandioca | 52 |
| 5.4 | Bioensaios comportamentais e eletroantegráficos dos COVs das cultivares de mandioca frente à mosca-branca <i>Aleurothrixus aepim</i>..... | 75 |
| 5.5 | Análises metabolômica das plantas de mandioca | 79 |
| 5.5.1 | Perfil metabolômico dos cultivares de mandioca | 79 |
| 5.5.2 | Análise multivariada das cultivares de mandioca Equador 72 e BRS Jari | 81 |

| | | |
|----------|-------------------------|------------|
| 6 | CONCLUSÃO..... | 101 |
| 7 | REFERÊNCIAS..... | 102 |

1 INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta*, Cranz) é uma cultura muito importante a nível mundial. O Brasil ocupa a 4ª colocação no ranking mundial com uma produção de aproximadamente 20 milhões de toneladas anuais. Essa é cultivada em todas as regiões do nosso país, ressaltando a importância desta, que historicamente apresenta forte influência socioeconômica, sendo de grande valor para o pequeno agricultor ou agricultura familiar. É uma cultura que apesar de ser considerada resistente, sofre com a incidência de um grande número de insetos-pragas, o que acaba acarretando perdas consideráveis na produção. Atualmente, os métodos de controle de insetos pragas são na sua maioria realizados através do uso dos inseticidas que em alguns casos são eficientes, entretanto, podem causar danos ambientais se acumulando no ambiente e trazendo diversos problemas à saúde humana e ao meio ambiente. Com todos esses problemas causados pelo uso de inseticidas, vem se buscando alternativas para o controle desses insetos-praga. Os semioquímicos e a utilização de cultivares resistentes aparecem como possibilidades viáveis e, ecologicamente corretas, para atuar no controle de insetos-praga. O entendimento dos mecanismos de defesa usados pelas plantas resistentes, frente aos insetos pragas, em especial a mosca-branca, são fundamentais para o desenvolvimento de estratégia-controle para esses insetos. Portanto, este trabalho visa, através dos estudos metabolômicos, usando para esse fim os metabólitos voláteis, metabólitos solúveis e as análises de fisiologia das folhas de plantas de mandioca resistentes a mosca-branca promover o avanço no conhecimento dessa cultura para uma possível aplicação no manejo de pragas da mandioca. O trabalho procurou identificar a presença de barreiras físicas presentes nas folhas de mandioca, além de identificar os COVs responsáveis ou que colaboram com a resistência da mandioca a pragas e, identificar quais metabólitos solúveis que são responsáveis pela resistência da cultivar, essas informações podem ser utilizadas pelos programas de melhoramento genético no desenvolvimento de cultivares mais resistentes.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A produção agropecuária brasileira vem crescendo de forma extraordinária e tem se consolidado como uma das maiores fornecedoras de alimentos para o mundo, alcançando sucessivos recordes de produção e utilizando as mais altas tecnologias e práticas que buscam a sustentabilidade, em um dos setores que mais contribuem para o desenvolvimento econômico do país (CONAB, 2019). A organização e o intenso processo de modernização das cadeias produtivas do agronegócio brasileiro fizeram com que às atividades agrícolas, como os de produção de insumos, processamento e distribuição, apresentassem importância cada vez maior no Produto Interno Bruto (PIB). Apesar da pandemia do novo coronavírus, o PIB do setor agropecuário brasileiro deve registrar crescimento de 2,5% em 2020 (<http://www.ipea.gov.br>, 2020). À medida que esse processo foi se consolidando, o Brasil foi se transformando num grande player no negócio agrícola global. Entre 1977 e 2017, a produção de grãos (algodão-caroto, amendoim, arroz, aveia, canola, centeio, cevada, feijão, girassol, mamona, milho, soja, sorgo, trigo e triticale), que era de 47 milhões de toneladas, cresceu mais de cinco vezes, atingindo 237 milhões enquanto a área plantada aumentou 60%. Entretanto, o maior impulso se deu a partir de 1990, em grande parte devido ao crescimento das exportações, que se tornaram a força motriz do crescimento recente da agricultura brasileira. O País é atualmente o principal exportador de suco de laranja, açúcar, café e carnes bovina, suína e de aves, de soja e milho (CONAB, 2019, EMBRAPA, 2018).

A agricultura brasileira passou nas duas últimas décadas por uma profunda transformação, principalmente na produção de grãos que, atualmente, já se iguala aos países mais evoluídos. No campo da pesquisa agrícola destaca-se a genética das nossas sementes, as práticas conservacionistas do solo, adubação adequada, a assistência técnica oficial e privada e a disponibilidade de crédito facilitado que elevaram o país aos patamares dos melhores produtores mundiais. A biotecnologia é, portanto, essencial dentro desse processo, que busca maior produção com utilização mais eficiente dos recursos naturais (VIEIRA FILHO, GASQUES, 2016).

Entre as culturas responsáveis pela alta produtividade agrícola brasileira estão: soja, milho, cana-de-açúcar, café, arroz, laranja, mandioca, entre outras. O Brasil é dividido em cinco macrorregiões: Centro-oeste, Norte, Sudeste, Sul e Nordeste. A região nordeste tem entre as suas principais culturas agrícola: a cana-de-açúcar, soja, milho, mandioca e banana.

2.1 Mandioca

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma planta pertencente à família Euphorbiaceae, originária da América do Sul, é cultivada por pequenos agricultores em mais de 100 países tropicais e subtropicais, graças ao seu uso eficiente de nutrientes do solo, da água e à tolerância à seca e a pragas. A mandioca pode produzir rendimentos razoáveis, utilizando poucos ou nenhum insumo, em áreas com solos pobres e pouca chuvas, essa cultura é muito rica em carboidratos, o que torna a mandioca uma importante fonte de energia na dieta (FAO, 2013).

Neste universo de alimentos, a mandioca que vem ocupando espaço de relevância, principalmente nos países mais pobres, onde a maioria da população é de baixa renda. Cabe destacar a sua importância no Continente Africano onde, nas últimas décadas a mandioca representa mais de 50% da produção mundial e com perspectivas de crescimento para os próximos anos (SEAB, 2018). Essa cultura é sensível a baixas temperaturas, sendo cultivada principalmente em regiões tropicais e subtropicais. Hoje é cultivada por milhões de pequenos agricultores em mais de 100 países, onde apresenta uma variedade de nomes locais: mandioca no Brasil, yuca em Honduras, ketela pohon na Indonésia, mihogo no Quênia, akpu na Nigéria e san no Vietnã (FAO, 2013).

A produção global de mandioca vem crescendo e em 2018 teve um total de 277 milhões de toneladas (equivalente a raiz fresca). A mandioca mantém o status de uma das culturas básicas de mais rápida expansão a nível global, registrando em duas décadas o crescimento ininterrupto acima de 3% ao ano, mas uma combinação de mudanças de política e preços de raiz baixos nos principais países produtores, especialmente no sudeste da Ásia, estava por trás de plantações menores e, conseqüentemente, de perspectivas de colheita reduzidas para 2018. É difícil prever a produção de mandioca, devido à falta generalizada de dados sobre as expectativas de colheita e informações insignificantes sobre as intenções de plantio (FAO, 2018).

A maioria de sua produção se destina ao consumo humano e na forma “in natura”, geralmente cozida, sem sofrer grandes modificações industriais. Dentre os principais países produtores de mandioca, no mundo, destaca-se a Nigéria que há vários anos assumiu a liderança na produção mundial e continua apresentando altas taxas de crescimento, logo em seguida o segundo e terceiro maiores produtores vem do continente asiático, onde a cultura da mandioca já atingiu um desenvolvimento considerado bastante satisfatório, em especial na Tailândia e na Indonésia, que aplicam pesados recursos nas pesquisas agrícola e industrial. Esses países destacam-se, porque juntos representam cerca de 60% da produção de mandioca na Ásia, que

registrou um volume de 90,7 milhões de toneladas no ano de 2014, na quinta posição vem Gana, que também está ampliando os plantios e amenizando os problemas crônicos da alimentação básica da sua grande maioria populacional (Tabela 1)(FAO, 2018; FAO, 2013; SEAB, 2018).

Tabela 1- Produção mundial de mandioca em raiz (milhões de toneladas).

| Países | 2015 | 2016 | 2017 | 2018 |
|-----------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| ÁFRICA | 152 822 | 155 607 | 157 453 | 160 730 |
| Nigéria | 57 643 | 57 855 | 55 069 | 56 000 |
| República d. do Congo | 15 300 | 15 200 | 14 950 | 15 200 |
| Gana | 17 213 | 17 798 | 19 138 | 19 441 |
| Moçambique | 8 103 | 9 100 | 10 920 | 12 198 |
| AMÉRICA LATINA | 32 309 | 30 279 | 29 915 | 30 593 |
| Brasil | 23 060 | 21 080 | 20 610 | 20 940 |
| ÁSIA | 91 689 | 90 383 | 88 051 | 85 511 |
| Tailândia | 32 358 | 31 161 | 30 495 | 27 240 |
| Indonésia | 21 801 | 20 261 | 19 046 | 21 000 |
| Viet Nam | 10 740 | 10 925 | 11 263 | 10 500 |
| Cambodia | 11 944 | 13 222 | 13 387 | 13 000 |

Fonte:(FAO, 2018)

O Brasil continua entre os principais países produtores de mandioca e ocupa a 4ª colocação no ranking mundial, com aproximadamente 21 milhões de toneladas anuais. De certa forma, a produção brasileira de mandioca não apresenta variações nas últimas safras, o volume alcançado se estabilizou em torno de 20 a 21 milhões de toneladas (CONAB, 2017; SEAB, 2018). O cultivo da mandioca é bastante difundido no Brasil, pois a cultura se adapta bem às diversas condições de clima e solo do país. Nas áreas rurais, principalmente das regiões, norte e nordeste, constitui a base da alimentação de muitas populações, o que lhe confere um caráter vinculado à segurança alimentar. As raízes são ricas em carboidratos e muito apreciadas, podendo ser consumidas após simples cozimento e/ou após transformação em diversos tipos de farinhas. Além disso, as folhas podem ser aproveitadas na alimentação humana (suplemento) e animal (triturada). As hastes, na alimentação animal, sob a forma de silagens, fenos e ainda “in

natura” (CONAB, 2014, 2017). Diferente de outras culturas, como café, algodão e trigo, que são restritas a determinadas regiões, o cultivo da mandioca está presente em todos os estados brasileiros. Sua adaptabilidade às mais diversas condições climáticas garante à cultura da mandioca o sucesso de sua exploração (SEAB,2014).

Na safra de 2017, a região nordeste registrou uma produção de 5,17 milhões de toneladas, sendo a segunda maior produção entre as regiões do Brasil. A maior produção estadual de mandioca pertence ao Estado do Pará com 20,55% da fatia nacional, seguido pelo Estado do Paraná com 14,79%. Distanciando-se de suas margens históricas de produção, o Estado da Bahia está na 3ª colocação com 10,09%, a produção mais modesta é apresentada pelo estado do Maranhão, com apenas 6,38% ocupando a 4ª colocação no ranking nacional. Os demais estados da Federação Brasileira, juntos, detém pouco mais de 48% da produção nacional de mandioca (CONAB, 2017; FERNANDES et al, 2017).

2.2 Principais insetos-praga da mandioca

A mandioca, por se tratar de uma cultura de ciclo longo, está sujeita a diversos ataques de insetos e ácaros, alguns classificados como pragas de maior importância, podendo causar danos severos à cultura e resultar em perdas no rendimento. Já foram identificadas cerca de 200 espécies de insetos e ácaros que atacam a cultura. É importante conhecer tanto as pragas principais como as de menor importância, o que varia de região para região, de modo que se possa estabelecer uma estratégia de controle adequada. Dentre os principais insetos-praga estão: percevejo-de-renda, *Vatiga illudens* (Drake, 1922), mandarová (*Erinnyis ello ello* L.), ácaros (*Mononychellus tanajoa* e *Tetranychus urticae*), cochonilha (*Phenacoccus manihot*), diversas espécies de mosca-branca (*Aleurothrixus aepim* (Goldi), *Bemisia tuberculata* Bondar, *Bemisa tabaci* biótipo B, *Trialeurodes variabilis* (Quaintance) e *Trialeurodes vaporariorum*) (CARVALHO, RINGENBERG, et al., 2015, DE OLIVEIRA, LIMA, 2006, FAO, 2013a, LORENZI, OTSUBO, et al., 2002). Em nosso trabalho daremos ênfase ao estudo da interação da mandioca e a mosca-branca *A. aepim*.

2.3 Mosca-branca - *Aleurothrixus aepim* (Goeldi, 1886) (Hemiptera: Aleyrodidae).

As moscas-brancas *A. aepim* são insetos pequenos (cerca de 1mm a 2mm de comprimento), os adultos são bastante ágeis e localizam-se principalmente na parte superior das plantas de mandioca, apresentam asas membranosas cobertas com uma pulverulência branca (Figura 1). Em repouso, as asas são mantidas levemente separadas, com os lados paralelos, deixando o abdome visível. Os ovos apresentam coloração amarelada, são periformes e medem de 0,2 mm a 0,3 mm. As ninfas são transparentes e apresentam coloração amarela a amarelo-pálida e ficam na face inferior de folhas mais velhas. A fase jovem deste inseto passa por quatro instares, o ciclo total do inseto é de aproximadamente 18 a 19 dias. As moscas-brancas *A. aepim* alimentam diretamente das folhas jovens da mandioca e também são um vetor de vírus, tornando-as provavelmente a praga de insetos mais prejudicial em todas as regiões produtoras de mandioca (FIALHO, J. F., VIEIRA, 2011, PIETROWSKI, VANDA., RINGENBERGER, R., RHEINHEIMER, A. R., BELLON, P. P., GAZOLA, D., MIRANDA, 2010).

Figura 1 Plantas de mandioca infestadas com mosca-branca *A. aepim*.



A- Mosca-branca; B- Plantas de mandioca infestadas com mosca-branca; C- Ovos e ninfas de mosca-branca da *A. aepim*. Fonte: (FIALHO, J. F., VIEIRA, 2011, PIETROWSKI, VANDA., RINGENBERGER, R., RHEINHEIMER, A. R., BELLON, P. P., GAZOLA, D., MIRANDA, 2010).

Altas populações de mosca-branca geralmente ocorrem em períodos chuvosos, embora geralmente esteja presente durante todo o ciclo da cultura (PIETROWSKI, VANDA., RINGENBERGER, R., RHEINHEIMER, A. R., BELLON, P. P., GAZOLA, D., MIRANDA, 2010). As moscas-brancas são consideradas um dos insetos praga que mais causam prejuízos à agricultura no mundo, podendo causar danos diretos através da alimentação e/ou indiretos, como vetores de vírus (LIMA, RINGENBERG, *et al.*, 2015). Essa praga causa danos diretos consideráveis ao perfurar e sugar a seiva das folhas, causando sintomas como clorose,

deformação e desfolhamento, e o dano indireto mais importante causado por esta praga é a transmissão de vários vírus de plantas, como a doença do mosaico da mandioca (CMD) e doença da faixa marrom da mandioca (CBSD)(BELLOTTI, A. C., ARIAS, 2001, JACOBSON, DUFFY, *et al.*, 2018). Todos esses sintomas reduzem o rendimento e a qualidade das raízes (BELLOTTI, A. C., ARIAS, 2001, CARABALÍ, BELLOTTI, *et al.*, 2010a) .

Formas de controle

Recomenda-se o plantio de espécies vegetais não hospedeiras de mosca-branca, como algumas gramíneas (milho ou sorgo) intercaladas com as plantas de mandioca. Essa prática pode reduzir as populações da praga. O uso de cultivares mais tolerantes é o método mais indicado para o controle das moscas-brancas. Para o controle dessa praga não se recomendam os inseticidas químicos convencionais por serem ineficientes e por não serem registrados para a cultura da mandioca no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) (FIALHO, J. F., VIEIRA, 2011, MOREIRA, FARIAS, *et al.*, 2006).

Pulverizações com detergente neutro e óleo vegetal, ambos a 1% de concentração, a cada cinco dias, direcionadas para a parte inferior das folhas, podem reduzir as populações da praga. As aplicações devem começar logo após a constatação dos primeiros surtos e/ou focos da praga. Outras práticas também devem ser observadas como: manter a cultura limpa; não abandonar a cultura afetada, para não servir de criatório das moscas-brancas; destruir os restos culturais após a colheita; adquirir estacas ou manivas-sementes isentas da praga; evitar o plantio próximo as áreas afetadas; evitar tráfegar em áreas afetadas; não aproveitar manivas das áreas infestadas pela praga. O fungo *Cladosporium cladosporioides* também pode ser utilizado em pulverização para o controle natural das ninfas (FIALHO, J. F., VIEIRA, 2011, MOREIRA, FARIAS, *et al.*, 2006).

2.4 Mecanismo de resistência de plantas

A resistência de plantas a insetos pode ser definida como a soma de qualidades hereditárias possuídas pela planta, as quais influenciam no resultado do grau de dano que o inseto causa. Isto representa a capacidade que certas plantas possuem de alcançarem maior produção de boa qualidade, que outras variedades em geral, sob condições iguais (LARA,

1998). As plantas que apresentavam características de resistência foram selecionadas e favorecidas pela seleção natural naqueles ambientes onde a herbivoria exercia significativa pressão seletiva, sobrevivendo ao longo do tempo evolutivo. Dessa forma, não é difícil compreender porquê várias espécies silvestres e linhagens pouco melhoradas apresentam altos níveis de resistência, porém são pouco produtivas. As características fenotípicas, físicas, morfológicas e/ou químicas são expressadas para torná-las menos infestadas ou injuriadas que outras (suscetíveis), a resistência é hereditária e específica a um determinado inseto, afetando seu comportamento, fisiologia e biologia (BOIÇA JÚNIOR, SOUZA, *et al.*, 2016).

Tipos de Resistência

As plantas respondem à herbivoria por meio de vários mecanismos morfológicos, bioquímicos e moleculares para combater/compensar os efeitos do ataque de herbívoros. Uma planta, ou variedade, possui diversos meios para resistir ao ataque de pragas. Esses meios constituem os tipos de resistência. A resistência de planta ao inseto, na maioria das vezes, afeta os insetos em seu comportamento ou na sua biologia, e em alguns casos ocorre uma simples reação da própria planta sem nenhum efeito direto ao inseto (LARA, 1998). A identificação de genótipos resistentes é frequentemente acompanhada de pesquisas destinadas a permitir a atribuição de genótipos resistentes a uma ou mais das três categorias: antixenose, antibiose e tolerâncias, as quais não ocorrem de forma isolada, sendo comum a combinação dessas características (PETERSON, VARELLA, *et al.*, 2017, STOUT, 2014)

Antixenose

É o mecanismo de resistência mais preferido devido a sua capacidade de impedir o ataque de insetos (PETERSON, VARELLA, *et al.*, 2017). É um dos tipos de resistência de plantas, e acontece quando plantas de uma variedade sofre danos menores quando comparada com plantas de outras variedades sob as mesmas condições, sendo esses danos de alimentação, oviposição ou abrigo. Este tipo de resistência exprime uma mudança no comportamento do inseto em relação à planta (LARA, 1998).

Antibiose

A antibiose é o resultado da ação de bioquímicos vegetais nos processos biológicos de herbívoros insetos. Este tipo de resistência acontece para descrever os efeitos adversos de

plantas resistentes na fisiologia dos herbívoros quando o inseto se alimenta normalmente da planta, e a planta exerce um efeito adverso sobre a biologia deste inseto, causando assim efeitos diretos no histórico de vida, como crescimento reduzido, sobrevivência, fecundidade, mortalidade nas fases iniciais e redução de peso (PETERSON, VARELLA, *et al.*, 2017, STOUT, 2014).

Tolerância

A tolerância das plantas é um conjunto complexo de características genéticas que permitem que uma planta resista ou se recupere de dano de artrópode (SMITH, CLEMENT, 2011). Esse tipo de resistência acontece quando as plantas de uma variedade sofrem menos danos em relação às plantas de outras variedades sob o mesmo nível de infestação de uma determinada espécie de inseto, sem afetar o comportamento desse inseto ou sua biologia. Assim, as plantas com esse tipo de resistência possuem a capacidade de suportar o ataque da praga, quer seja através da regeneração dos tecidos destruídos, emissão de novos ramos ou perfilhos ou por qualquer outra forma, não deixando que o dano sofrido provoque perdas significativas na sua qualidade e quantidade de produção (LARA, 1998).

2.5 Semioquímicos

Semioquímicos são substâncias ou misturas de substâncias liberadas de um organismo que evocam uma resposta comportamental ou fisiológica entre membros da mesma espécie ou de espécies diferentes (ABD EL-GHANY, 2019, AGELOPOULOS, HOOPER, *et al.*, 1999, AGELOPOULOS, PICKETT, 1998, ZARBIN, RODRIGUES, *et al.*, 2009). A sinalização química entre os indivíduos é claramente um dos primeiros tipos de intercâmbio de informações que aparecem na longa história de vida na terra, muito antes do desenvolvimento dos estímulos visuais ou auditivos. De fato, a forma de comunicação química via semioquímicos continua a ser a forma dominante de comunicação entre muitos animais (SONENSHINE, 2004).

A palavra semioquímicos, (*semeion* em grego) que significa sinal, podem ser definidas das substâncias químicas emitidas por organismos vivos (plantas, insetos etc.) que induzem uma resposta comportamental ou fisiológica em outros indivíduos (HEUSKIN, VERHEGGEN, *et al.*, 2011). Esses compostos podem ser classificados em dois grupos, considerando se eles agem como mediadores intraespecíficos (feromônios) ou interespecíficos (aleloquímicos) (HEUSKIN, VERHEGGEN, *et al.*, 2011, ZARBIN, RODRIGUES, *et al.*, 2009).

Feromônio é uma substância química ou uma mistura de substâncias químicas, que são liberados por um organismo e que causa uma ou mais reações específicas em um indivíduo receptor da mesma espécie. Existem basicamente cinco tipos de feromônios conhecidos: sexual, agregação, alarme, trilha e marcação de hospedeiro (ABD EL-GHANY, 2019, BAKTHAVATSALAM, 2016, HEUSKIN, VERHEGGEN, *et al.*, 2011, ZARBIN, RODRIGUES, *et al.*, 2009).

Os aleloquímicos são compostos que intermedeiam comportamentos de indivíduos de espécies diferentes, relação denominada de interespecífica. A classificação dos aleloquímicos depende dos resultados produzidos pela interação que foi intermediada pelo composto. Os alomônios (espécies que emitem o sinal são beneficiadas), cairomônios (espécie receptora do sinal é beneficiada) e sinomônios (onde emissores e receptores ambos são beneficiados) (ABD EL-GHANY, 2019, HEUSKIN, VERHEGGEN, *et al.*, 2011, ZARBIN, RODRIGUES, *et al.*, 2009).

Os semioquímicos, em geral, consistem em uma ampla variedade de moléculas orgânicas, que podem ser de natureza volátil ou não-volátil. Os semioquímicos não-voláteis incluem hidrocarbonetos cuticulares, atuando em reconhecimento do companheiro ou na regulação do canibalismo de várias espécies de insetos (HEUSKIN, VERHEGGEN, *et al.*, 2011).

2.6 Manejo integrado de pragas (MIP)

O desenvolvimento de estratégias de manejo integrado de pragas (MIP) vem aumentando em interesse desde que a utilização de pesticidas sintéticos tem causado problemas de saúde e ambientais. Desta forma, os semioquímicos são considerados uma área estratégica do MIP como uma abordagem alternativa ou complementar aos tratamentos com inseticidas. Com efeito, estes compostos espécie-específicos não afetam negativamente os organismos benéficos e não geram qualquer risco de resistência dos insetos-praga como observado com inseticidas (HEUSKIN, VERHEGGEN, *et al.*, 2011).

A eficácia dos semioquímicos depende, principalmente, de suas propriedades físicas, isto é, estrutura molecular, volatilidade, solubilidade e vida no meio ambiente. A temperatura é um fator importante que afeta a estabilidade (aumento da difusão de compostos voláteis, levando à diminuição da meia-vida da molécula no meio ambiente). Existem muitas vantagens

no uso de semioquímicos em estratégias de MIP, como: sua alta volatilidade permite a difusão por longas distâncias, aplicação em baixas concentrações e rápida dissipação que reduz os riscos a saúde e o meio ambiente, quando comparados com pesticidas químicos. Por tudo isso, a utilização dessas substâncias (semioquímicos) apresenta alto potencial nos programas de MIP (ABD EL-GHANY, 2019).

Entre as principais estratégias para utilização de semioquímicos no MIP estão as seguintes formas de controle: monitoramento, coleta massal, confusão sexual e push-pull.

Monitoramento

Armadilhas com feromônios ou caïromônios podem ser utilizadas para detectar tanto a presença quanto a densidade da praga, visando determinar quando a população do inseto-praga atingiu o nível de dano econômico (ABD EL-GHANY, 2019, HEUSKIN, VERHEGGEN, *et al.*, 2011, ZARBIN, RODRIGUES, *et al.*, 2009). As armadilhas de feromônio fornecem uma maneira fácil, eficiente e extremamente sensível de detectar diferentes insetos (ABD EL-GHANY, 2019). O seu objetivo é determinar de maneira mais precisa o momento de controle e limitar a utilização desnecessária de inseticida, fazendo com que estes sejam utilizados somente quando forem estritamente necessários (ZARBIN *et al.*, 2009; HEUSKIN *et al.*, 2011).

Coleta massal

Na coleta massal, o feromônio é usado como atrativo do inseto para um recipiente de contenção visando assim à eliminação ou diminuição da população do inseto-praga no cultivo (ZARBIN, RODRIGUES, *et al.*, 2009). Essa tática é uma técnica dependente da densidade de machos ou fêmeas da população de pragas, levando ao retardo do crescimento da população (ABD EL-GHANY, 2019). Geralmente, utiliza-se uma grande quantidade de armadilhas com feromônio com o objetivo de capturar o maior número possível de indivíduos (ZARBIN *et al.*, 2009). A captura em massa de pragas usa, basicamente, as armadilhas e dispensadores que permanecem no campo de forma semelhante ao monitoramento, entretanto o número de armadilhas por unidade de área é maior para capturar uma quantidade maior de insetos. Em essência, o monitoramento é usado para estimar a população de pragas junto com as decisões de manejo resultantes, enquanto a captura em massa é para a erradicação total das populações de insetos (BAKTHAVATSALAM, 2016).

Confusão sexual

É uma estratégia que utiliza feromônio sexual para o confundimento ou ainda interrupção de acasalamento, baseia-se na interferência ou impedimento da transmissão de sinais entre os parceiros sexuais (ABD EL-GHANY, 2019, BAKTHAVATSALAM, 2016, HEUSKIN, VERHEGGEN, *et al.*, 2011, PINTO-ZEVALLOS, MARTINS, *et al.*, 2013). A confusão sexual consiste em afetar o comportamento dos machos em sua busca de uma fêmea para o acasalamento pela liberação de grandes quantidades de feromônios sintético de fêmeas na área (HEUSKIN, VERHEGGEN, *et al.*, 2011). A interrupção do acasalamento é bem-sucedida quando ocorre uma queda de insetos nas armadilhas ao longo do tempo, redução do acasalamento no campo como testemunhado por observações visuais, menor incidência de pragas ou danos em comparação com áreas não tratadas e ausência de espermatozoides nas fêmeas (BAKTHAVATSALAM, 2016).

Push-pull

É uma técnica que consiste em uma combinação de plantas com estímulos atraentes e repelentes que alteram o comportamento de insetos-pragas e/ou de seus inimigos naturais. Os insetos são desencorajados ou repelidos para longe das culturas (push). Eles são simultaneamente atraídos por iscas (pull) concentradas em outras áreas onde eles serão presos ou mortos de maneira controlada. Esta estratégia exige uma clara compreensão da biologia das pragas, ecologia química e das interações entre os diferentes níveis tróficos (HEUSKIN, VERHEGGEN, *et al.*, 2011, PICKETT, WOODCOCK, *et al.*, 2014, ZARBIN, RODRIGUES, *et al.*, 2009). Essa estratégia obviamente requer conhecimento de biologia de insetos, ecologia química, e as interações entre plantas hospedeiras e inimigos naturais (ABD EL-GHANY, 2019).

2.7 Compostos orgânicos voláteis de plantas (COVs) liberados por plantas.

A emissão de compostos orgânicos voláteis pelas plantas (COVs) está envolvida em uma ampla classe de funções ecológicas, visto que os COVs desempenham um papel crucial nas interações das plantas com fatores bióticos e abióticos (VIVALDO, MASI, *et al.*, 2017). Os COVs são metabólitos secundários liberados por plantas em grandes quantidades, esses compostos desempenham funções importantíssimas na comunicação entre as plantas e com outros organismos. Na natureza, as plantas desenvolveram e aperfeiçoaram uma diversidade

considerável de mecanismos de defesa contra condições ambientais adversas, entre eles a emissão dos COVs (MAFFEI, 2010, PINTO-ZEVALLOS, MARTINS, *et al.*, 2013, VIVALDO, MASI, *et al.*, 2017).

Esses metabólitos, desempenham papel fundamental para as plantas, sendo liberados por quase todo tipo de tecido (folhas, flores, frutos e raízes) e tipo de vegetação (árvores, arbustos, grama etc.), esses compostos podem ser emitidos constitutivamente com ou sem estímulos. Esses voláteis defendem as plantas contra herbívoros e patógenos ou fornecem uma vantagem reprodutiva ao atrair polinizadores e dispersores de sementes (DUDAREVA, NEGRE, *et al.*, 2006, VIVALDO, MASI, *et al.*, 2017).

As plantas são fábricas de substâncias químicas que produzem uma infinidade de compostos que variam de diversas classes. Sabe-se que mais de 100.000 produtos químicos são produzidos pelas plantas, e pelo menos 1700 destes são compostos voláteis (DICKE, LORETO, 2010). As emissões dos COVs, das plantas têm forte relevância para a fisiologia, ecologia e química atmosférica, fatores internos (genéticos e bioquímicos) e externos (abióticos - temperatura, luz, disponibilidade de água, vento, ozônio e bióticos - interações entre animais, plantas e microorganismos) controlam as taxas de emissão desses compostos voláteis (PEÑUELAS, LLUSIÀ, 2001).

Os voláteis possuem muitas funções eco-fisiológicas, mais de um por cento desses metabólitos são moléculas com baixo peso molecular e alta volatilidade. Podem ser liberados, de forma constitutiva ou induzida, oferecendo meios de defesa contra patógenos e intermediar a comunicação entre as plantas e o meio no qual ela está inserida (DICKE, VAN LOON, 2000, DUDAREVA, PICHERSKY, 2008, PINTO-ZEVALLOS, MARTINS, *et al.*, 2013).

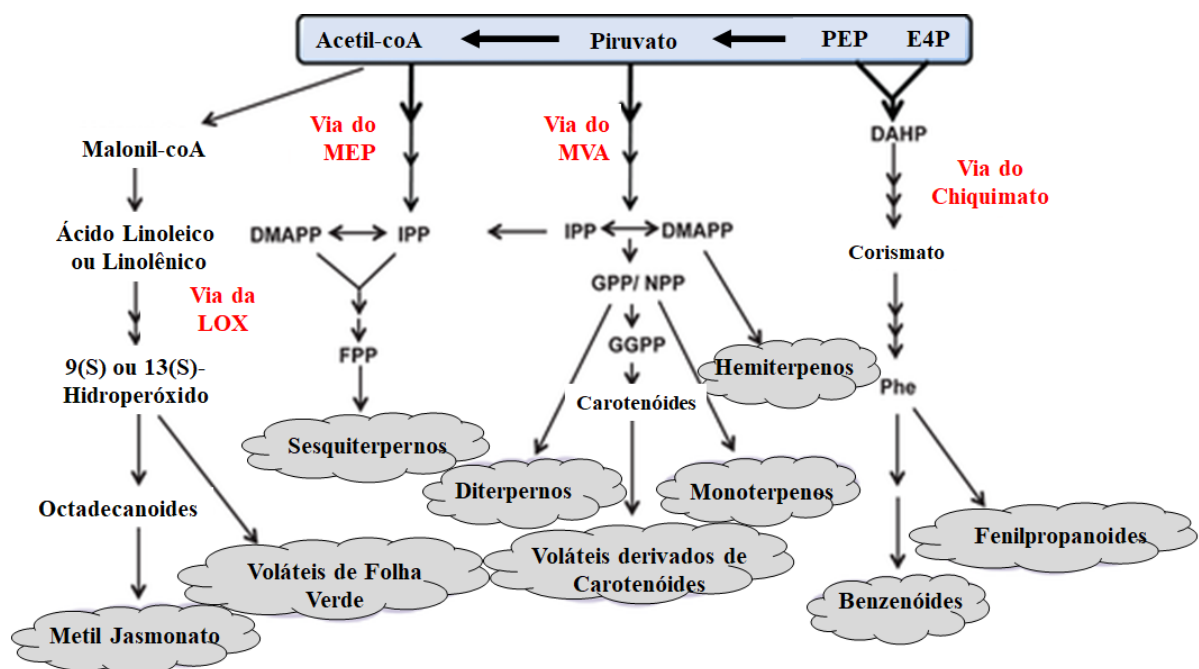
Os COVs emitidos pelas folhas, podem aparecer como uma solução natural e ecológica para defender as plantas do estresse e melhorar a produção agrícola. Atualmente, a aplicação dos COVs são frequentemente limitadas para combater herbívoros. Porém, as possíveis aplicações dos COVs são muito mais amplas, pois também podem proteger de patógenos e estresses ambientais, estimular os mecanismos de defesa da planta para aumentar a resistência / tolerância, têm efeitos antimicrobianos potentes e alelopáticos e podem ser importantes na regulação do crescimento, desenvolvimento e senescência das plantas por meio de interações com hormônios de plantas (BRILLI, LORETO, *et al.*, 2019; DICKE, BALDWIN, 2010; HILKER, SCHWACHTJE, *et al.*, 2016; LORETO, SCHNITZLER, 2010).

Esses compostos são representados principalmente por terpenóides, fenilpropanóides/benzenóides, derivados de ácidos graxos e derivados de aminoácidos (DUDAREVA, PICHERSKY, 2008).

2.8 Biossíntese dos compostos orgânicos voláteis em plantas

Os COVs emitidos por plantas dependem da disponibilidade de carbono, de nitrogênio e de enxofre, bem como da energia fornecida pelo metabolismo primário das plantas, esses são fatores essenciais para biossíntese dos voláteis de plantas (DUDAREVA, NEGRE, *et al.*, 2006, DUDAREVA, KLEMPIEN, *et al.*, 2013). Essas misturas de compostos tendem a ser tão complexas quanto os papéis que desempenham na vida da planta, esses compostos tendem a ser lipofílicos e são frequentemente sintetizados a partir de precursores hidrofílicos, cujos grupos funcionais foram removidos ou modificados através de reações de redução, metilação e acilação (BALDWIN, 2010). A disponibilidade dos blocos de construção (carbono, nitrogênio e enxofre), tem um grande impacto na concentração de qualquer metabólito secundário, incluindo COVs, demonstrando o alto grau de conectividade entre o metabolismo primário e secundário (DUDAREVA, KLEMPIEN, *et al.*, 2013). Com base em sua origem biossintética, todos os COVs são divididos em várias classes, incluindo terpenóides, fenilpropanóides/benzenóides, derivados de ácidos graxos e derivados de aminoácidos, além de algumas espécies de compostos específicos não representados nessas classes principais (DUDAREVA, KLEMPIEN, *et al.*, 2013, MAFFEI, 2010). A biossíntese das principais classes de COVs são apresentadas abaixo (Figura 2).

Figura 2 Principais vias biossintéticas de compostos orgânicos voláteis de plantas.



Via do ácido Chiquímico/fenilalanina, Via do ácido mevalônico (MVA), Via do Metileritritol-fosfato (MEP) e a via da lipoxigenase (LOX). Fonte: (DUDAREVA, KLEMPIEN, *et al.*, 2013).

2.9 Biossíntese de terpenóides

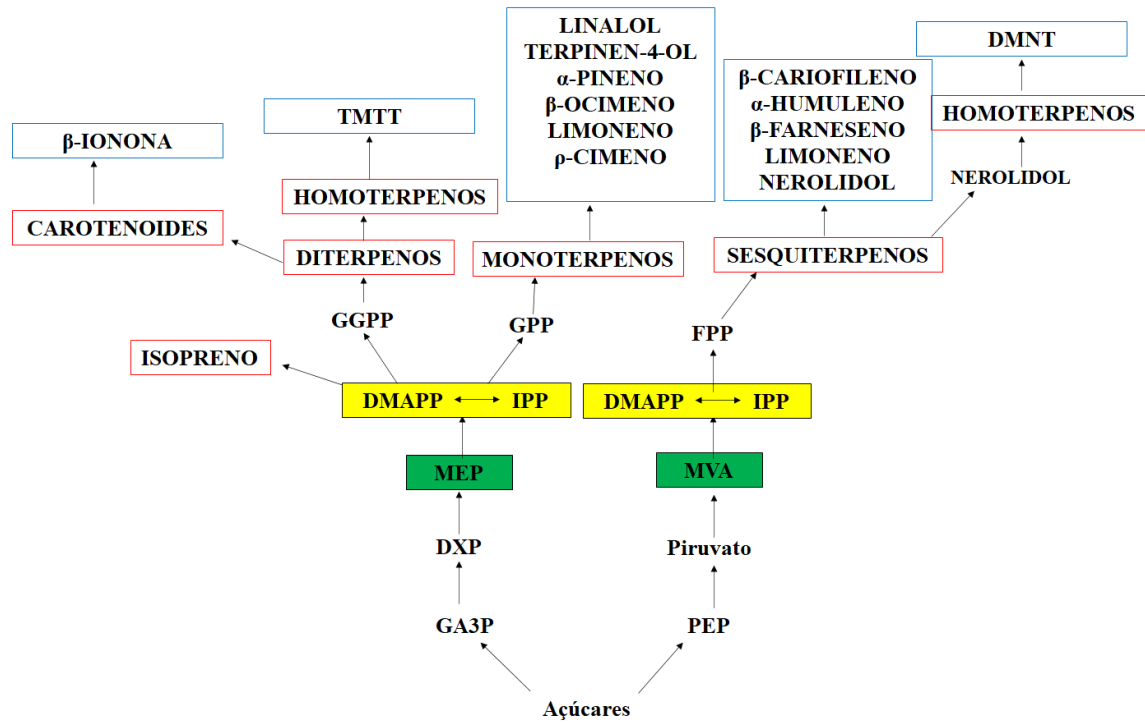
Os isoprenóides são derivados de um precursor comum, o isopentenil difosfato (IPP) e seu isômero dimetilalil difosfato (DMAPP), que são derivados de duas vias biossintéticas alternativas localizadas em diferentes compartimentos subcelulares (NAGEGOWDA, 2010), pela via do metileritritol-fosfato (MEP) nos cloroplastos e pela via do mevalonato (MVA) no citoplasma (DUDAREVA, KLEMPIEN, *et al.*, 2013, KESSELMEIER, STAUDT, 1999, MAFFEI, 2010).

A via do MVA consiste em seis reações enzimáticas, sendo iniciada por uma etapa de condensação de três moléculas de acetil-CoA levando a formação do 3-hidroxi-3-metilglutarato-CoA, que sofre redução para MVA seguido de duas reações de fosforilações subsequentes e uma etapa de descarboxilação/eliminação levando a formação do IPP como produto final (DUDAREVA, KLEMPIEN, *et al.*, 2013, LANGE, RUJAN, *et al.*, 2000). Enquanto, a via MEP envolve sete etapas enzimáticas, começando com a condensação de gliceraldeído-3-fosfato (GAP) e piruvato para produzir 1-desoxi-D-xilulose-5-fosfato, que é então submetido à isomerização/redução com formação do intermediário característico da via, MEP.

São necessárias cinco etapas consecutivas para converter o MEP em IPP e DMAPP. A via do MEP conta com o metabolismo primário para o fornecimento de Piruvato e GAP, sendo este último derivado tanto da glicólise quanto da via pentose fosfato (PPP) (DUDAREVA, KLEMPIEN, *et al.*, 2013).

Logo, essas duas vias são as responsáveis pela construção dos isoprenos, que são os precursores dos terpenóides. A via do mevalonato (MVA) leva a formação dos sesquiterpenos (C₁₅) compostos formados pela união de três unidades de isoprenos. Enquanto, a via do metileritritol-fosfato (MEP) fornece precursores para hemiterpenos voláteis (C₅), monoterpênicos (C₁₀) e diterpenos (C₂₀) (Figura 3) (DUDAREVA, KLEMPIEN, *et al.*, 2013, LANGE, RUJAN, *et al.*, 2000, MAFFEI, 2010, NAGEGOWDA, 2010).

Figura 3 Vias biossintéticas de terpenóides.



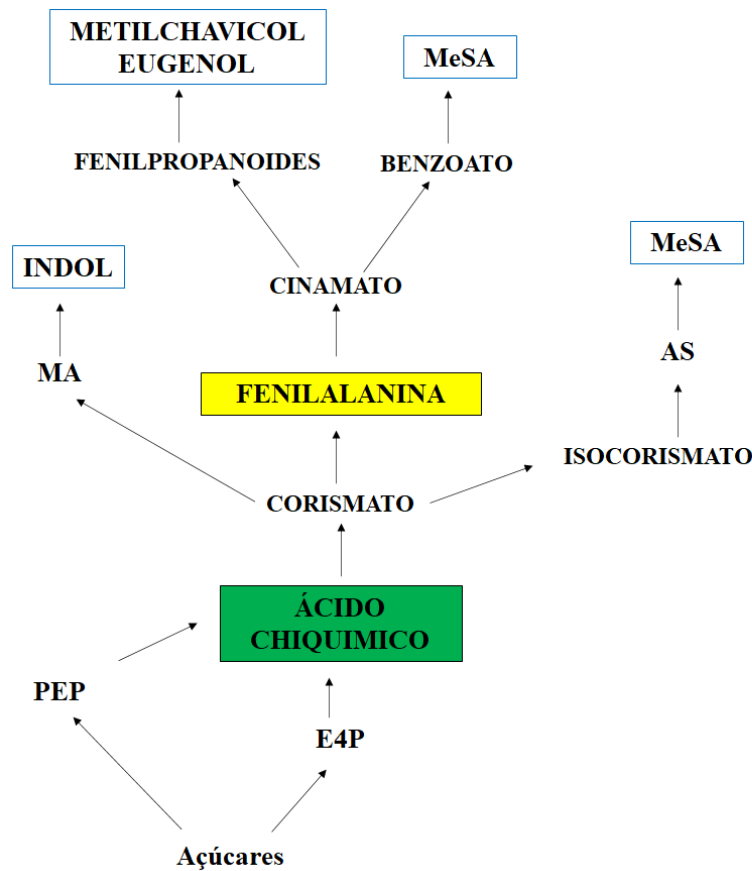
Fonte: (MAFFEI, 2010, com algumas modificações).

2.10 Biossíntese de fenilpropanóides/benzenóides

A segunda maior classe de COVs de plantas são os fenilpropanóides e benzenóides, que são originados a partir do aminoácido aromático fenilalanina (DUDAREVA, KLEMPIEN, *et al.*, 2013). As sete reações enzimáticas da via do Chiquimato conectam o metabolismo central do carbono e os precursores desta via são fosfoenolpiruvato (PEP) e D-eritrose 4-fosfato (E4P) que são derivados da glicólise e da via das pentoses fosfato (MAEDA, DUDAREVA, 2012).

Os COVs benzenóides e fenilpropanóides são invariavelmente derivados da fenilalanina precursora comum, que é sintetizada nos plastídios através das vias biossintéticas chiquimato/fenilalanina (Figura 4). Uma via β -oxidativa e uma rota não-oxidativa as quais são responsáveis pela formação de ácido benzóico, um precursor central de vários benzenóides voláteis (DENG, LU, 2017, DUDAREVA, KLEMPIEN, *et al.*, 2013, MAEDA, DUDAREVA, 2012).

Figura 4 Vias biossintéticas de fenilpropanóides/benzenóides.



Fonte: (MAFFEI, 2010, com algumas modificações).

O primeiro passo na biossíntese da maioria dos fenilpropanóides/benzenóides é catalisado por uma enzima bem conhecida e amplamente distribuída, L-fenilalanina amônia liase (PAL), que realiza uma reação de desaminação da fenilalanina levando a formação do ácido *trans*-cinâmico (AC). A formação dos benzenóides do ácido cinâmico requer o encurtamento da cadeia lateral, essas reações podem ocorrer da via β -oxidativa, quanto da via não-oxidativa, ou da combinação dessas vias (DUDAREVA, KLEMPIEN, *et al.*, 2013, MAEDA, DUDAREVA, 2012).

A biossíntese do chavicol ocorre através da via dos fenilpropanóides onde o álcool p-cumarílico, é reduzido formando álcool p-dihidrocumarílico, seguido por uma reação de desidratação formando chavicol (MAFFEI, 2010, VASSÃO, GANG, *et al.*, 2006). Já o composto eugenol é formado pela redução do álcool coniferílico, um precursor da lignina, enquanto o fenilacetaldéido, é derivado da fenilalanina por descarboxilação e remoção

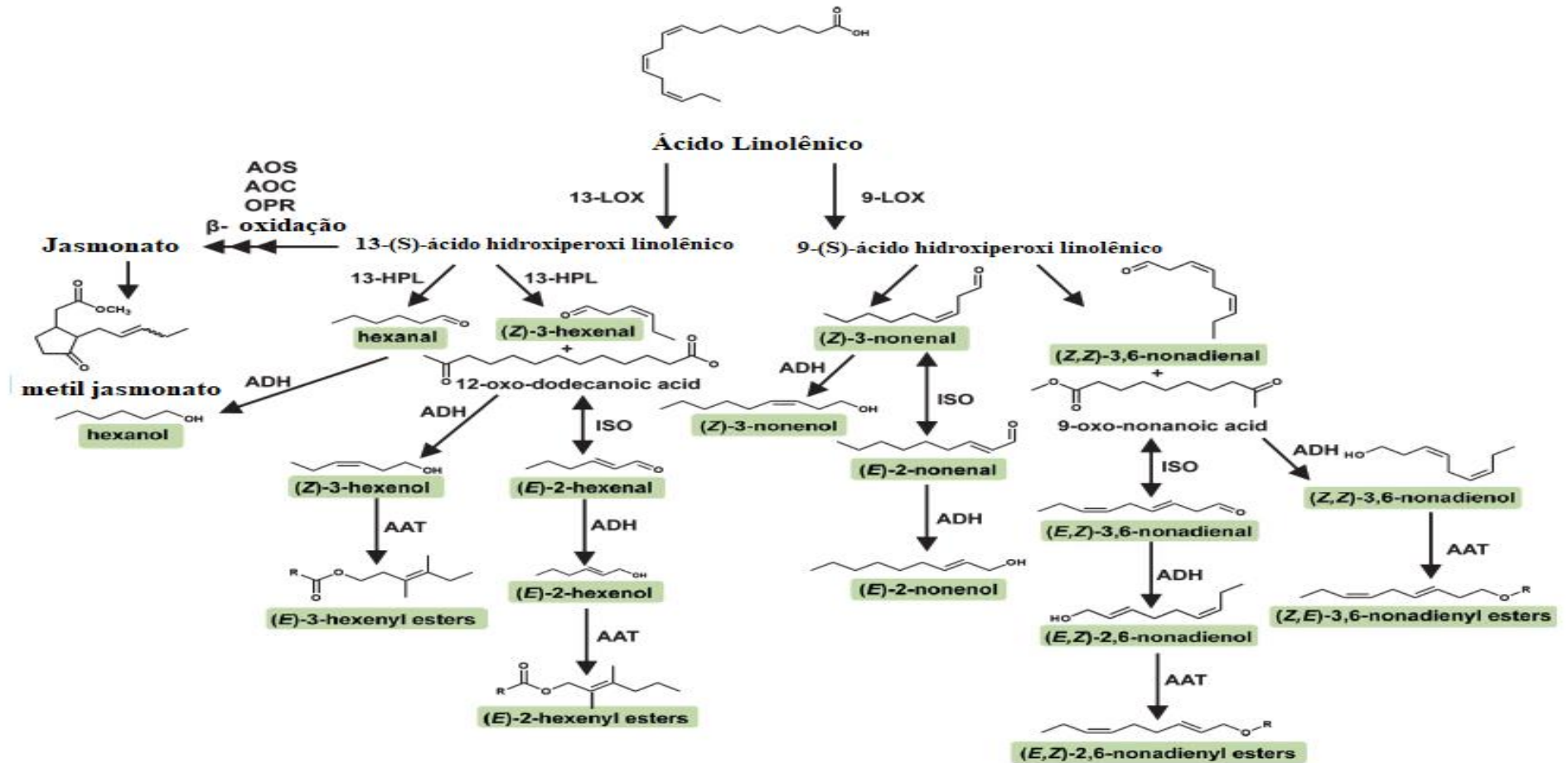
oxidativa do grupo amino (MAFFEI, 2010, PICHERSKY, NOEL, *et al.*, 2006). O ácido salicílico é sintetizado por duas vias: uma derivada de benzoato via cinamato e a outra via isocorismato (VASSÃO, GANG, *et al.*, 2006).

2.11 Biossíntese dos voláteis derivados de ácidos graxos

Esta classe de COVs de plantas são derivados de ácidos graxos poliinsaturados que são liberados pela atividade enzimática das lipases, esses ácidos graxos são substratos para numerosos outros compostos oxigenados, incluindo jasmonatos e voláteis de folha verde (DUDAREVA, KLEMPIEN, *et al.*, 2013, MAFFEI, 2010). A biossíntese dos ácidos graxos, dependem da disponibilidade plasmática de acetil-CoA gerada a partir do piruvato, que é o produto final da glicólise (DUDAREVA, KLEMPIEN, *et al.*, 2013). Quando os ácidos graxos (ácidos linoleicos (18:2) e/ou linolênicos (18:3)) entram na via lipoxigenase (LOX), os ácidos graxos insaturados sofrem oxigenação estereoespecífica para formar os intermediários 9-hidroperoxi e 13-hidroperoxi, que são ainda mais metabolizados através da via LOX e produzem compostos voláteis. Essa via envolve a ação de duas enzimas, ou seja, hidroperóxido liase e hidroperóxido ciclase. O intermediário 13-hidroperoxi leva à formação de ácido jasmônico (JA), que por sua vez é convertido em jasmonato de metila (Figura 5) (DUDAREVA, KLEMPIEN, *et al.*, 2013, MAFFEI, 2010, WASTERACK, 2007).

Os intermediários sofrem ação de uma liase que converte ambos os tipos de derivados de ácidos graxos hidroperóxido em aldeídos C₆ e C₉, que muitas vezes são reduzidos a álcool por enzimas álcool desidrogenases. Estes aldeídos e álcoois C₆/C₉ saturados e insaturados comumente são referidos como voláteis de folhas verde sendo, geralmente, sintetizados em resposta aos danos sofridos pelas plantas, mas também fornecem aroma característico a frutas e vegetais (DUDAREVA, KLEMPIEN, *et al.*, 2013, GIGOT, ONGENA, *et al.*, 2010, MAFFEI, 2010).

Figura 5 Via biossintética da lipoxigenase (LOX).



Fonte: (DUDAREVA, KLEMPIEN, *et al.*, 2013, com algumas modificações).

2.12 Análise metabolômica em plantas

A metabolômica é definida como a tecnologia orientada para fornecer uma visão geral qualitativa e quantitativa essencialmente imparcial e abrangente dos metabólitos presentes em um organismo (HALL, 2006; SAITO; DIXON e WILLMITZER, 2006). O metaboloma é um dos termos base da metabolômica, sendo definido como a identificação parcial ou completa de pequenas moléculas presentes em um organismo, essas moléculas pertencem as classes de metabólitos primários e secundários que podem atuar como biomarcadores caracterizando o organismo estudado. A metabolômica se destaca pela sua multidisciplinaridade no seu desenvolvimento, pois envolve muitas ferramentas analíticas e de bioinformática, sendo a Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e a Espectrometria de Massas (EM) os métodos analíticos mais utilizados nos estudos de metabolômica, enquanto os métodos quimiométricos e as análises estatísticas uni e multivariada são as ferramentas da bioinformática utilizadas (CANUTO, DA COSTA, *et al.*, 2018, KIM, CHOI, *et al.*, 2010, SABINO, 2017).

A metabolômica baseada em ressonância magnética nuclear (RMN) tem muitas aplicações na ciência das plantas, podendo ser utilizada em genômica funcional e para diferenciar plantas de origem diferente ou após diferentes tratamentos (KIM, CHOI, *et al.*, 2010), além disso, pode ajudar identificar as alterações de metabólitos individuais associados a planta na interação com outros organismos dentro de sistema dinâmico (ALLWOOD, ELLIS, *et al.*, 2008). Em folhas e raízes de plantas milho que sofreram herbivoria por lagartas de *Spodoptera littoralis* apresentaram um perfil metabólico onde foram identificados 32 metabólitos em resposta herbivoria (MARTI *et al.*, 2012), em folhas de plantas de cana-de-açúcar com e sem infestação por lagartas de *Diatraea saccharalis* também foram identificados metabólitos de resposta à herbivoria (OLIVEIRA, 2015, SABINO, 2017)

A Ressonância Magnética Nuclear (RMN) é uma técnica menos sensível do que a Espectrometria de Massa (EM), entretanto essa técnica é muito poderosa na identificação e análise quantitativa de metabólitos de plantas, tanto *in vivo* como em extratos de tecido. Em uma abordagem, as impressões digitais de metabólitos, a análise multivariada dos espectros de RMN de ^1H não atribuídos é utilizada para comparar a composição metabólica global de material de plantas de tipo selvagem, mutante e transgênico e avaliar o impacto das condições de estresse no metaboloma da planta. A impressão de metabólitos por RMN é uma ferramenta rápida, conveniente e eficaz para discriminar entre grupos de amostras relacionadas e identificar as regiões mais importantes do espectro para análise posterior (KIM, CHOI, *et al.*, 2010, KRISHNAN, KRUGER, *et al.*, 2005).

A espectroscopia de RMN é uma técnica de impressão digital, de alto rendimento, rápida e que requer pouca manipulação da amostra. As amostras brutas são misturadas com uma solução contendo um composto de referência (por exemplo, usa-se um padrão geralmente tetrametilsilano e solventes deuterados para ^1H RMN), adicionadas a uma sonda de RMN (contendo aproximadamente 2 ml), inserido dentro do instrumento e analisados (DA S. SANTOS, COLNAGO, 2013, DUNN, ELLIS, 2005). Essa técnica é capaz de detectar metabólitos com um ou mais átomos com um momento magnético não nulo, sendo que estes metabólitos possuem isótopos com momentos magnéticos não nulos (^1H , ^{13}C , ^{14}N , ^{15}N , e ^{31}P), as moléculas biologicamente importantes têm pelo menos um sinal de RMN. Tais sinais são caracterizados pela sua frequência (deslocamento químico), intensidade, resolução e propriedades de relaxação magnéticas, os quais refletem o ambiente preciso do núcleo detectado. Assim, os espectros de RMN, contêm uma variedade de informações sobre a identidade das moléculas da amostra, sendo utilizado para identificar e quantificar os metabólitos nas amostras de origem biológica (KIM, CHOI, *et al.*, 2010, KRISHNAN, KRUGER, *et al.*, 2005). Alguns trabalhos comparam as diferenças entre os perfis metabolômicos de plantas submetidas aos tratamentos controle e herbivoria em plantas de milho inoculadas (WALKER, RYDER, *et al.*, 2011), em plantas de cana-de-açúcar submetidas aos tratamentos controle e herbivoria (SABINO, 2017) e plantas de cana-de-açúcar inoculadas (OLIVEIRA, 2015) entre outras culturas.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Identificar os metabólitos voláteis e solúveis de diferentes cultivares de mandioca na busca de novas fontes de resistência.

3.2 Objetivos específicos

- Coletar os COVs das dez cultivares de mandioca por aeração usando plantas controle e infestadas;
- Caracterizar os perfis dos COVs das dez cultivares de mandioca controle e infestadas usando cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM);
- Confirmar a identificação da espécie *Alerouthrixus aepim*;
- Avaliar a preferência ou repelência dos extratos das cultivares utilizando olfatômetro em Y e bioensaios de eletroantenografia para mosca-branca (*A. aepim*);
- Realizar estudo da fisiologia das plantas dos dez cultivares de mandioca.
- Identificar os metabólitos solúveis das cultivares: resistente (Equador 72) e susceptível (BRS Jari) em plantas controle e infestada;

4 MATERIAL E METODOS

4.1 Perfil dos compostos orgânicos voláteis (COVs) de diferentes cultivares de mandioca

4.1.1 Obtenção e manutenção das plantas.

Para avaliação dos COVs da mandioca foram utilizadas 10 cultivares de mandioca *Manihot esculenta* Crantz (Euphorbiaceae) que foram fornecidas pela Embrapa Mandioca e Fruticultura (GPS S 12°40', O 39°05'), na cidade de Cruz das Almas no estado da Bahia.

Tabela 2 Cultivares de mandioca utilizadas no estudo.

| Variedades | Características chaves de cada variedade | | | | | |
|-----------------|--|------------------------------|----------------------------------|-------|-------|---|
| | Produtividade de raízes | Teor de matéria seca na raiz | Outras | Mansa | Brava | Tolerância a insetos (observações de campo) |
| Vassoura Preta | Alta | Média | - | - | x | Desconhecido |
| Corrente | - | - | - | - | - | Desconhecido |
| BRS Dourada | Média | Média | - | x | - | Desconhecido |
| BRS Formosa | Alta | Média | Resistência a bacteriose | - | x | Desconhecido |
| BRS Jari | Baixa | Média | - | x | - | Desconhecido |
| BRS Kiriris | Alta | Média | Resistência a podridão radicular | - | x | Desconhecido |
| BRS Mulatinha | Alta | Alta | - | - | x | Desconhecido |
| BRS Poti-Branca | Alta | Alta | Resistência à ferrugem | - | x | Desconhecido |
| Equador 72 | Baixa | Média | - | - | x | Mosca-branca e percevejo-de-renda |
| IAC-90 | Média | Alta | - | - | x | Desconhecido |

Informações cedidas pela Embrapa Mandioca e Fruticultura.

Todo o material foi propagado a partir de manivas e plantadas em copos plásticos de 0,5 litros, com substrato comercial, com irrigação manual e mantido em casa de vegetação sob condições de temperatura 27 ± 2 °C e umidade relativa 70%.

Figura 6 Cultivo das plantas das diferentes cultivares de mandioca.



(Foto: Ribeiro, 2020)

4.1.2 Obtenção da mosca-branca *Aleroutrixus aepim*.

Os insetos adultos da mosca-branca (*Aleroutrixus aepim*) foram coletados em um plantio de mandioca (variedade rosinha) de aproximadamente 10 hectares, localizado no município de Rio Largo, Estado de Alagoas, Brasil, sob as coordenadas geográficas 9° 31'50,1 de latitude sul e 35° 48'01,3 de longitude oeste. Após as coletas os insetos foram encaminhados para o laboratório e mantidos em pequenos tubos de vidro, em sala climatizada à 25 ± 2 °C e 70 ± 10 % UR.

Figura 7 Adultos da mosca-branca (*A. aepim*) atacando plantas de mandioca no campo e os danos causados pelos ataques.



(Foto: Ribeiro, 2020)

4.2 Identificação molecular da mosca-branca (*A. aepim*)

4.2.1 Local de coleta

Os insetos foram coletados no município Rio Largo, pertencente ao estado das Alagoas. Estes foram coletados, nas seguintes coordenadas geográficas: 9° 31'50,1 de latitude sul e 35° 48'01,3 de longitude oeste. Sendo encontrados em plantas de mandioca (*Manihot esculenta*).

4.2.2 Extração de DNA, Reação em cadeia da polimerase (PCR) e sequenciamento

Para os experimentos de extração e amplificação de DNA foi utilizada uma adaptação baseada no protocolo proposto por FOLMER, BLACK, *et al.*(1994). Os indivíduos foram macerados separadamente em um eppendorf de 1,5 mL contendo 100 µl de uma solução de chelex 100 a 6% (diluído em H₂O) (OMONGO, Christopher Abu, NAMUDDU, *et al.*, 2018), em seguida o material resultante foi agitado em vortex e centrifugado a 5°C até atingir 13.000 rpm. Logo após o material foi incubado em banho-maria a 57°C por 15 minutos, agitado em vortex e centrifugado a 5°C até atingir 13.000 rpm, foi incubado em banho maria a 99°C por 8 min e novamente agitado em vortex. Por fim, o material foi centrifugado a 5°C e 13.000 rpm por 5 min, a fase intermediária foi coletada e conservada no freezer a -20°C. Para a amplificação do fragmento de Citocromo c oxidase subunidade I (COI) do DNA mitocondrial foram utilizados primers específicos para insetos, nomeados LepF(ATTCAACCAATCATAAAGATATTGG) e LepR(TGATTTTTTGGACATCCAGAAGTTTA). Para tanto, em um eppendorf de 0,2 mL foi adicionado 15µl de AMPLIQON (Taq DNA Polymerase 2x Master Mix RED / 1.5 mM MgCl₂ concentração final) juntamente com 1µl do DNA de cada amostra. A reação de amplificação foi realizada em um termociclador (MaxyGene II, Axygen®), onde os ciclos de temperatura consistiram de desnaturação inicial de 94°C/3 minutos, seguida de 35 ciclos de desnaturação a 94°C/30 segundos, anelamento a 50°C/30 segundos e extensão a 72°C/1 minuto, seguidos de extensão final a 72°C/10 minutos. Os produtos de PCR mostrando bandas claras positivas foram purificados usando Kits de purificação QIAquick® PCR (de acordo com o protocolo do fabricante). Amostras de PCR positivas das espécies foram enviadas para o sequenciamento bidirecionalmente na MacroGen Inc. (Coreia), Seul, Coreia do Sul.

4.2.3 Análise das sequências de DNA

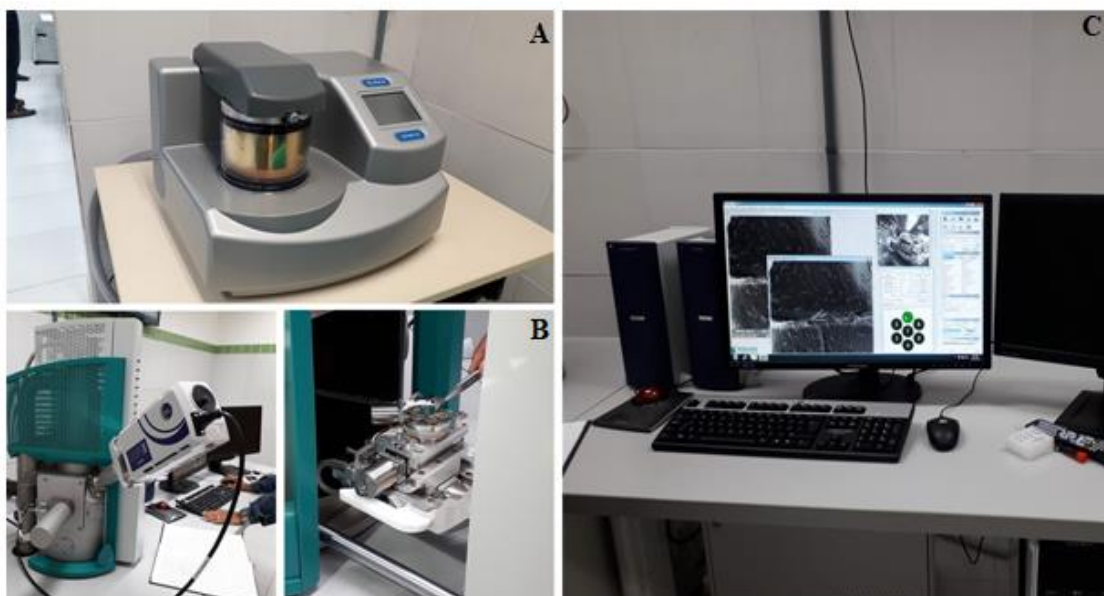
Os arquivos de rastreamento (trace files) /cromatogramas das sequências do COI foram editadas manualmente usando o software CodonCode (CodonCode Corporation, www.codoncode.com). Sequências de baixa qualidade foram excluídas durante a análise dos dados. As sequências

obtidas no CodonCode Aligner foram comparadas com outras sequências depositadas no GenBank e no BoldSystems.

4.3 Análises morfológica das folhas dos cultivares de mandioca utilizando microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Para análise morfológica das folhas dos dez cultivares de mandioca foi utilizado a técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), com o intuito de verificar as características morfológicas como tricomas, organização das ceras epicuticulares entre outras barreiras físicas presentes nas plantas de cada cultivar utilizado nesse estudo. Para isto, foram analisadas as partes superiores (face adaxial) e inferiores (face abaxial) das folhas dos dez cultivares de mandioca. As plantas sem infestação foram levadas ao Laboratório de análise instrumental do departamento de química do Instituto Federal de Alagoas (IFAL), onde suas folhas na sua área central foram cortadas sem nenhum tratamento prévio em pedaços de aproximadamente 5x5 mm de comprimento, que posteriormente foram metalizadas em um metalizador (Q150R ES, Quoron®) (Figura 8A). A corrente durante o processo de metalização com alvo de ouro foi de 45 mA durante 4 minutos. As folhas foram analisadas usando um microscópio eletrônico de varredura (MEV, Vega LM, TESCAN Orsay Holdin, Ljubljana, Czech República) (Figura8B) a 20 ou 10kV.

Figura 8 Microscópio eletrônico de varredura (MEV, Vega LM, TESCAN Orsay Holdin, Ljubljana, Czech República) (A) metalizador Q150R ES, Quoron®, (B) Microscópio parte externa e interna do microscópio com amostras montadas já metalizadas para serem analisadas, (C) Amostras em processo de análise.



(Foto: Ribeiro, 2020)

4.4 Coleta dos compostos orgânicos voláteis das plantas dos dez cultivares de mandioca.

As plantas utilizadas para coleta dos COVs apresentavam entre quarenta a quarenta e cinco dias de cultivo. Foram usadas plantas sem infestação e plantas infestadas 10 mosca-branca *A. aepim* por planta, denominando-se tratamento infestado. Para as coletas dos COVs foi utilizado o adsorvente Porapak Q (Etilvinilbenzeno-divinilbenzeno) com o mesh 50/80 (Supelco Inc., Bellefonte, PA 16823 Estados Unidos). As plantas foram acondicionadas dentro de câmaras de vidro e seus vasos foram cobertos com papel alumínio para o isolamento dos compostos provenientes do solo. Ar filtrado com carvão ativo foi injetado através de uma bomba em um fluxo de 600 mL/min, ao mesmo tempo que uma bomba de vácuo sugava o ar passando através do “trap” a uma razão de 400 mL/min. As coletas foram realizadas por um período de 48 horas e em três repetições por tratamento. Ao término das aerações, a dessorção dos compostos será realizada passando-se 500 µL de hexano bidestilado pelos traps contendo os voláteis, e as amostras foram armazenadas a -20°C até a análise.

Figura 9 Coleta dos COVs nas cultivares de mandioca.



(Foto: Ribeiro, 2020)

4.5 Análises dos COVs

As amostras obtidas através das aerações foram analisadas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM). As amostras foram injetadas no CG/EM modelo

2010 PLUS, Shimadzu, em uma coluna Nist-01 (100% Dimetilpolisiloxano) com (30 m, d. 0,25 mm). As condições do método usado foram as seguintes: injetor com a temperatura 200°C no modo Splitless (sem divisão de fluxo), o argônio foi utilizado como gás de arraste. a coluna iniciando com 50°C por 5 minutos, seguido por gradiente de 8°C/min até atingir 250°C, que foi mantido por 5 minutos. A fonte de ionização utilizada foi impacto eletrônico (EI) com 70 eV (elétron-volts), com a temperatura do detector “ion source” de 200°C. A temperatura da interface foi de 250°C, os valores de fragmentação registrados foram Scan de 35 m/z até 300 m/z.

A identificação dos compostos foram realizadas pela comparação de seus tempos de retenção e seus índices de retenção linear (LRIs) foram determinados e calculados pela injeção de uma solução padrão saturada de n-alcenos (C7-C30) a 1.000 µg / mL em hexano de HPLC (Supelco , Bélgica), seguindo a definição de (VAN DEN DOOL, H., & DEC. KRATZ, 1963). Os espectros de massa de cada composto foram analisados e comparados com os espectros das bibliotecas comerciais (NIST 08s; NIST 27; NIST 147 e WILEY 229) e com a literatura, e quando disponível foram realizadas as injeções de padrões de compostos sintéticos.

4.6 Quantificação dos COVs das cultivares de mandioca

A quantificação dos compostos foi realizada em cromatografia gasosa com detector por ionização de chamas (CG-DIC), modelo 2010PLUS, Shimadzu, equipado com uma coluna Nist-01 (100% Dimetilpolisiloxano) com (30 m, d. 0,25 mm). O volume de injeção foi de 1µL, sendo 0,5µL da amostra e 0,5µL do padrão interno, no modo “splitless”. Nitrogênio foi utilizado como gás de arraste. A programação da temperatura da coluna foi de 50°C por 5 min, 8°C por minuto até atingir 250°C, e finalmente foi mantida a 280°C por 5 min. A quantificação dos compostos foi realizada por meio do método de normalização de áreas e o Nonacosano (C₂₉) foi utilizado como padrão interno.

4.7 Bioensaios de olfatosmetria e eletroantenografia

Foram realizados estudos eletroantenográficos e comportamentais da mosca-branca *A. aepim* usando os extratos dos COVs das cultivares de mandioca. Os bioensaios de olfatosmetria foram realizados com os extratos das cultivares Equador 72 (Resistente) e BRS Jari

(Susceptível) e o padrão sintético (E)- β -Ocimeno, pois esse monoterpene foi descrito como possível marcador de repelência e encontrado em altas quantidades nos extratos voláteis do cultivar resistente como descrito (RIBEIRO, 2015), então foram testadas as concentrações 3, 30, 300 e 3000 ng/ μ L para avaliar a preferência ou não preferência das mosca-branca *A. aepim*. Um olfatômetro de tubo Y foi utilizado para investigar o comportamento da mosca-branca, seguindo um procedimento semelhante ao descrito por (LI, ZHONG, *et al.*, 2014, REDDY, 2002). O olfatômetro de tubo Y consiste de um tubo de vidro com 1,5 cm de diâmetro interno e braços de seção Y com 7,5 cm de comprimento. Havia um ângulo de 60 ° entre os dois braços do olfatômetro em Y. O único braço do 'Y' ficava a 15 cm da junção sob luz fluorescente (25W) (Figura 10).

Figura 10 Olfatômetro em “Y” utilizado nos bioensaios



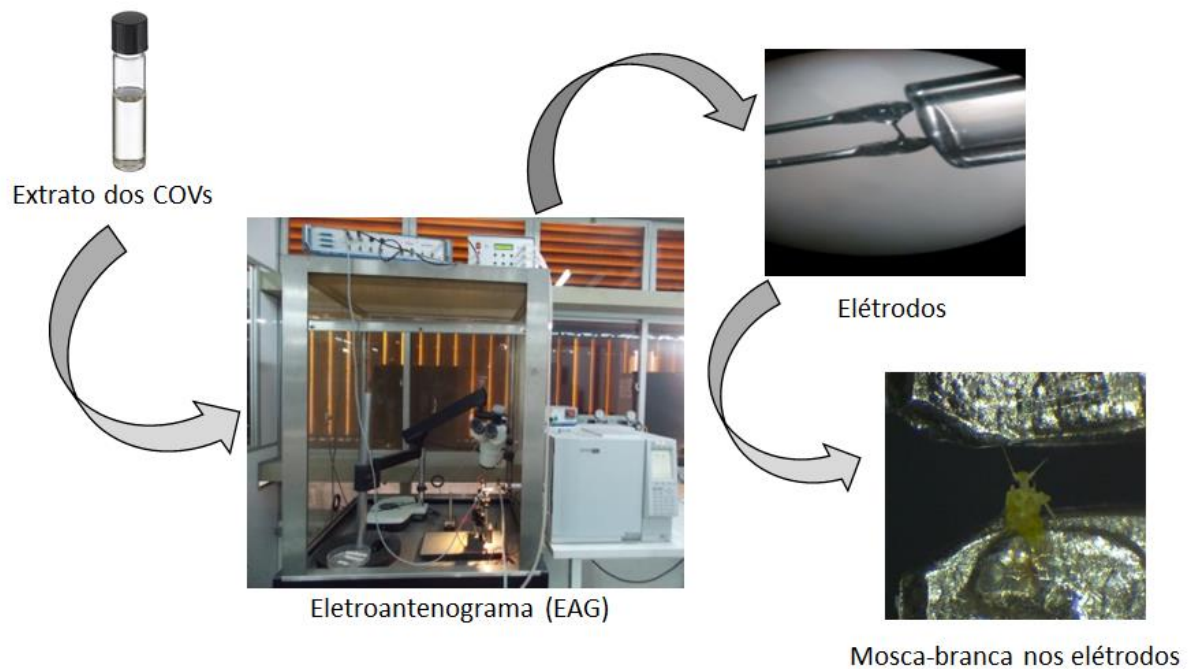
(Foto: Ribeiro, 2020)

Os extratos vegetais foram testados usando ar purificado que foi sugado através de cada braço do olfatômetro em Y até o braço central a uma taxa de 50 mL/min usando uma bomba de vácuo. Os insetos de ambos os sexos, foram coletados em campo e levados ao laboratório para realização dos bioensaios comportamentais. Uma alíquota de 10 μ L foi utilizada dos extratos voláteis ou do padrão, os quais foram aplicados em um pedaço de papel de filtro de aproximadamente 1,5 \times 1,0 cm, colocado dentro do braço da seção Y, e outro pedaço de papel de filtro foi aplicado com 10 μ L de hexano, como controle no braço oposto do olfatômetro. Uma mosca-branca adulta foi introduzida no olfatômetro 30s após o início do fluxo de ar. A escolha foi assumida quando a mosca-branca cruzou metade do comprimento do braço da fonte ou controle de odor. A decisão de "não escolha" foi registrada se a mosca-branca não se movesse por 5 minutos. Cada pedaço de papel de filtro foi usado apenas uma vez, e foi substituído por um novo pedaço para o próximo inseto individual, e cada indivíduo foi usado

apenas uma vez no experimento. O olfatômetro foi modificado a cada três repetições do bioensaio, sendo também invertido no sentido horizontal (rotação de 180°) a cada mudança de olfatômetro para evitar o viés direcional. Os olfatômetros foram sempre lavados em água corrente, etanol e água destilada, sendo posteriormente secados em estufa de esterilização a 150°C. Após este procedimento, eram renovadas as substâncias teste. Dessa forma, realizou-se um número mínimo de 30 repetições para cada tratamento.

Os testes eletroantegráficos foram realizados para avaliar as respostas das antenas dos insetos da mosca-branca frente aos extratos voláteis obtidos neste trabalho sendo avaliados por meio de “puff”. Para tanto, foram utilizadas como fonte de odor os extratos voláteis das cultivares BRS Formosa, Vassoura Preta, BRS Poti Branca, BRS Kiriris, BRS Dourada, IAC 90, Corrente, BRS Mulatinha e Hexano grau HPLC bidestilado submetido sob as mesmas condições para cada tratamento (controle). Uma alíquota de 10µL de cada tratamento foi utilizada para realização de cada “puff”. Um sistema gerador de pulsos de ar (Stimulus Controller CS55, Syntech®) foi programado para gerar um puff com duração de 0,5s, submetendo as antenas aos respectivos tratamentos, individualmente. A gravação da resposta da antena foi obtida através do software EAGPro versão 2.0.2.

Figura 11 Bioensaio de eletroantegráficos dos COVs das cultivares de mandioca frente à mosca-branca *A. aepim*.



(Foto: Ribeiro, 2020)

4.8 Extração e análises dos metabólitos solúveis das plantas de mandioca

Dentre as dez cultivares utilizadas em nosso estudo, foram escolhidas duas para realização do estudo metabolômico: a cultivar resistente (Equador 72) e uma susceptível (BRS Jari) à mosca-branca. Para coleta do material foram utilizadas plantas sem infestação (tratamento controle) e plantas com infestação (tratamento infestado), a infestação foi realizada utilizando dez insetos por planta e estas plantas foram mantidas em gaiolas por um período de 48 horas. As folhas dessas cultivares foram coletadas, maceradas usando nitrogênio líquido e liofilizadas, sendo posteriormente armazenadas em freezer -80 °C, até o processo de extração. A extração foi realizada de acordo com a metodologia desenvolvida por (KIM, CHOI, *et al.*, 2010) adaptada para este estudo. Transferiram-se 50 mg de folhas liofilizadas para um tubo tipo eppendorf de 2 mL e, em seguida adicionou-se 500 µL de metanol - d4 (Cambridge Isotope Laboratories) e 500 µL de tampão fosfato em água deuterada pH = 6.0 contendo 0.01% de sal de sódio do ácido trimetilsilil propiônico (TSP) (Cambridge Isotope Laboratories). Em seguida, o material foi submetido a ultrassom por 20 minutos, centrifugado por 15 minutos a 5000 rpm e coletado o sobrenadante para a análise de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).

Os espectros de RMN foram analisados a 20 °C em espectrômetro Bruker AVANCE operando a 600 MHz na frequência do hidrogênio. O MeOD-d4 foi usado para o chaveamento do campo magnético (“lock”). As sequências de pulsos de pré-saturação NOESYGPPR, ZGPR e ZGCPPR foram usadas para otimização das análises metabolômica e cada espectro de RMN-1H foi realizado com 64 pulsos (10min e 26 s), o tempo de aquisição = 2,72 s, largura espectral = 16 ppm, tamanho do fid = 32K, largura de pulso (P1) de 30° (10,5 µs) e atraso de relaxamento (delay-d1) de 2 s. O experimento J-resolvido foi adquirido com 32 pulsos por 8192 x 128 pontos, largura espectral = 5.208 KHz e 60 Hz acoplamento spin-spin e atraso de relaxamento= 1,5 s. O experimento COSY 1H-1H foi realizado com 32 pulsos por 2048 x 512 pontos, largura espectral = 13 ppm em ambas as dimensões com o d1 = 1,5 s. O experimento TOCSY 1H-1H foi realizado com 32 pulsos por 2048 x 512 pontos, largura espectral = 13 ppm em ambas as dimensões com o d1 = 1,5 s e tempo de mistura (d8) = 500 ms. Os experimentos HMBC 1H-13C e HSQC EDITADO 1H-13C foram realizados com 64 pulsos por 4,096 x 512 pontos, largura espectral = 5208 KHz para 22,149 KHz 1H e do 13C com d1 = 1,5 s. Os espectros foram processados com o emprego do software TopSpin versão 2.1 (Bruker), com uma linha de

alargamento ($\Delta\nu$) = 0,3 Hz e correção da fase, correção da linha de base e calibração pelo padrão interno (TSP) com sinal em 0,0 ppm. A identificação dos metabólitos foi realizada com o auxílio do programa Chenomx, análise STOCSY (foi utilizado o programa MATLAB) e o site Human Metabolome Data Base (HMDB).

4.9 Análises estatísticas

Após a identificação dos compostos voláteis, cada composto foi analisado individualmente. Para a análise estatística dos COVs de mandioca em relação a presença, foi utilizado delineamento inteiramente casualizado. As médias das áreas dos COVs individuais identificados foram utilizados para Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise de agrupamento utilizando o software PAST statistical (HAMMER et al., 2001).

Para elucidar diferença significativa nos bioensaios de olfatosmetria e na respostas das antenas da mosca-branca utilizando os COVs dos cultivares de mandioca e o padrão de (E)- β -ocimeno foram realizados os teste de qui-quadrado e o teste de Scott-knott com ($P < 0,05$), utilizando o programa GENESIS (CRUZ, 2013).

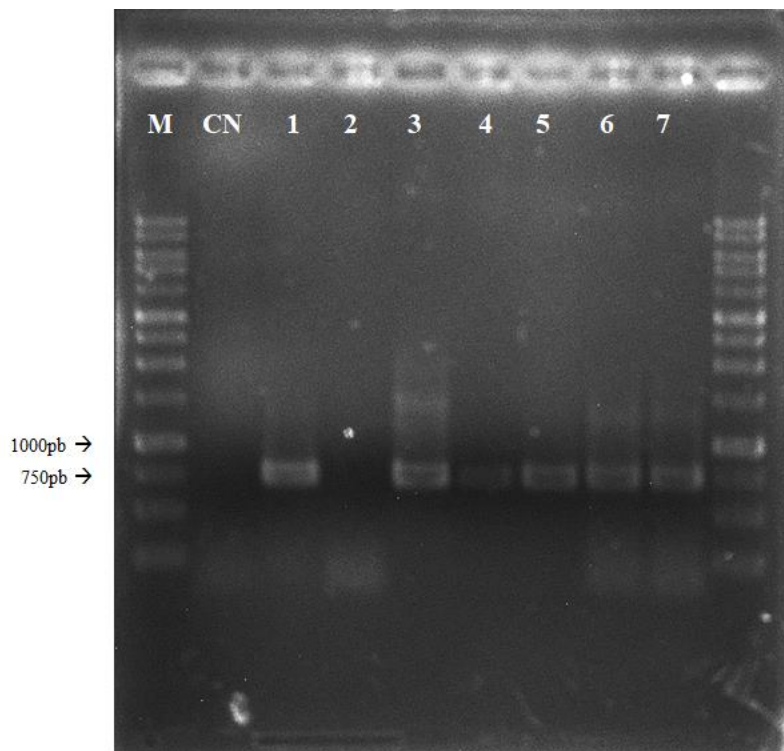
Os espectros de RMN-1H otimizados foram reduzidos (δ 0,3-10,0 ppm) e divididos em regiões de largura (bucket = 0,0005 ppm), normalizados e alinhados através do programa MATLAB versão 2014a. As regiões de δ 4,7-5,0 ppm e δ 3,24- 3,33 ppm foram excluídas da análise por causa dos sinais residuais de água e do metanol. As análises de componentes principais (PCA) e análises discriminantes ortogonal por mínimos quadrados parciais (OPLS-DA) foram realizadas com o emprego do software SIMCA-P (versão 14.0, Umetrics, Umeå, Suécia) com escalonamento baseado no método de única variância (UV). Análise de variância (ANOVA) e o teste t pareado foram elaborados no programa excel e os boxplots foram realizados através do programa R-studio.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Identificação molecular da mosca-branca *A. aepim*

A amplificação por PCR utilizando o par de oligonucleotídeos LepF/LepR direcionou a amplificação de um fragmento contendo aproximadamente 700 pares de base (pb) que corresponde a parte do gene mitocondrial COI. Os produtos de amplificação foram visualizados em géis de agarose Transiluminador UV (Figura 12).

Figura 12 Produto da PCR visualizado em gel de agarose.



M: marcador molecular KASVI; 2-6 : fragmentos de aproximadamente 750kb referente a região mtCOI. CN = controle negativo.

Parte das amostras sequenciadas, foram excluídas por apresentarem uma baixa qualidade, a partir da amostra restante foi obtida uma sequência final que apresentou 678pb (Figura 12), após a comparação desta sequência com as sequências encontradas no GenBank e no BoldSystems depositadas para *Aleurothrixus sp.* A sequência obtida foi depositada no GenBank (MT541892.1), perfazendo assim o primeiro depósito para a espécie *Aleurothrixus aepim* no Brasil.

Figura 13 Sequência final de *Aleurothrixus aepim* com aproximadamente 700 pb obtidas neste trabalho.

```
AGATATTGGTATACTTTATTTTATGTTTGGTATTTGAAGAGGATTAATTGGAACCTT
TTTTTAGTTTAATAATTCGCACTGAATTGAGGAATGTTGGATCTTTTGTGATGAAT
GATCAGTTGTATAACGTTATAGTCACATCTCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTATA
ACTATACCTTTAGTGATTGGTGGCTTTGGAAATTGACTAGTTCCTTTAATAATTGG
AGCTCCTGATATGGCTTTTCCTCGGATAAATAATCTGAGATTTTGGTTATTAATTC
CATCTTTAACTATAATAATCTCAAGACTTTTGGTTGGCGGGGGTTTTGGTACAGGC
TGAAGTGTACCCACCCCTTTCATTAAATCTTCTCATAGGGGGTGTCTGTGGA
TACATCTATTTTGTCTTTGCATATTGCTGGAGCATCTTCAATCTTAGGCGCTATAA
ACTTTATTGTTACTATTTTAAATATGCGAGTTGTTGGAATTGGGTTAGATTTAATA
AGTCTGTTTGTGGTCAGTTTAAATTACTGTCTTTTGGCTTTTGATTTCGTTGCC
GTTTTGGCAGGAGCAATACTATACTTTGTTTGATCGAACTTTAATAGTTCTTT
TTATGATCCGCTGGGAGGTGGAGATCCTATTTTATATCAGCATTTATTTTGATTTT
```

5.2 Análise morfológica da superfície de folhas de 10 cultivares de mandioca

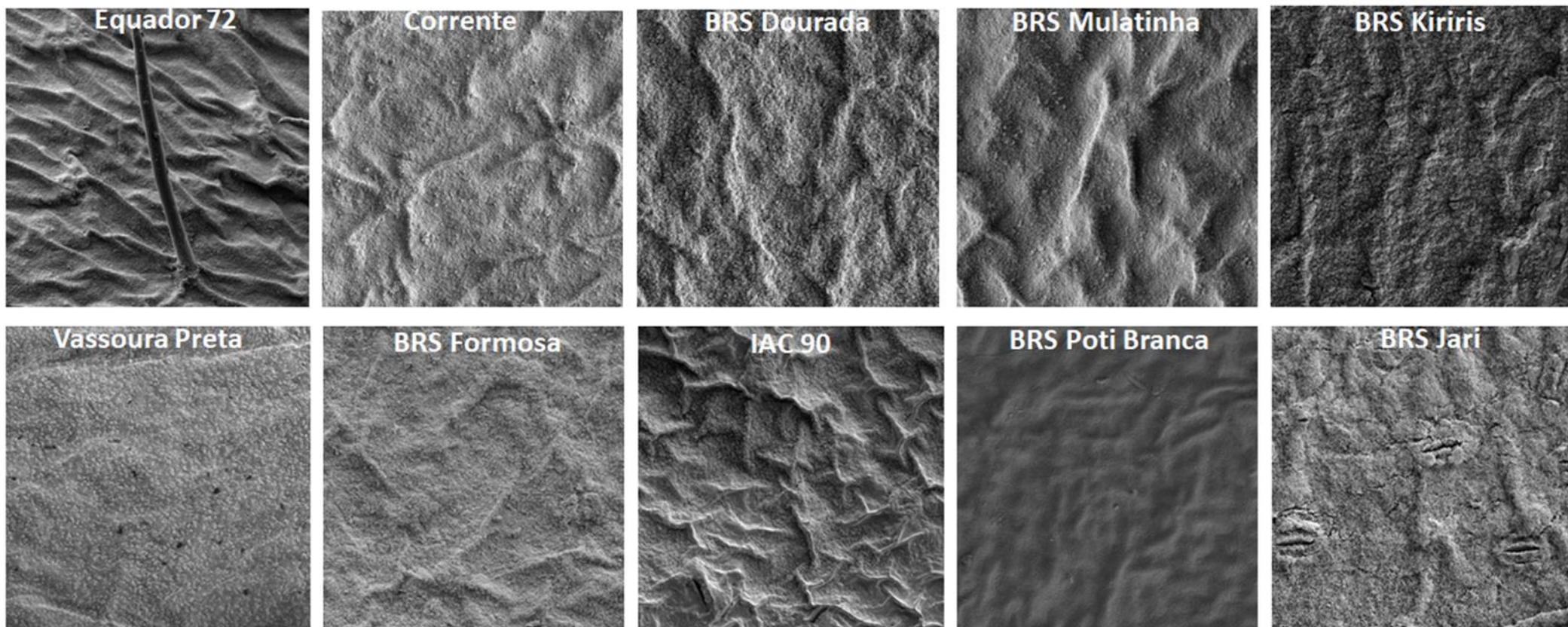
As análises morfológicas das folhas das cultivares de mandioca foram realizadas utilizando a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), em nosso estudo foram usadas dez cultivares de mandioca, entre essas dez duas são referência, uma resistente (Equador 72) e outra susceptível (BRS Jari) à mosca-branca. Podemos observar algumas características morfológicas distintas entre os dez cultivares de mandioca. A primeira característica notável é a diferença na organização das ceras cuticulares, tanto nas partes adaxial (parte superior), quanto nas partes abaxial (parte inferior) das folhas, como podemos observar nas Figuras 13 e 14. As ceras cuticulares formam a interface principal entre uma planta e seu ambiente externo, as funções mais importantes dessa interface hidrofóbica são a regulação da perda de água, as trocas gasosas, protegem as plantas das radiações ultravioletas, diminui a deposição de água na superfície da planta, minimizar a retenção de pólen, poeira, poluentes do ar e a resistência a uma ampla gama de estresses bióticos e abióticos (AHMAD, UR-RAHMAN, *et al.*, 2015, DHANYALAKSHMI, *et al.*, 2019). Em nossos resultados, podemos observar algumas superfícies lisas (Vassoura Preta e BRS Poti Branca), rugosas (Equador 72, Corrente, BRS Formosa, BRS Dourada, BRS Kiriris, BRS Mulatinha e BRS Jari) e com filamentos cotonosos, semelhante ao algodão (IAC 90).

A superfície da cutícula foliar é coberta por lipídios epicuticulares que variam muito em sua espessura e composição química dependendo da espécie, cultivar ou parte da planta. Essa superfície da planta é a principal zona de contato para uma aproximação do inseto, a composição química e estrutura física da cera, influencia diretamente na alimentação e oviposição dos insetos podendo afetar o comportamento dos insetos na escolha da planta hospedeira (KHAN, BERA, *et al.*, 2015, MÜLLER, RIEDERER, 2005). A variação na morfologia das ceras epicuticulares podem influenciar diretamente na ecologia dos insetos herbívoros, afetando sua fixação na superfície das plantas (EIGENBRODE, JETTER, 2002).

As variações nos perfis morfológicos encontrados em nosso trabalho também são evidenciados em plantas de outras culturas como em cultivares de *Phormium tenax* que apresentaram diferenças morfológicas nas ceras presente em suas folhas, tendo a superfície abaxial com uma organização mais complexa que a superfície adaxial (CARR, CRUTHERS,

et al., 2009), em genótipos de amendoim (HARDE et al., 2020), plantas de samambaias (CERÓN-CARPIO, PÉREZ-GARCÍA, *et al.*, 2019), quatro genótipos de trigo chineses (WANG, WANG, *et al.*, 2015),

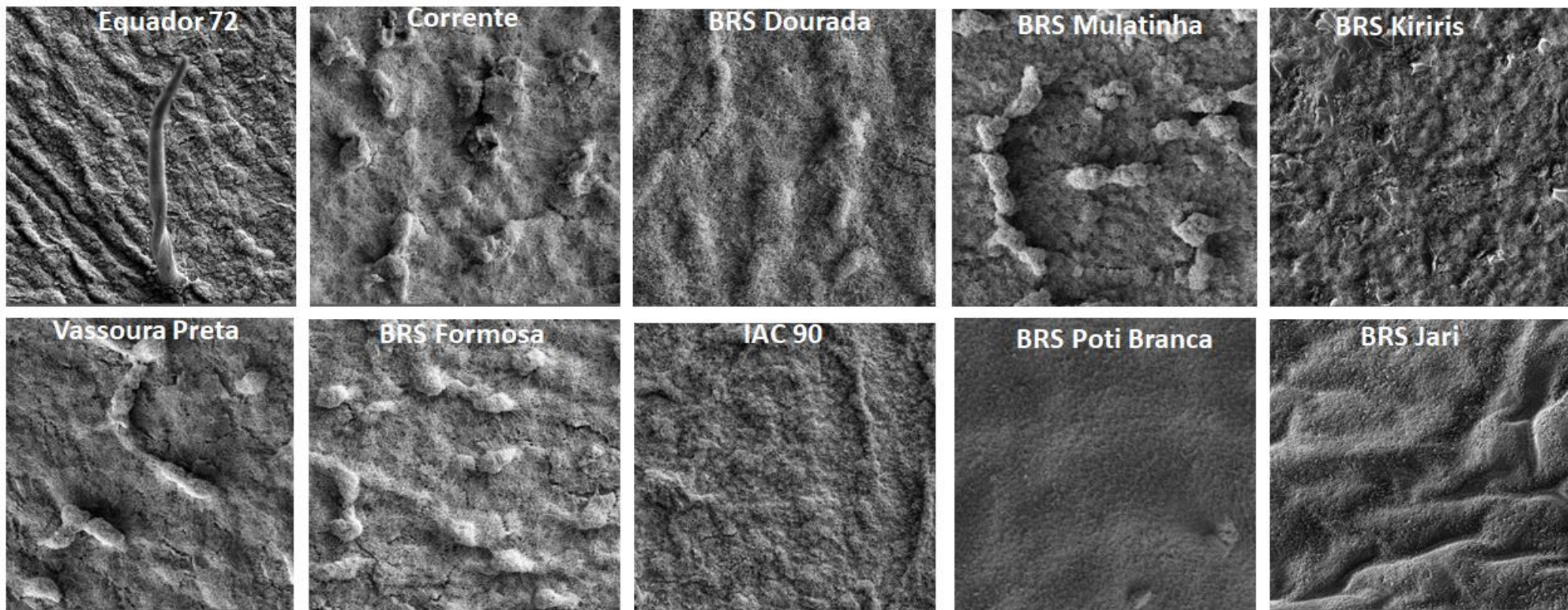
Figura 14 Cera presente na parte adaxial (superior) das folhas das dez cultivares de mandioca (20 μm).



em plantas de cebola (DAMON; GROVES AND HAVEY, 2014), em folhas de *Pistacia atlantica* (BELHADJ, DERRIDJ, *et al.*, 2007), plantas de *Ipomoea batatas* (DE CASTRO E CASTRO, SOARES, *et al.*, 2019), em 242 acessos de *Cleome gynandra* (WU, SOLBERG, *et al.*, 2018), em 22 taxons de sedum nativos (JOVANOVIĆ; ZLATKOVIĆ; STOJANOVIĆ, 2015), em 25 acessos de aspargos coletados em diferentes regiões da Índia, foram analisadas e apresentaram variabilidade intra e interespecífica nos caracteres micromorfológicos das ceras epicuticulares (KUMARI ; SINGH, 2019), em folhas de *Litchi chinensis* (SAMANTA, GHOSH, *et al.*, 2013), e também foram encontrados em genótipos de mandioca (ZINSOU, WYDRA, *et al.*, 2006).

Essas variações morfológicas das ceras encontradas nas superfícies das folhas de mandioca em nosso estudo podem estar relacionadas à resistência ou tolerância dessa cultura a insetos herbívoros como acontece em outras culturas, como nos estudos realizados por KHAN *et al.* (2015), foi observado que as plantas de algodão que apresentaram menor espessura das ceras epicuticulares são mais susceptíveis aos ataques da mosca-branca e, conseqüentemente a transmissão do vírus cotton leaf curl (CLCuD). Em plantas de diferentes cultivares de repolho as ceras são um importante fator na resistência antixenótica frente aos ataques de besouros de repolho (*Phyllotreta spp.*) e aos percevejos (*Eurydema spp.*) (BOHINC, MARKOVIČ, *et al.*, 2014). Doze genótipos de cacau que apresentaram uma maior quantidade de cera foram resistentes contra espécies de *Phytophthora*, quando comparados aos genótipos de cacau com menor quantidade de cera, sugerindo que a camada epicuticular fornece uma defesa extra (NYADANU, AKROMAH, *et al.*, 2012), as variedades de sementes de ervilha com mutações que reduzem a floração de cera cristalina na superfície da planta foram as que sofreram danos mais frequentes do gorgulho da ervilha (*Bruchus pisorum* L.) (CHANG, NEUFELD, *et al.*, 2006), em plantas de *Triticale* do genótipo ED 1137 que apresentam maior quantidade de cera, foram menos aceitas pelos pulgões *Rhopalosiphum padi* diminuindo a densidade, fecundidade e prolongando a maturidade dos pulgões quando comparados com o genótipo (RAH 366) com menor quantidade de cera (WÓJCICKA, 2013), em 10 genótipos de cana-de-açúcar onde as variedades com maior nível de ceras epicuticulares mostraram uma alimentação significativamente menor de *Deltocephalus menoni* que é um vetor da doença da folha branca da cana-de-açúcar (WLD)(CHANCHALA, WANASINGHE, *et al.*, 2020) e em genótipos de mandioca resistentes a bactérias *Xanthomonas* (ZINSOU, WYDRA, *et al.*, 2006).

Figura 15 Cera presente na parte abaxial (inferior) das folhas das dez cultivares de mandioca (20 μm).

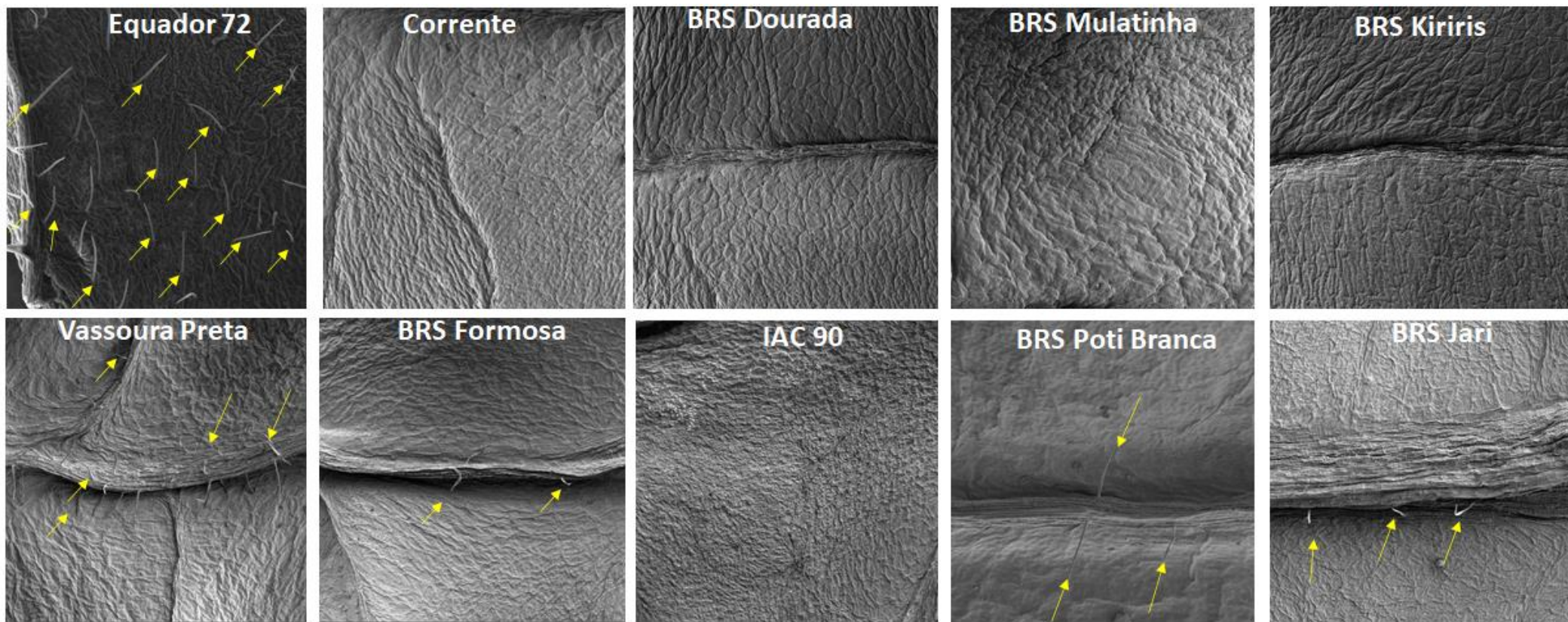


Podemos observar nas Figuras 15 e 16 resultados semelhantes aos encontrados por ZINSOU, WYDRA, *et al.* (2006), onde os genótipos de mandioca resistentes e susceptíveis a bactérias *Xanthomonas*, analisados utilizando MEV apresentaram uma distribuição regular de ceras na superfície da folha abaxial, como encontrado nos genótipos Equador 72, Vassoura Preta, Corrente, BRS Formosa, BRS Dourada, BRS Mulatinha e IAC 90 estudados em nosso trabalho. Também é possível notar semelhanças na presença de poros estomáticos em nosso trabalho, bem como os que foram encontrados visivelmente no cultivar susceptível BRS Jari na superfície da folha adaxial (Figura 10), embora no estudo realizado por ZINSOU *et al.* (2006) foram encontrados poros estomáticos nos genótipos susceptíveis e resistentes, na superfície da folha adaxial onde as ceras estavam na forma de cristalóides e não ocluíam os estômatos.

Em nossa análise morfológica nas superfícies das folhas dos dez cultivares de mandioca, é possível notar a presença de tricomas nas cultivares Equador 72 (cultivar resistente), Vassoura Preta, BRS Poti Branca, BRS Formosa e BRS Jari (cultivar susceptível). Os tricomas se desenvolveram em quase todas as estruturas de plantas não aquáticas, como folhas, caules e até frutos, podendo ser glandulares ou não glandulares, unicelulares ou multicelulares e costumam servir como barreiras físicas contra o ataque de insetos e infecções por fungos (ŁAŻNIEWSKA, MACIOSZEK, *et al.*, 2012). Os tricomas encontrados nas cultivares de mandiocas são do tipo não-glandulares, como descrito por SILVA (2010), onde observou-se que as espécies desta família apresentam tricomas dos tipos tectores, glandulares ou urticantes, porém, em geral, são encontrados com maior frequência tricomas tectores simples ou multicelular unisseriados. Esses tricomas são conhecidos por atuarem na proteção de plantas contra estresses bióticos e abióticos, formando uma barreira contra perda de água, proteção contra incidência da luz, temperatura, alimentação e oviposição dos insetos (SANTOS TOZIN, DE MELO SILVA, *et al.*, 2016).

Nas cultivares Vassoura Preta, BRS Poti Branca, BRS Formosa e BRS Jari (cultivar susceptível) foram encontrados tricomas apenas nas nervuras, região da folha que contém o conjunto de vasos condutores de seiva da planta. Possivelmente, os tricomas aparecem nessa região para proteger as plantas contra os ataques causados por insetos sugadores como a mosca-branca, pois estes preferem ovipositar próximo a essa região.

Figura 16 Tecido foliar presente na parte adaxial (superior) das folhas das dez cultivares de mandioca (200 μm).



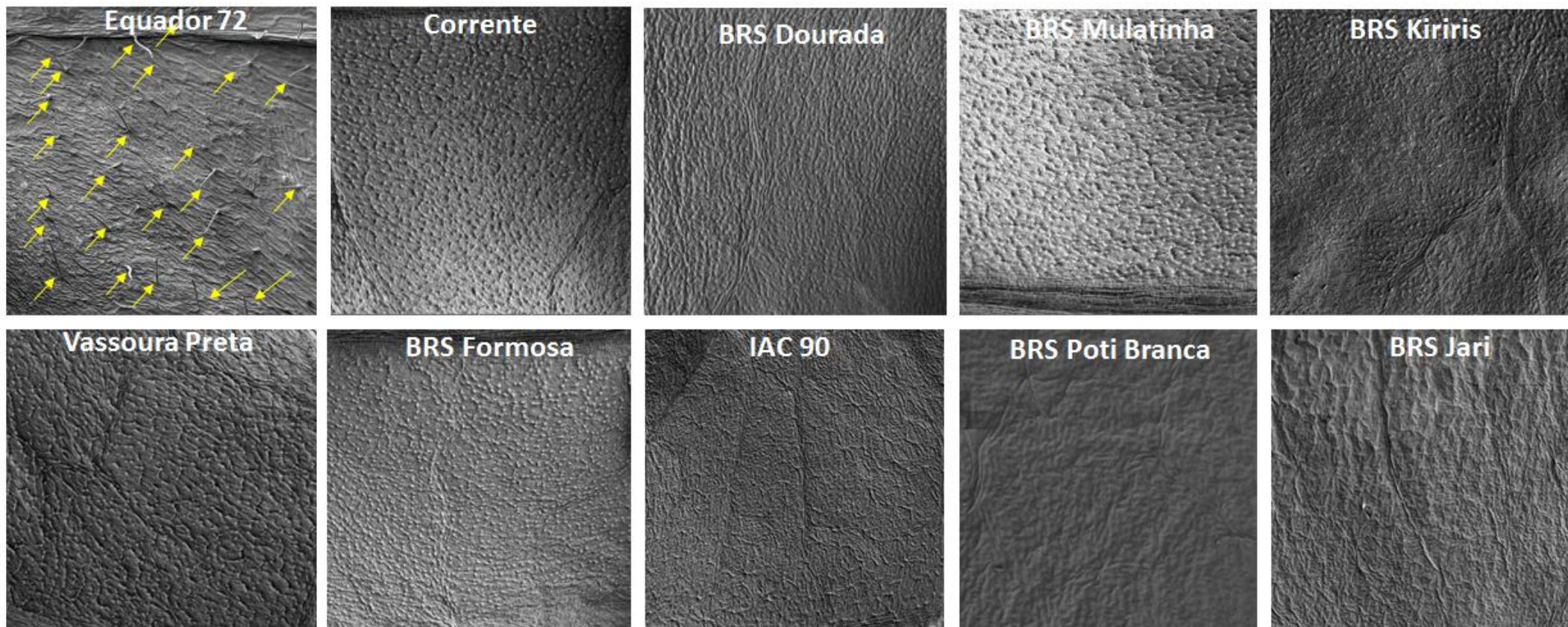
As setas amarelas mostram os tricomas presentes em cada cultivar.

Como descrito por (LARISSA C. DE LIMA, 2008), onde o maior número de ovos da *Bemisia tabaci* biótipo B foram encontrados próximo à nervura principal e entre as nervuras secundárias em plantas de pimentão, em plantas de meloeiro verificaram um maior número de ninfas de *B. tabaci* biótipo B nas áreas correspondentes aos setores direito e esquerdo próximas à base das folhas (AZEVEDO, BLEICHER, 2003).

Entre as cultivares que foram encontrados tricomas, a cultivar Equador 72 (resistente) foi a única que apresentou uma grande densidade de tricomas no tecido foliar, em ambas superfícies abaxial e adaxial das folhas, como podemos notar nas Figuras 15 e 16. Essa alta densidade de tricomas pode estar relacionado a um dos mecanismos de resistência dessa cultivar frente a mosca-branca *Aleurothrixus aepim*, uma vez que os tricomas apresentam diversos relatos em outras culturas de atuarem na resistência das plantas contra herbívoros, como em folhas de *Solanum carolinense*, onde larvas de *Manduca sexta*, ganharam mais peso em folhas com menor densidade de tricomas do que em folhas com maior densidade de tricomas (KARIYAT, SMITH, *et al.*, 2017), em plantas de tomate com altas densidades de tricomas apresentaram um número reduzido de adultos, ninfas, pupas, ovos e tiveram alta mortalidade da mosca-branca *Bemisia tabaci* Genn (RAKHA, HANSON, *et al.*, 2017), também em genótipos de tomate com alta densidade de tricomas mostraram resistência ao pulgão-verde, *Myzus persicae* (DA SILVA, CARVALHO, *et al.*, 2019), em uma variedade de soja com alta densidade tricomas foi menos atraente para *Megacopta cribraria* (LAHIRI, REISIG, *et al.*, 2020) e também os genótipos de mandioca que apresentam alto número de tricomas foram menos preferidas para oviposição do ácaro-verde-da-mandioca, *Mononychellus tanajoa* (STRUCKER, 2016).

Nossos resultados corroboram com os resultados encontrados por (BELLOTTI, PEÑA, *et al.*, 2005), no qual foi observado uma grande quantidade de tricomas para a cultivar Equador 72. Essa cultivar revelou-se altamente resistente ao percevejo-de-renda *Vatiga illudens* podendo relacionar essa resistência às barreiras físicas encontradas nas superfícies foliares, como presença de tricomas, tipo e espessura da cera, dureza e textura da epiderme, ou relacionadas à presença de voláteis das plantas, que ao serem detectados pelas fêmeas de *V. illudens* mudam o comportamento de oviposição, reduzindo significativamente sua postura sobre as folhas de mandioca (DE OLIVEIRA, BELLON, *et al.*, 2016). De acordo com estudos existentes, essa cultivar apresenta um alto nível de resistência a alguns tipos de mosca-branca (OMONGO, Christopher A, KAWUKI, *et al.*, 2012), como também apresenta bons níveis de resistência a *B. tabaci* e *Aleurothrixus socialis*.

Figura 17 Tecido foliar presente na parte adaxial (inferior) das folhas das dez cultivares de mandioca (200 μm).



As setas amarelas mostram os tricomas.

A mortalidade das ninfas foi maior na cultivar Equador 72, do que em outros genótipos, quando as moscas-brancas *A. socialis*, *Bemisia tuberculata* e *Aleurothrixus aepim* se alimentaram desse genótipo, são observadas taxas muito baixas de oviposição, período de desenvolvimento mais longos, tamanho reduzido e maior mortalidade do que os de outros genótipos. (BARILLI, WENGRAT, *et al.*, 2019, BELLOTTI, A. C., ARIAS, 2001, CARABALÍ, BELLOTTI, *et al.*, 2010b, LIMA, RINGENBERG, *et al.*, 2018).

Possivelmente, os mecanismos responsáveis pela resistência desta cultivar as diferentes espécies de mosca-branca estão ligados diretamente as características físicas das superfícies foliares como as ceras epicuticulares, que podem ter em sua composição substâncias responsáveis pelos efeitos adversos ocasionados a biologia dos insetos que atacam esse genótipo e também a alta densidade de tricomas presente nas superfícies abaxial e adaxial das folhas, dificultando a locomoção, alimentação e oviposição dos insetos nessa cultivar.

5.3 Perfis dos COVs de dez cultivares de mandioca

Na busca de COVs como biomarcadores de resistência na cultura da mandioca, foram estudadas dez cultivares desta cultura, usando para isso duas cultivares referências, uma descrita como resistente à mosca-branca (Equador 72) e outra cultivar descrita como susceptível (BRS Jari). As análises dos extratos dos COVs das dez cultivares de mandioca foram realizadas nos tratamentos controle e infestado, os extratos foram coletados por um período de 48 horas, esse tempo foi escolhido, pois apresentou uma emissão mais significativa em comparação ao período de 24 horas. As análises dos COVs levaram a identificação de uma grande variedade de compostos de diversas classes, como n-alcanos, alcanos ramificados, alcenos, aldeídos, álcoois, cetonas entre outras classes de compostos. Os extratos das cultivares apresentaram perfis cromatográficos distintos, variando em número e concentração dos compostos. No tratamento de controle, as cultivares Vassoura Preta e BRS Mulatinha apresentaram o maior número de COVs, com dezessete compostos, todavia a cultivar BRS Kiriris foi a que apresentou o menor número com apenas sete compostos. Por outro lado, no tratamento infestado as cultivares BRS Formosa e BRS Mulatinha apresentaram o maior número de COVs, com dezoito compostos, a cultivar BRS Poti Branca foi a que apresentou o menor número com apenas seis compostos. Os compostos identificados presentes em todas as cultivares estão listados na Tabela 3.

Os COVs de plantas são metabólitos liberados em grandes quantidades por meio de trocas gasosas, para se protegerem dos estresses bióticos e abióticos e fornecem informações que ajudam os predadores e parasitoides na localização de insetos herbívoros, na comunicação planta-planta e nas interações tritróficas (BALDWIN, 2010). As plantas de uma mesma espécie, mas de cultivares diferentes apresentam COVs com perfis distintos como relatados para cultivares de pimentão (DA COSTA, PIRES, *et al.*, 2011a), cana-de-açúcar (TAVARES, 2016), milho (SCHNEE, KOLLNER, *et al.*, 2002), Tomate (LEE, JAYAPRAKASHA, *et al.*, 2019), frutos de diferentes cultivares de manga (MESQUITA, PENA, *et al.*, 2020) e mandioca (RIBEIRO, 2015). A emissão de diferentes COVs entre as cultivares da mesma espécie podem estar associados à resistência ou a uma maior atração aos insetos herbívoros, esses compostos emitidos podem ser de classes diferentes e quando são de classes iguais podem ser emitidos em quantidades diferentes.

Tabela 3 Compostos voláteis identificados nas dez cultivares de mandioca, nos tratamentos controle e infestado.

| Compostos | IR | BRS Jari | | Equador 72 | | Corrente | | BRS Dourada | | BRS Formosa | | Vassoura Preta | | BRS Kiriris | | BRS Poti Branca | | IAC 90 | | BRS Mulatinha | | |
|-------------------------------|------|----------|-----------|------------|-----------|----------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|----------------|-----------|-------------|-----------|-----------------|-----------|----------|-----------|---------------|-----------|------|
| | | Controle | Infestada | Controle | Infestada | Controle | Infestada | Controle | Infestada | Controle | Infestada | Controle | Infestada | Controle | Infestada | Controle | Infestada | Controle | Infestada | Controle | Infestada | |
| 1 2,3-dimetil-Butan-2-ol | 724 | 0.00 | 1.82 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.18 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1.52 | 0.00 | 0.00 |
| 2 2-metil-butan-1-ol | 729 | 0.00 | 12.27 | 0.00 | 0.84 | 0.00 | 0.11 | 0.00 | 0.55 | 0.00 | 0.62 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.63 | 0.00 | 0.36 | 0.00 | 0.00 | 10.16 | 0.00 | 0.10 |
| 3 2-metilpenten-3-ona | 745 | 0.00 | 5.43 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 5.80 | 0.00 | 0.00 |
| 4 1-metilciclopentanol | 783 | 0.00 | 2.83 | 0.00 | 0.73 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 2.60 | 0.00 | 0.00 |
| 5 hexan-3-ol | 788 | 0.00 | 1.93 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 2.35 | 0.00 | 0.00 |
| 6 4-metil-pentan-2-ol | 793 | 0.00 | 3.59 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 3.63 | 0.00 | 0.00 |
| 7 3-metil-Ciclopentanona | 825 | 0.00 | 2.35 | 0.00 | 0.09 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 2.97 | 0.00 | 0.00 |
| 8 Etilbenzeno | 853 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.15 | 0.00 | 0.21 | 0.00 | 0.26 | 0.00 | 0.11 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.04 |
| 9 p-xileno | 862 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.12 | 0.00 | 0.24 | 0.00 | 0.28 | 0.00 | 0.96 | 0.00 | 0.11 | 0.00 | 0.31 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.12 |
| 10 Não identificado | 935 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.15 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1.78 | 0.00 | 0.00 |
| 11 4-metilpenten-3-ona | 956 | 0.00 | 31.14 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 30.53 | 0.00 | 0.00 |
| 12 6-metil-5-Hepten-2-ona | 969 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.15 | 0.00 | 0.28 | 0.00 | 0.37 | 0.00 | 0.14 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.22 |
| 13 Octan-3-ona | 972 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1.44 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 14 β-pineno | 975 | 0.00 | 0.23 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.76 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 15 Octanal | 980 | 0.00 | 0.00 | 0.13 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 3.55 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 16 β-mirceno | 987 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1.38 | 0.00 | 0.19 | 0.00 | 0.33 | 9.37 | 0.00 | 0.00 | 0.71 | 0.00 | 0.29 | 2.70 | 2.03 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.14 |
| 17 5-hexen-2-ona | 1012 | 0.00 | 0.60 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.69 | 0.00 | 0.00 |
| 18 Limoneno | 1026 | 0.00 | 0.00 | 0.47 | 0.24 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.19 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.25 | 0.00 | 2.13 | 0.00 | 0.00 | 12.06 | 0.00 | 0.27 | 6.59 | |
| 19 (Z)-β-ocimeno | 1031 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.39 | 0.00 | 0.27 | |
| 20 (E)-β-Ocimeno | 1042 | 3.09 | 0.49 | 34.88 | 23.44 | 10.95 | 0.00 | 0.86 | 1.35 | 0.00 | 1.34 | 0.62 | 0.00 | 0.00 | 2.04 | 0.00 | 0.00 | 23.78 | 10.71 | 38.76 | 13.35 | |
| 21 2-metilDecano | 1065 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.43 | 0.00 | 0.36 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.49 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.31 | 0.00 | |
| 22 6-Metil-3,5-heptadien-2-on | 1077 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 2.81 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 3.87 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.09 | 0.00 | |
| 23 Linalol | 1084 | 0.41 | 3.04 | 0.98 | 0.77 | 0.00 | 1.76 | 0.34 | 0.33 | 11.58 | 1.43 | 0.55 | 0.00 | 0.00 | 0.44 | 8.03 | 0.00 | 22.38 | 15.61 | 8.06 | 8.04 | |
| 24 4-etil-Benzaldeido | 1139 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.31 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 25 Salicilato de Metila | 1175 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 12.37 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 14.32 | 0.06 | 0.00 | 0.15 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.34 | 0.00 | 0.41 | 1.21 | 1.35 | |
| 26 (E)-2-Undecen-1-ol | 1180 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.19 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 27 Decanal | 1184 | 0.39 | 1.38 | 0.21 | 0.48 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.38 | 3.96 | 1.95 | 0.26 | 0.00 | 2.58 | 0.91 | 2.46 | 0.00 | 1.49 | 0.45 | 0.00 | 16.79 | |
| 28 Dodecano | 1200 | 0.00 | 0.13 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.07 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 29 2,4-Dimetilacetofenona | 1225 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 3.36 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 2.01 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 3.53 | 0.00 | 0.45 | 0.00 | |
| 30 Etilacetofenona | 1240 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1.56 | 0.00 | 0.61 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.14 | 0.00 | 0.00 | |
| 31 Acetato de isobornila | 1279 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.04 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 32 Undecanal | 1285 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.13 | 0.00 | 0.29 | 0.00 | 0.54 | 0.17 | 0.54 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 3.64 | 0.00 | 0.70 | 0.00 | 0.25 | 0.00 | |
| 33 Não Identificado | 1294 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 3.56 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1.34 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 34 Tridecano | 1300 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.20 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.12 | 0.00 | 0.00 | 0.66 | 0.00 | 4.84 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 35 2,3,5,8-Tetrametildecano | 1331 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.28 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 36 Longiciclono | 1359 | 0.00 | 0.00 | 0.34 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.58 | 0.00 | 0.15 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 37 Não Identificado | 1390 | 0.24 | 0.00 | 0.20 | 0.00 | 0.18 | 0.00 | 0.24 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.44 | 0.00 | 0.75 | 0.00 | 2.91 | 0.00 | 0.58 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| 38 Tetradecano | 1400 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.11 | 0.00 | 0.15 | 0.27 | 0.00 | 0.93 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.20 | 0.00 | |
| 39 (E)-β-cariofileno | 1404 | 1.93 | 0.00 | 0.28 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 5.79 | 0.00 | 5.19 | 0.00 | 0.00 | 0.32 | |
| 40 Germacene D | 1463 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.57 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |

Continua na próxima página.

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|-----------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 41 | Humuleno | 1468 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.10 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 42 | 2,4-ditert-butilfenol | 1490 | 0.47 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.37 | 0.20 | 0.35 | 0.13 | 0.36 | 0.06 | 0.53 | 0.00 | 3.51 | 0.00 | 2.54 | 0.00 | 0.83 | 0.00 | 0.36 | 0.26 |
| 43 | Pentadecano | 1500 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1.33 | 0.20 | 0.00 | 0.40 | 0.18 | 0.00 | 0.19 | 0.57 | 0.00 | 0.00 | 0.45 | 4.79 | 0.00 | 0.00 | 0.33 | 0.00 | 2.35 |
| 44 | dietilftalato | 1547 | 0.00 | 0.00 | 0.47 | 0.00 | 0.59 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.10 | 0.88 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1.73 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 45 | Não identificado | 1572 | 0.00 | 0.21 | 0.00 | 0.06 | 0.00 | 2.13 | 0.00 | 0.55 | 0.00 | 1.53 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 46 | Hexadeceno | 1590 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.14 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.40 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.19 | 0.00 |
| 47 | Hexadecano | 1600 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.26 | 0.00 | 0.37 | 0.11 | 0.00 | 0.15 | 0.53 | 0.00 | 0.00 | 0.08 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.41 | 0.56 |
| 48 | 1-Heptadeceno | 1674 | 0.32 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.26 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1.63 | 4.69 |
| 49 | Heptadecano | 1700 | 0.17 | 0.77 | 0.21 | 0.00 | 0.32 | 0.00 | 0.55 | 0.00 | 0.18 | 0.00 | 0.84 | 0.00 | 0.00 | 0.06 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 4.00 | 0.59 |
| 50 | Salicilato de octila | 1797 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.32 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 3.81 |
| 51 | Octadecano | 1800 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.18 | 0.00 | 0.33 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.53 | 0.00 | 0.00 | 0.11 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 52 | Ftalato de butila | 1834 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.07 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.05 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 53 | Heptadecanol | 1865 | 0.00 | 0.46 | 0.41 | 0.00 | 0.18 | 0.00 | 0.48 | 0.00 | 0.39 | 0.00 | 0.79 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.07 | 0.93 | 0.00 | 0.71 | 0.00 | 0.00 |
| 54 | Homosalato | 1883 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.10 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1.01 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 55 | Nonadecano | 1900 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.19 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.29 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 56 | Eicosano | 2000 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.19 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 57 | Heneicosano | 2100 | 0.00 | 0.00 | 0.27 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.14 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.05 | 0.00 | 0.00 | 0.37 | 0.00 | 0.00 |
| 58 | Docosano | 2200 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1.31 | 0.00 | 0.10 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 59 | Pentacosano | 2500 | 1.12 | 0.00 | 0.39 | 0.00 | 0.77 | 0.00 | 1.22 | 0.00 | 2.98 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 2.00 | 0.00 | 1.91 | 0.00 | 0.00 |

Foram identificados 33 compostos nos COVs dos cultivares controle entre estes alguns terpenos, β -mirceno, Limoneno, (E)- β -cariofileno e (E)- β -ocimeno e Linalol. Estes compostos são chamados de monoterpenos e são formados pela união de duas unidades de isoprenos C_5 , formando compostos com dez unidades de carbono (C10) (ASHOUR, WINK, *et al.*, 2018). Já o Germaceno e Longiciclono pertencem a subclasse dos sesquiterpenos (C15), compostos formados pela união de três unidades de isoprenos (ASHOUR; WINK; GERSHENZON, 2018).

Os terpenos constituem uma classe de metabólitos grande e estruturalmente diversificada de moléculas que demonstram desempenhar papéis significativos na defesa e desenvolvimento em inúmeras espécies de plantas (BLOCK, VAUGHAN, *et al.*, 2019). Esses compostos são emitidos por plantas saudáveis para realização de funções vitais, como proteger as plantas dos estresses bióticos e abióticos; ou são tratados como moléculas de sinalização, como na atração de polinizadores entre outras funções (SINGH, SHARMA, 2015).

No trabalho realizado por RIBEIRO (2015), foi observado que as cultivares BRS Jari (cultivar susceptível) e Equador 72 (cultivar Resistente) apresentaram diferenças qualitativas e quantitativas nos COVs emitidos por plantas controle e infestadas pelo percevejo-de-renda *Vatiga illudens*. Em nosso trabalho, encontramos uma grande diversidade de compostos, os quais também apresentaram diferenças qualitativas e quantitativas, entre esses alguns dos terpenos como o (E)- β -ocimeno, (E)- β -cariofileno, Linalol, Longiciclono no cultivar Equador 72. Além disso, as plantas desse cultivar, no tratamento controle emitem quantidades significativas de (E)- β -ocimeno, corroborando com as observações realizadas por RIBEIRO (2015). Nosso intuito nesse trabalho, é identificarmos moléculas bioativas que possam ser utilizadas como biomarcadores de resistência em relação à mosca-branca *A. aepim*.

Os COVS listados na Tabela 3 mostram que as cultivares Equador 72 e IAC 90 no tratamento controle foram as que apresentaram o maior número de compostos da classe dos terpenos. A cultivar IAC 90, apresentou as maiores quantidades de Limoneno e Linalol em comparação com as outras nove cultivares, e ainda é a única cultivar a emitir o composto Germaceno D. Outra observação importante, é que o composto (E)- β -ocimeno é emitido em maior quantidade nas plantas controle da cultivar BRS Mulatinha em comparação as outras nove cultivares inclusive nas plantas da cultivar Equador 72, esse composto é descrito como possível marcador de repelência e encontrado em altas quantidades na cultivar resistente como descrito por (RIBEIRO, 2015)

Alguns desses compostos são emitidos em quantidades diferentes por flores de cinco cultivares melão (FERNANDES, SILVA, *et al.*, 2019), também foram observadas diferenças quantitativas e qualitativas nos COVs analisados entre os diferentes cultivares de milho, de batata e de trigo (SCHRÖDER, GLINWOOD, *et al.*, 2015), em cultivares de *Brassica rapa* L. (KUMAR, PAUL, *et al.*, 2017), em sete espécies de citrus (ASAI, MATSUKAWA, *et al.*, 2016) e em três variedades de tomate (MAYO-HERNÁNDEZ, RAMÍREZ-CHÁVEZ, *et al.*, 2019), mostrando assim variabilidade dos voláteis emitidos por cultivares diferentes de uma mesma cultura, como podemos observar em nossos resultados.

Nos cultivares Equador 72 e BRS Formosa, tivemos a presença de aldeídos como octanal, composto emitido por cultivares de milho resistente ao fungo *Aspergillus parasiticus*, este composto inibe completamente o crescimento radial do fungo (WRIGHT, GREENE-MCDOWELLE, *et al.*, 2000). Além disso, apresentou um efeito inibidor na oviposição da traça *Phthorimaea operculella* em plantas de tabaco (LI, ZHANG, *et al.*, 2020), assim como exibiu atividade inibidora de crescimento de plantas, ao ser liberado pelos frutos de *Heracleum sosnowskyi* (MISHYNA, LAMAN, *et al.*, 2015). Entre os aldeídos ainda temos a presença do decanal presente nas cultivares (BRS Jari, Equador 72, BRS Formosa, Vassoura Preta, BRS Kiriris, BRS Poti Branca e IAC 90), composto também encontrado em voláteis de plantas de tabaco (LI, ZHANG, *et al.*, 2020), em plantas de feijão inoculadas por *Colletotrichum lindemuthianum* (QUINTANA-RODRIGUEZ, MORALES-VARGAS, *et al.*, 2015) sendo descrito como o componente principal do feromônio de agregação das larvas da mariposa de cera, *Galleria mellonella* (KWADHA *et al.*, 2018), o mesmo foi encontrado em voláteis de mandioca (BEZERRA, 2017). O undecanal está presente em sete dos dez cultivares (Corrente, BRS Dourada, BRS Formosa, Vassoura Preta, BRS Mulatinha, BRS Poti Branca e IAC 90), esse composto foi encontrado em grandes quantidades em plantas de citrus tolerantes a *Candidatus Liberibacter* spp., agente bacteriano causador do esverdeamento cítrico (Huanglongbing) (HIJAZ, NEHELA, *et al.*, 2016) e em voláteis de berinjelas e gergelim (RIM, UEFUNE, *et al.*, 2018).

Também foram encontrados alguns hidrocarbonetos de cadeia linear que vão de (C12-C25). Esses compostos já foram encontrados em uma diversidade de culturas como voláteis de *Rosa chinensis* Jacq. (YANG, DONG, *et al.*, 2019), em algumas espécies de plantas como *Trifolium pratense* (KIGATHI *et al.*, 2009), plantas de tomate (EIGENBRODE, DING, *et al.*, 2002, NASELLI, ZAPPALÀ, *et al.*, 2017), em voláteis de maçã, (BENGTSSON, BÄCKMAN, *et al.*, 2001), e alguns destes compostos foram encontrados também em voláteis de folhas de mandioca (RIBEIRO, 2015), bem como o composto etilcetofenona que também aparece em voláteis de *Arabidopsis thaliana* (CÁCERES, LAKSHMINARAYAN, *et al.*, 2016).

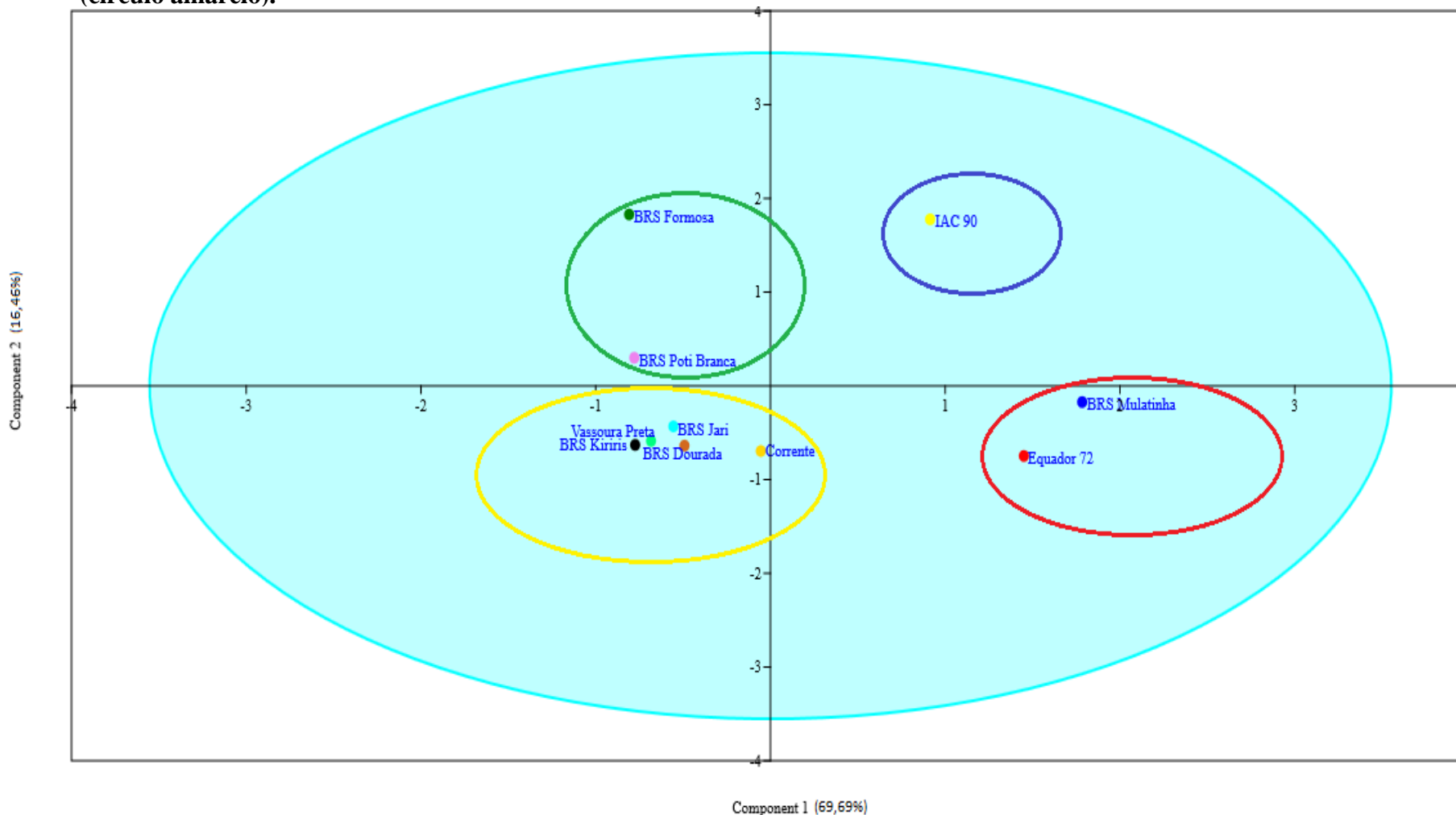
Para entender melhor a semelhança ou a diferença dos perfis dos COVs das dez cultivares de mandioca no tratamento controle, foi realizada uma análise de componentes principais (PCA). O PCA é um dos métodos de análise de dados multivariados mais comumente usados para observar a classificação das amostras projetando os dados multidimensionais originais em diferentes componentes principais (PCs), para que a variabilidade das amostras possa ser avaliada da maneira mais simples (ERIKSSON *et al.*, 2013). A Figura 18 mostra que

os dois primeiros componentes principais explicam quase 90% da variação e separam claramente as dez cultivares em quatro grupos distintos, esses grupos são formados pelos COVs emitidos por cada um dos dez cultivares estudados. O primeiro componente, explica 69,69 % da variância, separando principalmente o primeiro grupo formado pelas cultivares Equador 72 e BRS Mulatinha (círculo vermelho) de todas as outras cultivares.

O segundo componente explica que cerca de 16,46 % da variação e separa claramente as cultivares BRS Formosa e BRS Poti Branca (círculo verde), enquanto na extremidade superior (positiva) temos a presença da cultivar IAC 90 (círculo verde) formando um grupo, e na extremidade inferior (negativa) da PCA temos a formação de outro grupo com a presença das cultivares BRS Jari, Vassoura Preta, BRS Kiriris, BRS Dourada e Corrente (círculo amarelo).

A análise do gráfico de loading plot (cargas) revela quais são os compostos responsáveis pela separação entre as amostras (Figura 19). Os compostos mais relevantes para o primeiro componente (PC1) é um grupo formado por dois monoterpenos (Limoneno e (E)- β -ocimeno). Esses foram os mais representativos para o PC1. O (E)- β -ocimeno é um metabólito presente em níveis relativamente altos nos cultivares BRS Mulatinha e Equador 72, sendo o metabólito mais representativo para formação do grupo 1. Como podemos ver no gráfico do biplot (Figura 19). Esse metabólito já foi descrito por RIBEIRO (2015), onde foi emitido em grandes quantidades em plantas controle do cultivar Equador 72. Os compostos Limoneno e (E)- β -ocimeno são descritos em várias culturas como *Brassica pekinensis* (KANG, LIU, *et al.*, 2018), *Medicago truncatula* (NAVIA-GINÉ, YUAN, *et al.*, 2009), em plantas de *Musa sp.* (BERHAL, DE CLERCK, *et al.*, 2017), *Camellia sinensis* (ZENG *et al.*, 2017), plantas de *Nicotiana tabacum* (CASCONI, IODICE, *et al.*, 2015) e em diferentes espécies cítrus (EL-GENGAIHI, MOHAMMED, *et al.*, 2020).

Figura 18 a) Gráfico de scores das amostras obtido por PCA, relacionando as cultivares de mandioca de plantas controle, o qual levou a formação de quatro grupos. Grupo 1 (círculo vermelho); Grupo 2 (círculo verde); Grupo 3 (círculo azul) e Grupo 4 (círculo amarelo).



O segundo componente (PC2) é definido por um grupo de compostos, octanal, β -mirceno, limoneno, linalol, decanal, composto não identificado (IR 1294) e (E)- β -cariofileno, contribuindo para separação das cultivares BRS Formosa e BRS Poti Branca. Esses compostos são emitidos por várias culturas, como em plantas de macieira (GIACOMUZZI, CAPPELLIN, *et al.*, 2016), plantas de cana-de-açúcar (SILVA FILHO, 2014), mandioca (BEZERRA, 2017, RIBEIRO, 2015), em plantas de banana (BERHAL, DE CLERCK, *et al.*, 2017), em plantas de berinjelas e gergelim (RIM, UEFUNE, *et al.*, 2018), plantas de tabaco (LI, ZHANG, *et al.*, 2020), plantas de feijão (QUINTANA-RODRIGUEZ, MORALES-VARGAS, *et al.*, 2015).

Para verificar o agrupamento das dez cultivares da mandioca em relação aos COVs emitidos, também foi realizado a análise de agrupamento pelo método de otimização de TOCHER, utilizando como medida de dissimilaridade a distância Euclidiana média padronizada, a partir dos 33 COVs dos emitidos pelos dez diferentes cultivares de mandioca no tratamento controle, mostrados na Tabela 3. Verifica-se que a análise agrupou os 10 genótipos em quatro grupos distintos. A análise permite o estabelecimento dos grupos de forma que exista homogeneidade dentro do grupo e heterogeneidade entre grupos. O grupo 1 foi formado por dois genótipos, o grupo 2 também por dois genótipos, o grupo 3 é formado por um único cultivar e o grupo 4 formado por cinco genótipos. Podendo observar que, em geral, os genótipos Equador 72 e BRS Mulatinha, IAC 90, e BRS Formosa e BRS Poti Branca são dissimilares entre si e dos cinco cultivares do grupo 4. Os cinco cultivares que compõe o grupo 4 são similares entre si.

Figura 19 Gráfico de bit-plot dos compostos das dez cultivares de mandioca no tratamento controle.

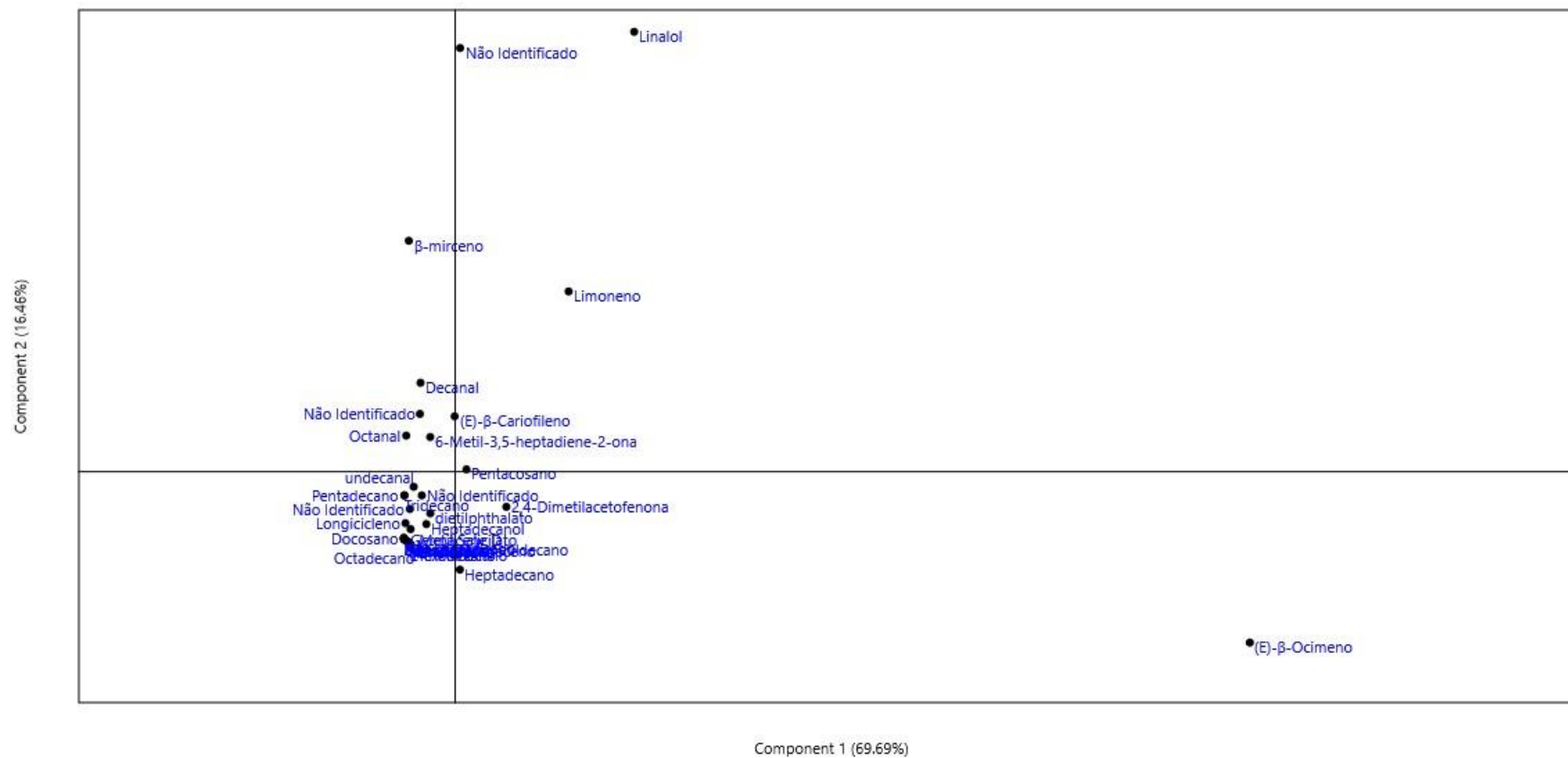
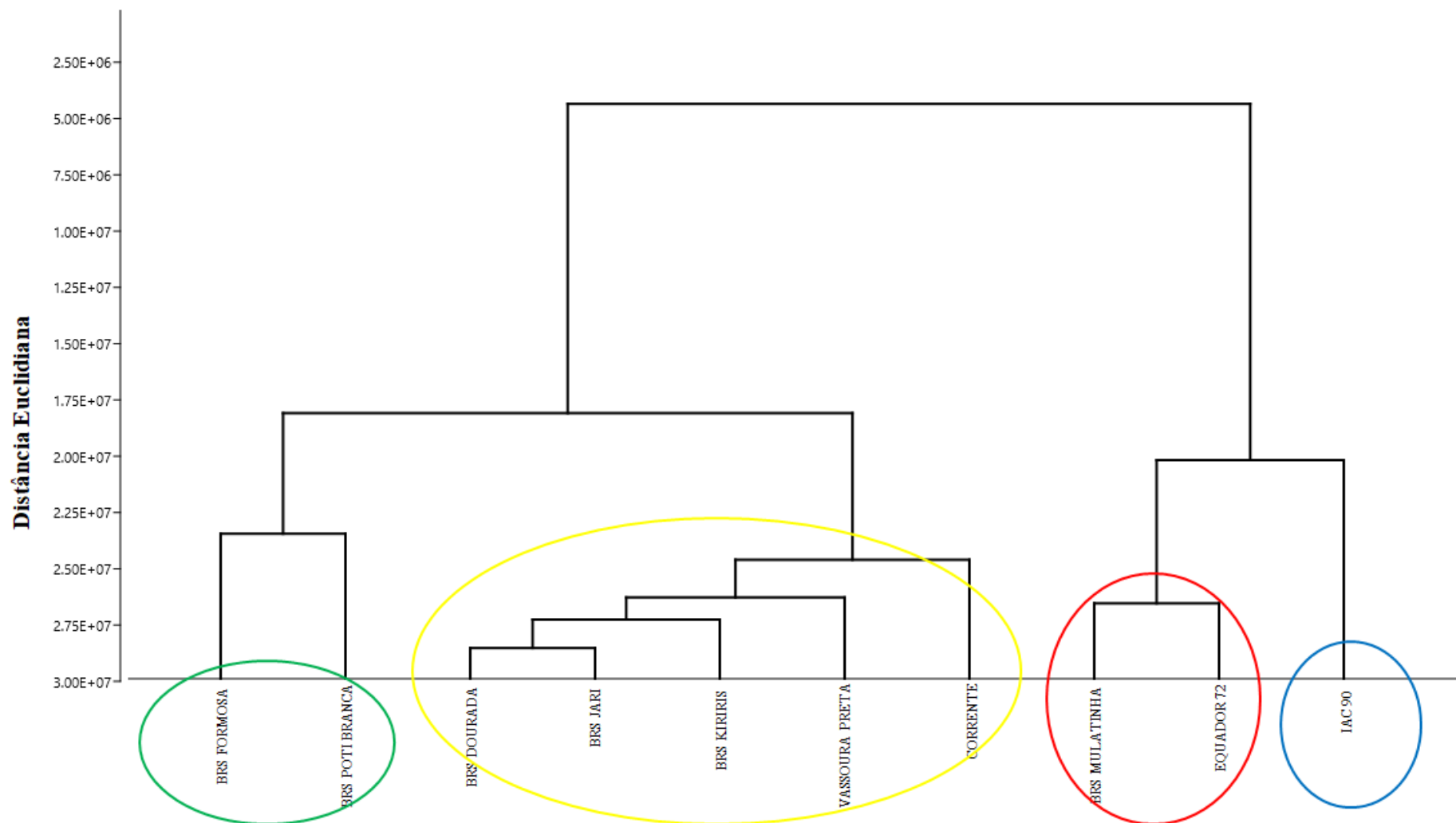


Tabela 4 Agrupamentos entre os dez genótipos de mandioca no tratamento controle, obtidos pelo método de otimização de Tocher, com base na distância Euclidiana média padronizada, considerando os diferentes compostos orgânicos voláteis

| Grupos | Cultivares |
|---------------|---|
| 1 | BRS Formosa e BRS Poti Branca |
| 2 | BRS Jari, Corrente, Vassoura Preta, BRS Dourada e BRS Kiriris |
| 3 | Equador 72 e BRS Mulatinha |
| 4 | IAC 90 |

Em relação à importância das variáveis em discriminar os genótipos em grupos distintos, verifica-se que do total de 33 COVs identificados, apenas 15 contribuíram para tal. Dentre estes 15, o composto Longiciclono foi o que apresentou o maior percentual com 17,80% seguido dos compostos como octadecano com 13,30% e Limoneno com a contribuição de 11,10%. Contudo, conclui-se que estes compostos orgânicos voláteis, em conjunto, são responsáveis por 42,40% da variabilidade existente entre os cultivares estudados. Cabe salientar, que mesmo sendo utilizadas análises estatísticas diferentes para observar a formação de grupos, usando como base os COVs emitidos por dez cultivares de mandioca, buscando padrões de similaridade ou dissimilaridade entre esses cultivares. Encontramos resultados semelhantes quando observamos a formação desses grupos nas técnicas de PCA e de análise de agrupamentos hierárquicos (Dendograma) reforçando a importância da variabilidade dos voláteis existente entre as cultivares de mandioca e mostrando como esses compostos influenciam diretamente na formação dos grupos.

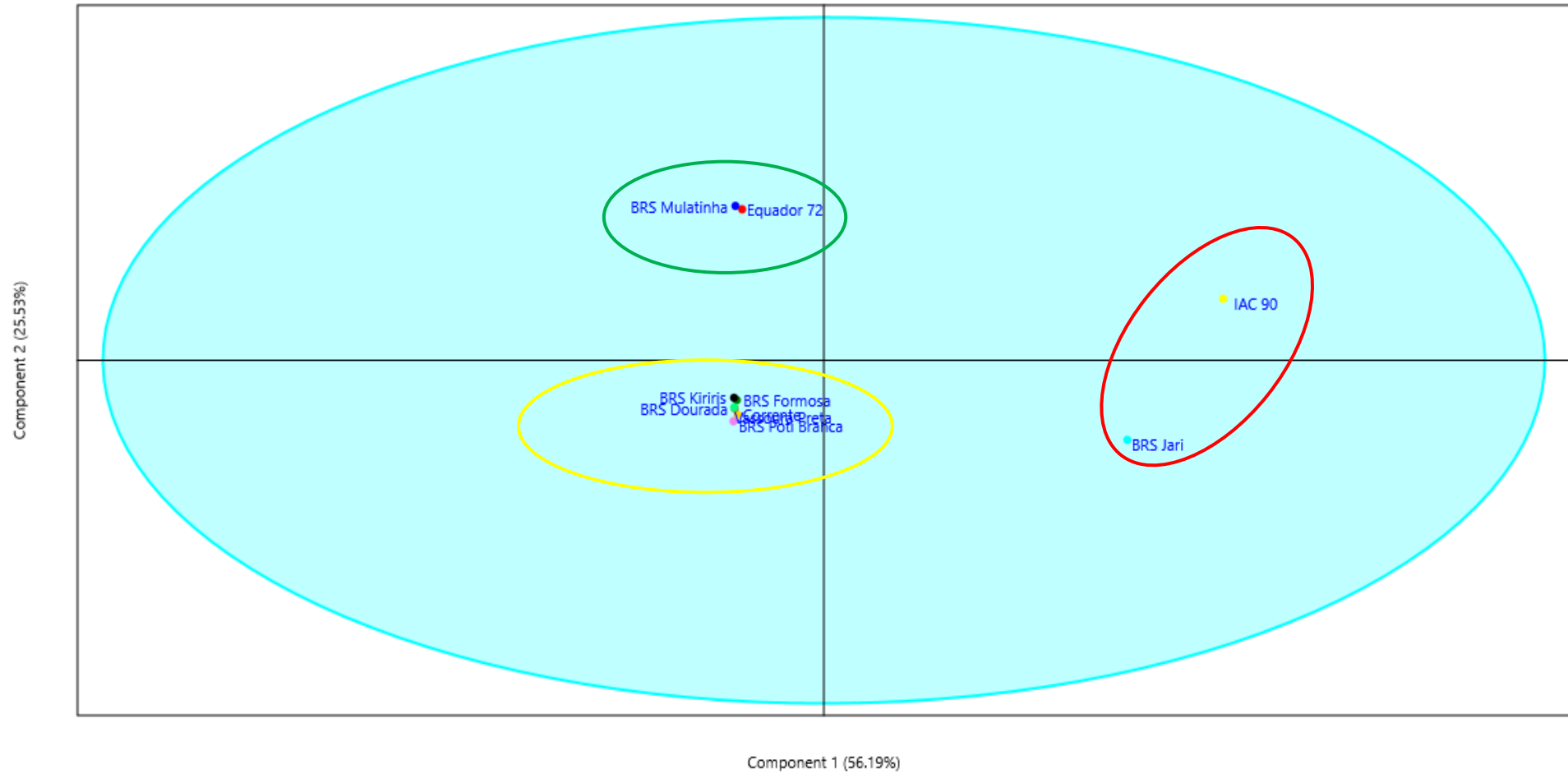
Figura 20 Dendograma mostrando o agrupamento de dez cultivares de mandioca do COVs no tratamento controle.



As dez cultivares de mandioca foram submetidas à infestação com a mosca-branca *A.aepim* para verificar como as plantas respondem em relação à emissão dos COVs. Uma vez que, temos cultivares (Equador 72) resistente e (BRS Jari) susceptível como referência. As análises dos extratos obtidos nas dez cultivares de mandioca no tratamento infestado apresentaram a emissão de alguns novos COVs, os quais apresentaram aumento ou diminuição da emissão quando comparados com os compostos emitidos nas plantas controle. No tratamento infestado, tivemos a emissão de 44 compostos ao total, sendo que as cultivares BRS Formosa e BRS Mulatinha que apresentaram o maior número de COVs, com dezoito compostos, enquanto a cultivar BRS Poti Branca foi a que apresentou o menor número com apenas seis compostos. Os compostos identificados presentes em todas as cultivares estão descritos acima na Tabela 3. As plantas respondem a herbivoria, com a emissão de uma série de COVs, chamados voláteis de plantas induzidos por herbívoros (HIPVs), esses compostos liberados dependem do tipo de dano e até mesmo do tipo de ataque do inseto. Os COVs induzidos exercem um papel importante para as plantas porque são utilizados por predadores como pistas para encontrar suas presas, ajudam na repelência de insetos, aumentam a resistência da planta contra microrganismos e diminuem a taxa de oviposição de insetos na planta (DA COSTA, PIRES, *et al.*, 2011b, STENBERG, HEIL, *et al.*, 2015).

Para entender melhor, a semelhança ou diferença dos perfis dos COVs das dez cultivares de mandioca no tratamento infestado e para decifrar como cada cultivar responde a infestação pela mosca-branca *A. aepim* foi realizada uma análise de componentes principais (PCA). A Figura 21 mostra que, os dois primeiros componentes principais explicam mais 80% da variação e separam claramente as dez cultivares em três grupos distintos, esses grupos são formados pelos COVs emitidos por cada um dos dez cultivares estudados. O primeiro componente, explica 56,19 % da variância, separando principalmente o primeiro grupo formado exclusivamente pela cultivar BRS Jari e IAC 90 (círculo vermelho) de todas as outras cultivares. O segundo componente explica cerca de 25,53 % da variação e separa claramente as cultivares BRS Mulatinha e Equador 72 (círculo verde), enquanto a na extremidade inferior (negativa) da PCA temos a formação do terceiro grupo formado com a presença das seis cultivares BRS Formosa, BRS Poti Branca, Vassoura Preta, BRS Kiriris, BRS Dourada e Corrente (círculo amarelo).

Figura 21 a) Gráfico de scores das amostras obtido por PCA, relacionando as cultivares de mandioca de plantas infestada, o qual levou a formação de quatro grupos. Grupo 1 (círculo vermelho); Grupo 2 (círculo verde); Grupo 3 (círculo azul) e Grupo 4 (círculo amarelo).



A análise do gráfico de loading plot (cargas) revela quais os compostos responsáveis pela separação entre as amostras (Figura 22). Os compostos mais relevantes para o primeiro componente (PC1) é um grupo formado por quatro compostos (2-metilbutan-1-ol, Linalol, 4-metilpenten-3-ona e octan-3-ona). Esses compostos foram os mais representativos para o PC1. Sendo o composto 4-metilpenten-3-ona, o metabólito presente em níveis relativamente altos na cultivar BRS Jari em resposta a infestação, contribuindo assim para formação do grupo 1, como podemos ver no gráfico do bitplot (Figura 22). Essa cultivar respondeu a infestação emitindo uma mistura de compostos diferentes dos emitidos no tratamento controle, cabe salientar que essa cultivar emitiu um total de dezessete compostos no tratamento infestado.

O segundo componente (PC2) é formado pela contribuição de um grupo de compostos, principalmente Limoneno, Linalol, (E)- β -Ocimeno, Salicilato de metila, Decanal, Ftalato dietila, Heptadeceno e Heptadecano. O composto com maior contribuição para formação do grupo 2, foi o monoterpeno (E)- β -Ocimeno, assim como, nos COVs emitidos pelas plantas controle das cultivares Equador 72 e BRS Mulatinha que também formaram um grupo no tratamento controle. Esse composto apresentou a maior contribuição para o PC2, como pode ser observado nitidamente na Figura 22.

De maneira semelhante, como foi realizado no tratamento controle as cultivares do tratamento infestado foram submetidas a análise de agrupamento em relação aos COVs emitidos pelo método de otimização de TOCHER, utilizando como medida de dissimilaridade a distância Euclidiana média padronizada, a partir de 44 COVs emitidos pelos dez diferentes genótipos mandioca no tratamento infestado, encontra-se na Tabela 3. Verifica-se que a análise agrupou os 10 genótipos em três grupos distintos. O grupo 1 foi formado por seis genótipos e os grupos 2 e 3 formados por dois genótipos cada.

Figura 22 Gráfico de bit-plot dos compostos das dez cultivares de mandioca no tratamento infestado.

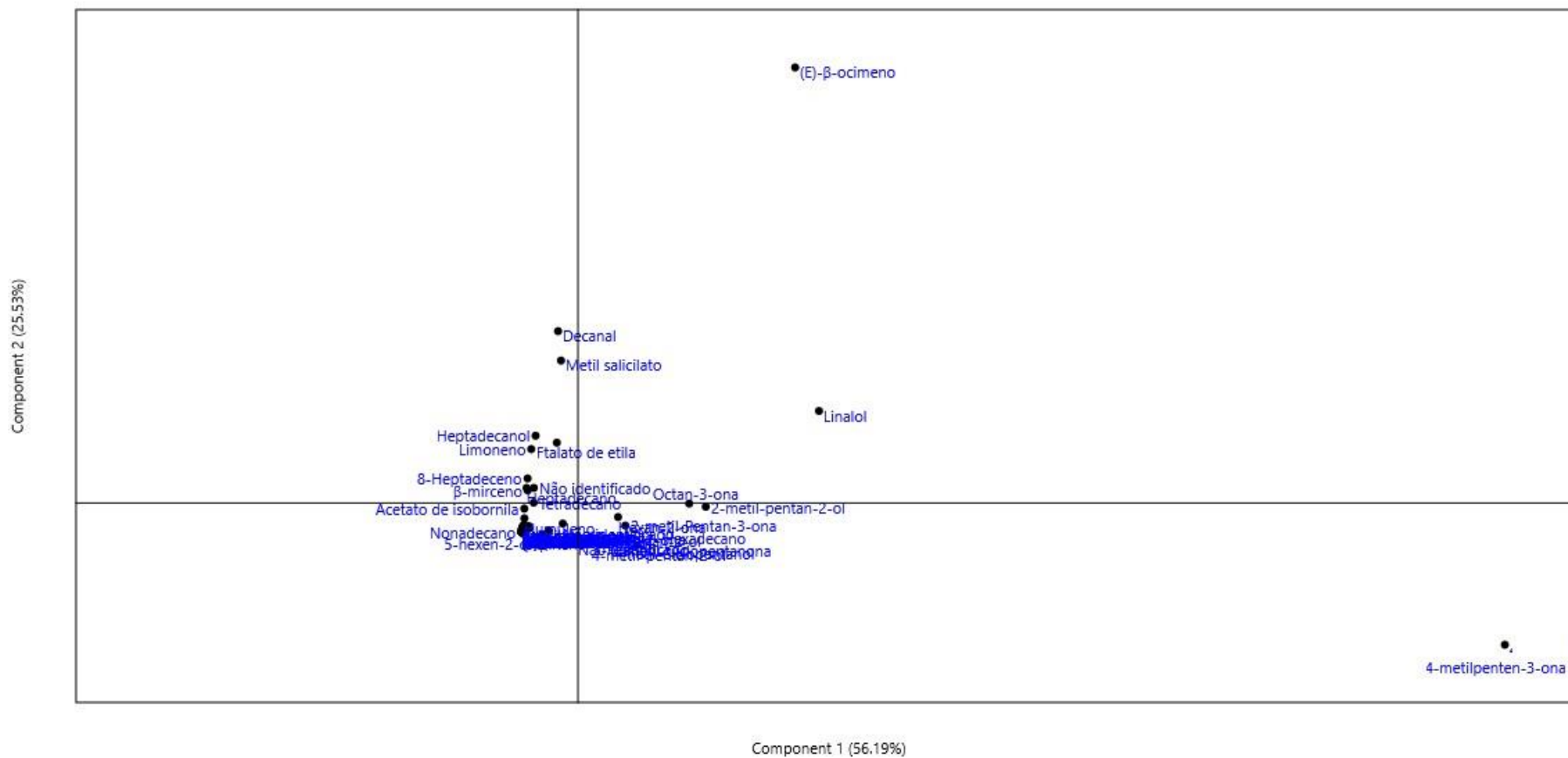


Figura 23 Dendrograma mostrando o agrupamento de dez cultivares de mandioca do COVs no tratamento infestado.

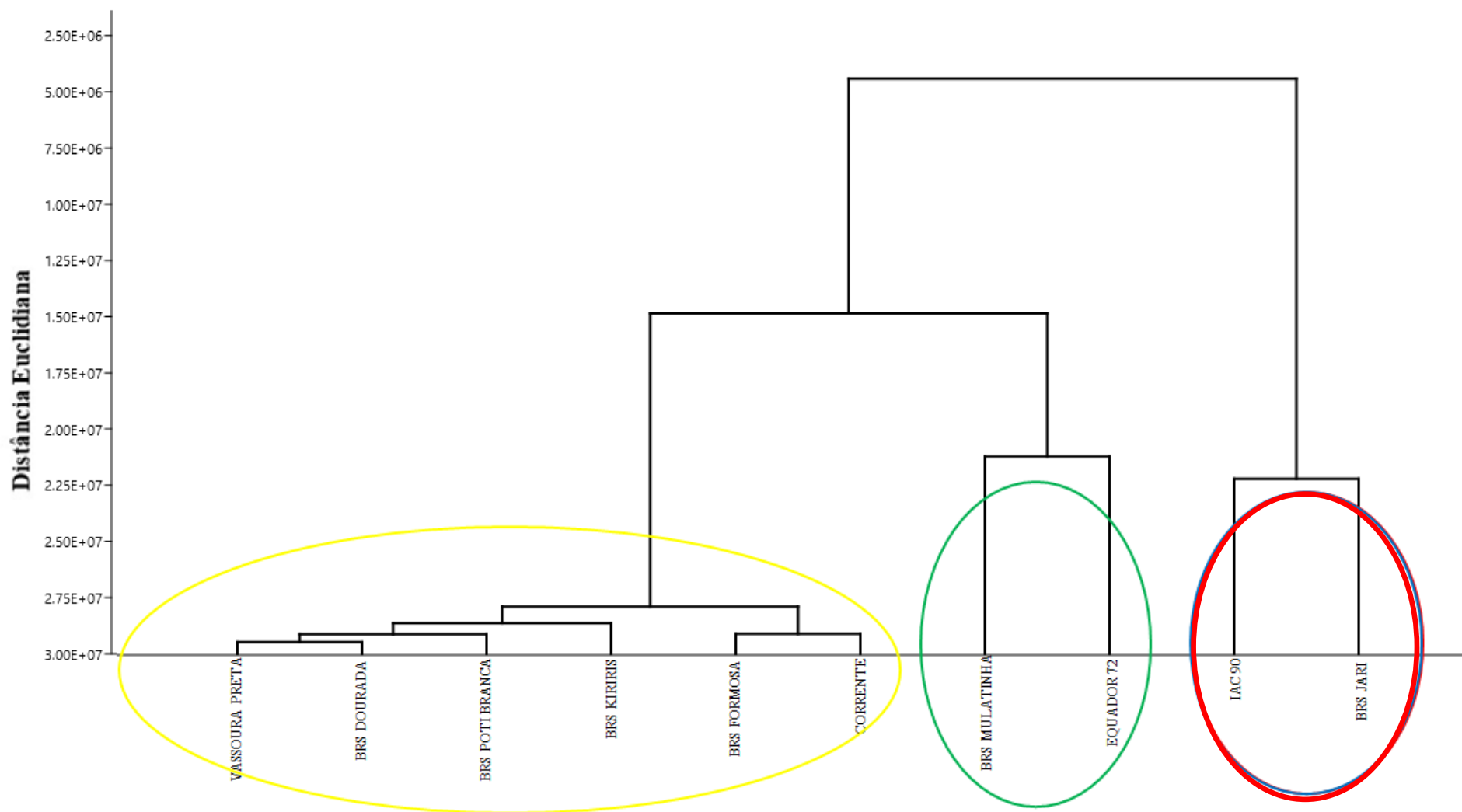


Tabela 5 Agrupamentos entre os dez genótipos de mandioca no tratamento infestado, obtidos pelo método de otimização de Tocher, com base na distância Euclidiana média padronizada, considerando os diferentes compostos orgânicos voláteis

| Grupos | Cultivares |
|--------|--|
| 1 | BRS Formosa, Corrente, Vassoura Preta, BRS Dourada, BRS Poti e BRS Kiriris |
| 2 | BRS Mulatinha e Equador 72 |
| 3 | BRS Jari e IAC 90 |

Entre os compostos emitidos no tratamento infestado, cabe destacar emissão de vários pertencentes a algumas classes orgânicas contendo apenas seis átomos carbono, são eles 2,3-dimetilbutan-2-ol, 2-metilbutan-1-ol, 1-metilciclopentan-1-ol, hexan-3-ol e o 4-metilpentan-2-ol, alguns desses compostos são comumente descritos como voláteis de folha verde, esses compostos não foram encontrados nos COVs emitidos pelas plantas no tratamento controle. Os voláteis de folhas verdes (GLVs) representam um importante grupo de voláteis de plantas. Eles consistem em compostos formados por seis átomos de carbono (C6), incluindo álcoois, aldeídos e ésteres, e são liberados em quase todas as plantas. Esses compostos são muito produzidos e / ou emitidos rapidamente após a infecção por patógeno ou herbivoria, estes compostos desempenham um papel importante nas defesas das plantas. Também são relatados como fundamentais nas defesas indiretas afetando diretamente as pragas, mas esse não é a única função biológica dos GLVs. Esses voláteis, são provavelmente uma das armas exploradas mais rapidamente (DUDAREVA, NEGRE, *et al.*, 2006, SCALA, ALLMANN, *et al.*, 2013). Esses compostos já mostraram atividades em várias culturas como *Cocos nucifera* (SHAMEER, NASSER, *et al.*, 2018), em plantas de tomate (CUI, SU, *et al.*, 2014, ZHANG, Wen Fa, GONG, *et al.*, 2019). Outros compostos emitidos foram, algumas cetonas como 2-metil-Pentan-3-ona, Hexan-2-ona, 3-metil-Ciclopentanona, 6-metil-5-Hepten-2-ona, Octan-3-ona que já foram encontrados em voláteis das folhas de *Platanus orientalis* (GÜLER, DURSUN, *et al.*, 2017), em voláteis diferentes cultivares de amendoeiras (OLIVEIRA *et al.*, 2019), em frutos de pêssegos (SEKER, EKINCI, *et al.*, 2017). O composto octan-3-ona foi encontrado em brotos de *Capparis spinosa* (ASCRIZZI, CIONI, *et al.*, 2016), em voláteis de milho anão e híbrido após infecção por *Fusarium* (SHERIF, BECKER, *et al.*, 2016) e em raízes de carvalho danificadas pelas larvas de *M. hippocastani* (WEISSTEINER, HUETTEROTH, *et al.*, 2012). O 6-metil-5-Hepten-2-ona está entre os voláteis emitidos por uma cultivar de pimentão que não é preferida por insetos do pulgão *Aphis gossypii* (DA COSTA, PIRES, *et al.*, 2011), plantas de

feijão induzidas emitiram esse composto, causando as espécies de pulgões *Rhopalosiphum padi* L. e *Aphis fabae* Scop. uma menor preferência por essas plantas (MARKOVIC, GLINWOOD, *et al.*, 2014), em plantas de *Verticordia spicata* atacada pelo herbívoro *Melitaea cinxia* esse composto atua na atração do parasitóide *Cotesia melitaeorum* (PINTO-ZEVALLOS, MARTINS, *et al.*, 2013).

Dentre outras classes de compostos, tivemos a presença de compostos aromáticos como xileno, etilbenzeno, ftalato de dietila e ftalato de isobutila, aldeídos como decanal, undecanal, 4-etilbenzaldeído, hidrocarbonetos como alcanos de cadeia longa que variam de (C12-C21), heptadeceno e os ésteres salicilato de metila, salicilato de octila e acetato de isobornila. Os compostos voláteis como heneicosano e heptadecano semelhantes aos encontrados em plantas saudáveis de rosa *chinensis* suscetíveis ao oídio (YANG, DONG, *et al.*, 2019). Além disso, o heneicosano e outros alcanos de cadeia longa mostraram atratividade para os insetos *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) (Coleoptera: Bruchidae), importante praga de sementes de *Lathyrus sativus* L. (ADHIKARY, MUKHERJEE, *et al.*, 2015).

Alguns compostos terpênicos como Limoneno, (E)- β -ocimeno, Linalol, (E)- β -cariofileno, β -mirceno, (E)- β -cariofileno e Germaceno D continuaram sendo emitidos mesmo após a infestação com *A. aepim*. Além destes, outros terpenos foram emitidos apenas pós herbivoria como (Z)- β -ocimeno, β -pineno, humuleno. Esses COVs são comumente descritos na literatura realizando várias funções nas interações tritróficas, sendo liberados por folhas, flores e frutos para a atmosfera e das raízes no solo (DUDAREVA, PICHERSKY, 2008), como em cultivares bananeiras (BERHAL, CHADI, *et al.*, 2017), algumas cultivares de algodão (LOUGHRIN, MANUKIAN, *et al.*, 1995), em plantas de tomate alguns terpenos como (E)- β -ocimeno, linalol, β -pineno, β -mirceno, (E)- β -cariofileno foram emitidos por plantas sob infestação com *Tuta absoluta*, mostrando nos resultados dos bioensaios que as mariposas preferem ovipositar nas plantas saudáveis e não nas danificadas provavelmente por causa da emissão destes compostos (ANASTASAKI, DRIZOU, *et al.*, 2018, PROFFIT, BIRGERSSON, *et al.*, 2011).

Esses compostos podem agir como atraente ou repelente como no caso do linalol esse monoterpene pode causar vários efeitos no comportamento dos insetos, atuando como um atraente ou repelente, existe na natureza como dois possíveis estereoisômeros, (R)-(-)-linalol e (S)-(+)-linalol. No estudo de HUFF, JASON PITTS (2019) foram usadas células para identificar a ligação do linalol e compostos estruturalmente relacionados como ligantes do receptor de odor do mosquito vetor da malária, *Anopheles gambiae*. Observou-se que o isômero

(R)-(-)-linalol ativa o receptor expresso no mosquito, e a mistura dos estereoisômeros (R) e (S) ativa o receptor com maior potência, o que implica na seletividade enantiomérica. A conservação desse receptor através das linhagens de *Anopheline*, sugere que esse composto pode servir como atração para mosquitos que buscam néctar.

Em flores de cinco tipos de melão foram observadas correlações positivas e negativas entre as quantidades dos compostos, limoneno, benzaldeído (atrativos para abelha) e α -pineno (repelente para abelhas), sugerido que as diferenças na composição dos COVs florais do melão e a proporção desses compostos desempenham papel importante na polinização e produção de frutos (PASTÓRIO, HOSHINO, *et al.*, 2019). Os terpenos também são emitidos por plantas de milho em resposta à alimentação e oviposição de insetos herbívoros. Nos estudos realizados por (TAMIRU, BRUCE, *et al.*, 2017), foi observado que cultivares de milho aumentam fortemente sua capacidade de produzir o (E)- β -cariofileno em plantas induzidas por elicitores de oviposição da *Chilo partellus*, esse composto é um importante como sinal de defesa.

Os voláteis emitidos pelas plantas de *Cymbopogon citratus* (capim-limão) e *Tagetes minuta* (calêndula mexicana) são os responsáveis por repelir as fêmeas de *Megalurothrips sjostedti* (tripes de flores de feijão), entre os principais compostos voláteis encontrados nessas duas cultivares estão o citral e uma mistura de 4 componentes composta por di-hidrotagetona, acetato de (Z)-3-hexenil, limoneno e (Z)- β -ocimeno. Essas plantas podem ser usadas em forma de consórcio em um sistema de cultivo de feijão-caupi, podendo assim reduzir a infestação por *M. sjostedti* (DIABATE, MARTIN, *et al.*, 2008). As plantas de mandioca sob herbivoria de *Tetranychus urticae* apresentaram diferença significativa na emissão dos COVs, (Z)- β -Ocimeno, N-(2-metilpropano) hidroxilamina, N-(2-metil butadieno)hidroxilamina, Indol, antranilato de metila e (E)-nerolidol, quando comparadas com as plantas sadias. Esses compostos podem estar envolvidos na atração do ácaro predador *Neoseiulus idaeus*, pois este preferiu significativamente as plantas infestadas com *T. urticae* em comparação às plantas sadias (BEZERRA, 2017).

A herbivoria de insetos pode aumentar a emissão de terpenos (BUSTOS-SEGURA, 2018) e de vários outros compostos que são emitidos por plantas. Entretanto, em nossos resultados, houve a diminuição na emissão dos terpenos liberados em todas as cultivares de mandioca no tratamento controle, no momento que as plantas foram submetidas à herbivoria, como podemos observar na Figura 24, essas diminuições mostraram diferenças significativas para alguns compostos. As cultivares BRS Mulatinha (38,75 ng/planta) e Equador 72 (35,46 ng/planta) no tratamento controle emitiam altas quantidades do terpeno (E)- β -ocimeno, porém

após a infestação ocorreu uma diminuição de aproximadamente três vezes em sua emissão para BRS Mulatinha (13,34 ng/planta) e, aproximadamente, uma vez na Equador 72 (23,43 ng/planta). O longiciclono composto emitido pelas cultivares Equador 72 e Vassoura Preta no tratamento controle, não foi emitido pelas no tratamento infestado. Também podemos observar na Figura 24, que os compostos Limoneno (12,05 ng/planta), Germaceno D (0,57 ng/planta), (E)- β -cariofileno (5,18 ng/planta) e Linalol (22,37 ng/planta), que foram emitidos por plantas da cultivar IAC 90 no tratamento controle, após a infestação os compostos Limoneno, Germaceno D e (E)- β -cariofileno não foram emitidos enquanto o Linalol (15,61 ng/planta) apresentou uma diminuição em sua emissão.

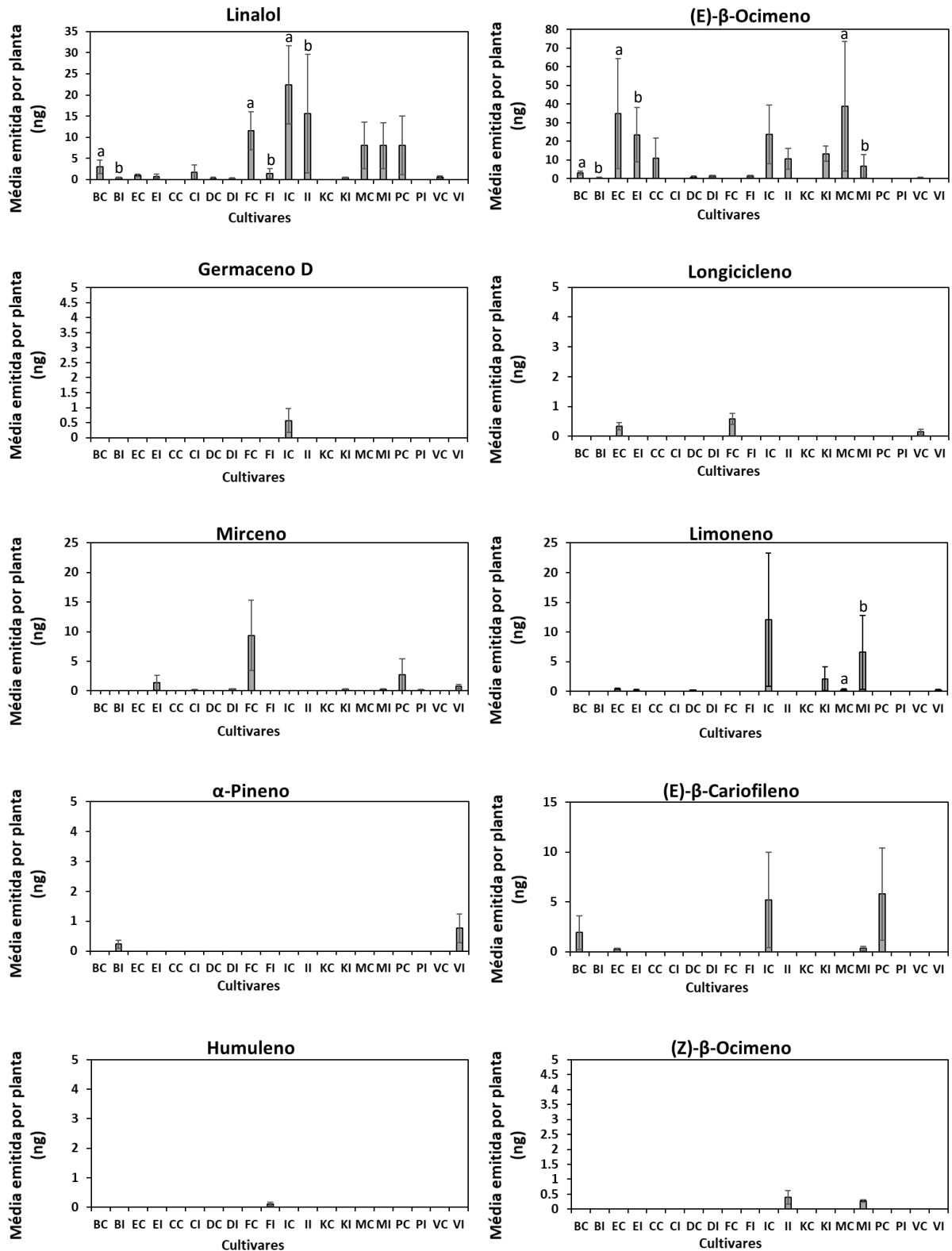
O ataque de insetos herbívoros induz as plantas a mobilizar suas defesas químicas, incluindo a liberação de voláteis que atraem inimigos naturais desses insetos. Isso, geralmente, envolve a via do Ácido Jasmônico (AJ) e do Ácido Salicílico (AS)(ZHANG, LI, *et al.*, 2013) a infestação de plantas por mosca-branca, que é um inseto sugador e se alimenta do floema, pode ocasionar uma regulação na expressão de genes de defesa dessas plantas, resultando em um perfil alterado de metabolitos, isso acaba acontecendo porque esses insetos ativam especificamente a via de sinalização do AS, suprimindo assim as defesas baseadas na via do AJ e melhorando a adequação da planta hospedeira (WANG, Xiao Wei, LI, *et al.*, 2017, ZHANG, Peng Jun, LI, *et al.*, 2013).

Plantas de feijão (*Phaseolus lunatus*) infestadas com mosca-branca (*Bemisia tabaci*) e com as defesas indiretas induzidas por ácaros (*Tetranychus urticae*) apresentaram uma redução nas emissões do (E)- β -ocimeno. Nesse estudo foram feitas análises de fitohormônios e expressão gênica, as quais revelaram que a infestação por *B. tabaci*, bem como a aplicação de Ácido Salicílico (SA), inibiram a produção de Ácido Jasmônico (AJ), induzido por ácaros e reduziram a expressão de dois genes regulados pela via do AJ, um dos quais codifica para *P. lunatus* a enzima β -ocimeno-sintase que catalisa a síntese de (E)- β -ocimeno (ZHANG, ZHENG, *et al.*, 2009). Os estudos realizados por (LI, WELDEGERGIS, *et al.*, 2014), mostram que as plantas *Nicotiana benthamiana* e *Arabidopsis* foram usadas como modelo para mostrar que os begomovírus suprimem as defesas relacionadas aos terpenos de plantas para alcançar o mutualismo indireto do vetor do vírus (mosca-branca). A proteína β C1, foi identificada como o principal fator genético viral para a supressão da síntese dos terpenos, essa proteína interage com um fator de transcrição (MYC2) presente nas plantas. Esse fator é um componente chave na via do AJ, os dímeros MYC2 regulam diretamente os genes das enzimas terpenos sintase (TPS). Assim a proteína β C1 interfere na dimerização do MYC2, resultando na diminuição dos

níveis de transcrição das TPS e, conseqüentemente, na redução da síntese de terpenos. Em plantas de mutantes de tomate transgênico, com a via do AJ ativa e mutantes de tomate transgênico com a via do AJ prejudicada, foram submetidas à infestação com a mosca-branca *B. tabaci*, os mutantes de tomate com a via AJ ativa retardaram o desenvolvimento das ninfas de *B. tabaci*, enquanto os mutantes com a via do AJ prejudicada aceleraram o desenvolvimento das ninfas. Esses efeitos das defesas AJ no desenvolvimento das ninfas também foram documentados em condições de semi-campo. Alterações na expressão dos genes de defesa e na produção de fitohormônios indicaram que os adultos *B. tabaci* podem suprimir defesas dependentes de AJ após infestação. A supressão da AJ foi correlacionada com a indução de ácido salicílico (SA) em folhas infestadas em laboratório e em condições de semi-campo. Se a sinalização AS foi bloqueada, acontece um aumento de AJ aumenta nas folhas infestadas e o desenvolvimento da ninfa de *B. tabaci* é retardado (ZHANG, HE, *et al.*, 2018).

Nossos resultados corroboram com estudos citados anteriormente, mostrando que quando as plantas de mandioca são submetidas à herbivoria por mosca-branca, estas apresentam uma diminuição significativa na emissão dos terpenos, sugerindo que após o ataque do inseto ocorre a inativação da via do ácido jasmônico AJ e, como consequência disso, a diminuição da emissão dos terpenos. Em compensação, as plantas infestadas ativam a via do ácido salicílico AS, pois como podemos observar nos voláteis das plantas infestadas (Tabela 3), encontramos compostos provenientes da via do ácido salicílico, como salicilato de metila (composto que foi emitido apenas na cultivar BRS Formosa no tratamento controle e teve sua emissão diminuída após a infestação) e passou a ser emitido após a infestação pelas cultivares Equador 72, Vassoura preta, BRS Poti Branca, IAC 90, BRS Mulatinha, além do composto salicilato de octila, que não foi encontrado nas plantas controle. No entanto, precisamos realizar um estudo minucioso, utilizando técnicas de expressão gênica, biologia molecular para que possamos ter uma melhor compreensão nas interações entre a mosca-branca *A. aepim*, com as plantas de mandioca. Pois o entendimento dessas interações entre mosca-branca e plantas hospedeiras promoverá o desenvolvimento de novas estratégias para o controle desse inseto-praga.

Figura 24 Diminuição da liberação de terpenos nas dez cultivares de mandioca infestadas com *A. aepim*.



As cultivares estão na seguinte ordem: BRS Jari (B), BRS Jari Infestada (BI), Equador 72(E), Equador 72 Infestada (EI), Corrente (C), Corrente Infestada(CI), BRS Dourada (D), BRS Dourada Infestada (DI), BRS Formosa (F), BRS Formosa Infestada (FI), Vassoura Preta(V), Vassoura Preta Infestada (VI), BRS Kiriris (K), BRS Kiriris Infestada (KI), BRS Poti Branca (P), BRS Poti Branca (PI), BRS Mulatinha (M), BRS Mulatinha Infestada (MI), IAC 90 (I) IAC 90 infestada (II). Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem estatisticamente a 5% de probabilidade (teste t de Student para comparações de duas médias e Scott-Knott para três ou mais).

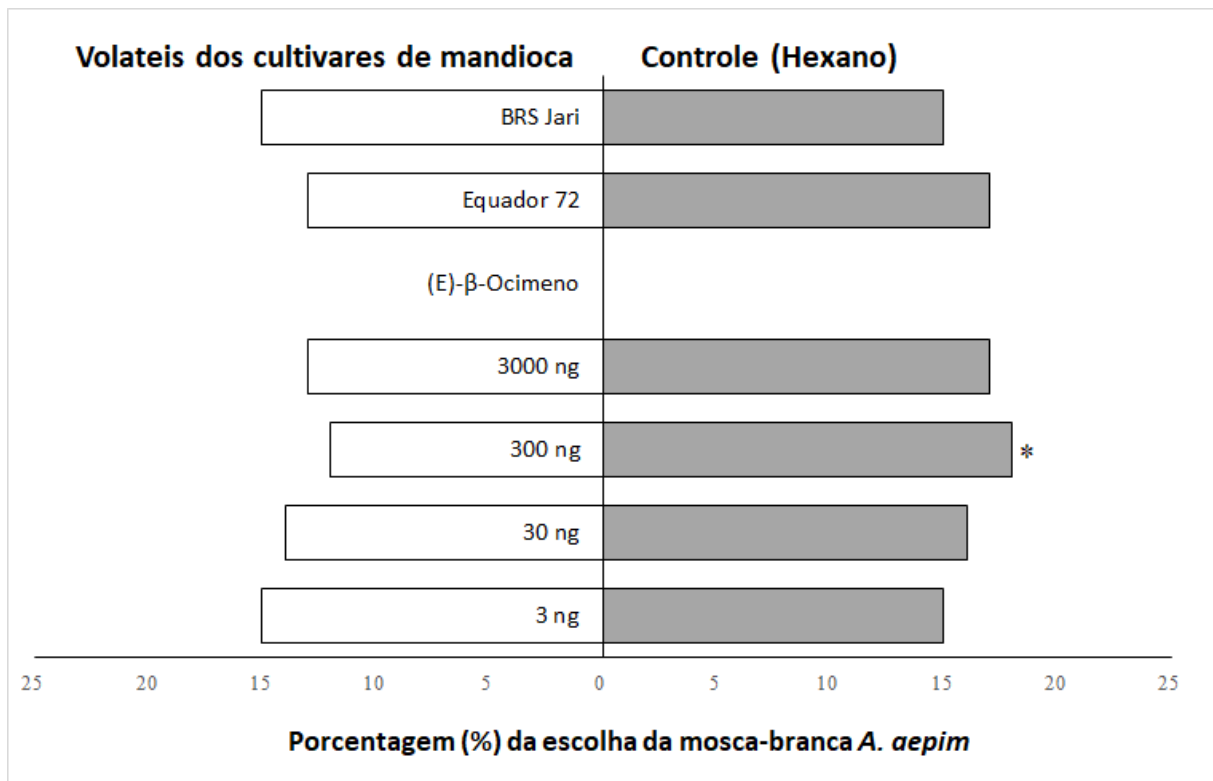
Em plantas de mutantes de tomate transgênico, com a via do AJ ativa e mutantes de tomate transgênico com a via do AJ inativas, foram submetidas à infestação com a mosca-branca *B. tabaci*, os mutantes de tomate com a via AJ ativa retardaram o desenvolvimento das ninfas de *B. tabaci*, enquanto os mutantes com a via do AJ prejudicada aceleraram o desenvolvimento das ninfas. Esses efeitos das defesas AJ no desenvolvimento das ninfas também foram documentados em condições de semi-campo. Alterações na expressão dos genes de defesa e na produção de fitohormônios indicaram que os adultos *B. tabaci* podem suprimir defesas dependentes de AJ após infestação. A supressão da AJ foi correlacionada com a indução de ácido salicílico (SA) em folhas infestadas em laboratório e em condições de semi-campo. Se a sinalização AS foi bloqueada, acontece um aumento de AJ aumenta nas folhas infestadas e o desenvolvimento da ninfa de *B. tabaci* é retardado (ZHANG, HE, *et al.*, 2018).

Nossos resultados corroboram com estudos citados anteriormente, mostrando que quando as plantas de mandioca são submetidas à herbivoria por mosca-branca, estas apresentam uma diminuição significativa na emissão dos terpenos, sugerindo que após o ataque do inseto ocorre a inativação da via do ácido jasmônico AJ e, como consequência disso, a diminuição da emissão dos terpenos. Em compensação, as plantas infestadas ativam a via do ácido salicílico AS, pois como podemos observar nos voláteis das plantas infestadas (Tabela 3), encontramos compostos provenientes da via do ácido salicílico, como salicilato de metila e salicilato de octila, os quais não são encontrados nas plantas controle. No entanto, precisamos realizar um estudo mais minucioso, utilizando técnicas de expressão gênica, biologia molecular para que possamos ter uma melhor compreensão nas interações da mosca-branca *A. aepim*, com as plantas de mandioca. Pois o entendimento dessas interações entre mosca-branca e plantas hospedeiras promoverá o desenvolvimento de novas estratégias para o controle desse inseto praga.

5.4 Bioensaios comportamentais e Eletroantenográficos dos COVs das cultivares de mandioca frente à mosca-branca *Aleurothrixus aepim*.

Os resultados dos estudos eletroantenográficos e comportamentais da mosca-branca *A. aepim* frente aos extratos das cultivares de mandioca apresentaram algumas respostas positivas. Nos bioensaios de olfatometria foram avaliados os extratos das cultivares Equador 72 (Resistente) e BRS Jari (Susceptível) e o padrão sintético (E)- β -Ocimeno, visto que esse composto tinha sido descrito como possível marcador de repelência e encontrado em altas quantidades na cultivar resistente com descrito por (RIBEIRO, 2015), então foram testadas as concentrações 3, 30, 300 e 3000 ng/ μ L para avaliar a preferência ou não preferência das mosca-branca *A. aepim* (Figura 25).

Figura 25 Porcentagem da repelência olfativa da Mosca-branca *A. aepim* aos COVs dos cultivares de mandioca e do padrão sintético (E)- β -Ocimeno, em olfatômetro em “Y”.



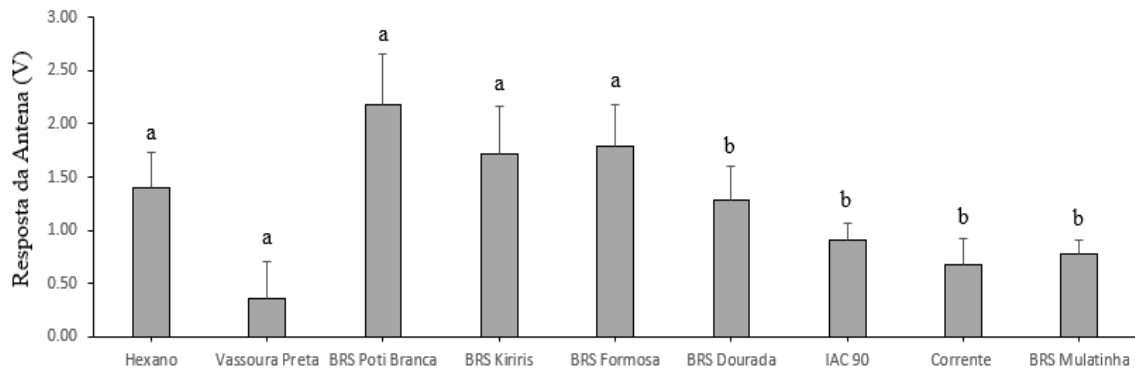
* próximo às barras indica diferença significativa nas respostas comportamentais de *A. aepim* aos tratamentos pelo teste do qui-quadrado ($p \leq 0,05$).

Os resultados obtidos nos bioensaios comportamentais mostraram que a mosca-branca não mostrou preferência entre a fonte do odor controle (Hexano) em relação aos COVs das cultivares Equador 72 ($\chi^2 = 1,96$; $p = 0,100$) e da cultivar BRS Jari ($\chi^2 = 0$; $p = 0,1615$). Entretanto, mostrou preferência entre a fonte do odor controle (Hexano) em relação a concentração de 300 ng ($\chi^2 = 4$; $p = 0,0455$). Todavia, as outras concentrações de 3000 ng ($\chi^2 = 1,96$; $p = 0,1615$), 30 ng ($\chi^2 = 0,36$; $p = 0,5495$) e 3 ng ($\chi^2 = 0$; $p = 0,100$) não apresentaram diferença significativa em relação ao controle (Hexano).

No trabalho de RIBEIRO (2015), o padrão (E)- β -ocimeno foi testado em bioensaios comportamentais frente à mosca-branca, e os resultados demonstraram um comportamento de repelência por parte da mosca-branca em relação a este composto. No entanto, nesse trabalho foi utilizado um bioensaio sem chance de escolha, o que pode não revelar realmente a atividade biológica e a relevância ecológica dos compostos que estão em maiores concentrações e outros que são produzidos exclusivamente pelo cultivar resistente. Estudos realizados em nosso grupo (dados em processo de publicação), mostraram que os COVs do cultivar equador 72 (resistente) coletados num período de 60 horas, apontaram diferença significativa quando comparados ao controle (Hexano), frente a mosca-branca *A. aepim* utilizando o olfatômetro em Y. Por sua vez, em nosso trabalho, foi realizado um período de coleta de 48 horas e os COVs dessa cultivar não apresentaram diferenças significativas na resposta do inseto quando comparados com o controle (Hexano).

Os testes eletroantegráficos realizados, revelaram que os valores das respostas em volts (V), obtidas das antenas das moscas-brancas *A. aepim*, quando submetidas aos puffs dos extratos das cultivares BRS Dourada, IAC 90, Corrente e BRS Mulatinha, foram significativamente diferentes ($p < 0,05$) do restante das respostas dos outros cultivares e do controle (Hexano) (Figura 26). As respostas estatisticamente significativas apresentadas pelas antenas da mosca-branca, mostram que a mistura dos voláteis emitidos por esses cultivares são percebidos pelos insetos, entretanto esses testes não nos mostram qual o comportamento que os insetos exibiram, sendo necessário, a realização de bioensaios olfatométricos para avaliar as mudanças comportamentais desses insetos frente aos extratos e para que assim possamos descobrir se são atraentes ou repelentes.

Figura 26 Respostas eletroantenográficas das antenas da mosca-branca *A. aepim* frente aos COVs das cultivares de mandioca.



Cultivares com médias não ligadas por mesma letra diferem pelo teste de Scott & Knott em nível de 5% de probabilidade de erro.

O blend de voláteis liberado pelas plantas pode ser bastante variável e específico para uma determinada interação planta-herbívoro, estágio de desenvolvimento, idade da folha, tecido da planta, espécie de planta (DICKE, VAN LOON, 2000) e, inclusive, entre diferentes cultivares dentro da mesma espécie (DA COSTA, PIRES, *et al.*, 2011b). As substâncias voláteis emitidas pelas plantas permitem a comunicação entre indivíduos de espécies diferentes e, às vezes, de táxons diferentes como entre plantas e insetos. A interação inseto-planta depende da presença, no tempo certo e na quantidade apropriada, de determinados compostos voláteis, responsáveis por aromas característicos (TEIXEIRA, 2016). Entre os compostos encontrados nos voláteis das plantas das cultivares de mandioca, podemos destacar o (E)- β -ocimeno que aparece como o composto encontrado em maiores quantidades nas cultivares cultivar Equador 72 em nosso estudo, fato que corroboram como descrito por (RIBEIRO, 2015), além de outros compostos com atividade biológica descrita como (E)- β -cariofileno, limoneno, linalol e octanal. O β -ocimeno é um volátil comumente liberado por folhas e flores de muitas espécies de plantas. Este monoterpene acíclico pode desempenhar várias funções biológicas nas plantas, afetando potencialmente visitantes florais, e também mediando respostas defensivas à herbivoria. Além disso, emissões de β -ocimeno são induzidas em tecidos vegetais após herbivoria em muitas espécies, que têm funções relevantes no estabelecimento de interações tritróficas (FARRÉ-ARMENGOL, FILELLA, *et al.*, 2017).

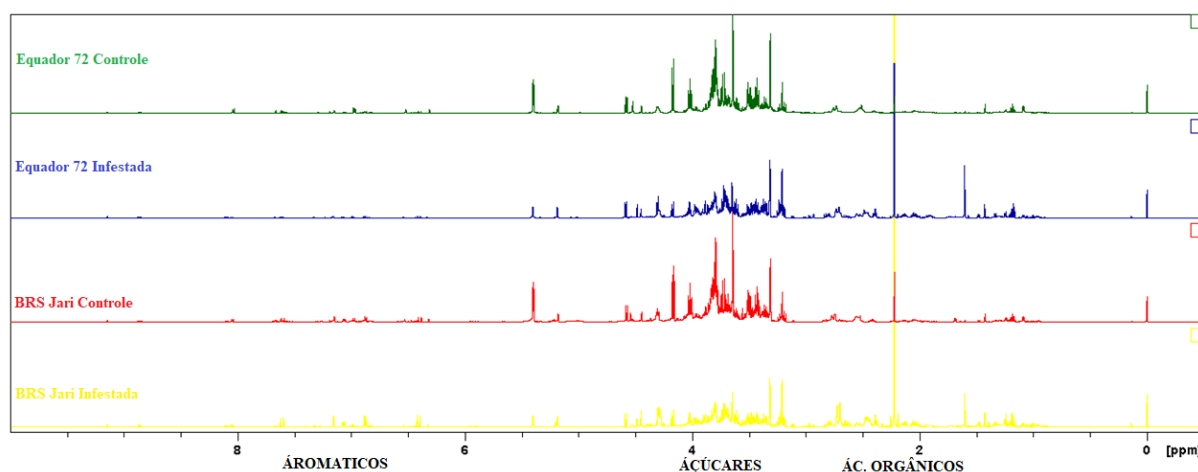
No trabalho realizado por TU, QIN (2017), onde experimentos com olfatômetro em Y foram realizados para investigar os efeitos repelentes de diferentes variedades de aipo frente à mosca-branca, *Bemisia tabaci* biotipo Q, os testes mostraram que as variedades de aipo que apresentaram repelência tinham em sua mistura de voláteis a presença de Limoneno, β -mirceno e (E)- β -ocimeno como principais componentes ativos. Os efeitos repelentes podem estar ligados a quantidade de cada composto presente nos extratos testados. O β -ocimeno influenciou negativamente o comportamento alimentar dos pulgões *Myzus persicae*, encurtando o período total de alimentação e a ingestão de floema, os pulgões preferiram plantas de couve chinesas saudáveis em comparação com plantas tratadas com β -ocimeno. Além disso, os parasitóides *Aphidius gifuensis* foram atraídos para o braço do olfatômetro em Y, que continha as plantas de repolho chinês tratadas com β -ocimeno em comparação aos COVs de plantas saudáveis (KANG, LIU, *et al.*, 2018). De acordo com nossas observações, as moscas-brancas foram repelidas pelos voláteis emitidos pelo padrão (E)- β -ocimeno apenas na concentração de 300 ng, quando testados em olfatômetros em tubo Y. Em nosso trabalho, os voláteis das plantas da cultivar Equador 72 não apresentaram atividade repelente quando foram expostos às moscas-brancas, ao contrário dos resultados encontrados por RIBEIRO (2015). Todavia, cabe salientar que isso pode estar ligado ao tempo de coleta que foi menor em nosso trabalho resultando numa menor quantidade dos compostos no extrato, o que pode influenciar significativamente nas respostas das moscas-brancas testadas, como nos trabalhos descritos por BRUCE, PICKETT (2011), nos quais os insetos foram expostos apenas aos voláteis das plantas e, em conjunto, revelaram que respostas comportamentais mais fortes são obtidas com misturas ou combinações adequadas de voláteis do que com compostos únicos. Possivelmente, os mecanismos de resistência que tornam esta cultivar resistente à mosca-branca estão relacionados a um conjunto de recursos de defesa vegetal desta cultivar, utilizando para isso a mistura de voláteis em quantidades específicas contendo vários compostos incluindo entre eles o (E)- β -ocimeno, metabólitos solúveis, defesas físicas, como tricomas e ceras.

5.5 Análises metabolômica das plantas de mandioca

5.5.1 Perfil metabolômico dos cultivares de mandioca

O espectro de RMN-¹H dos extratos de plantas geralmente é dividido em 4 regiões características de deslocamentos químicos: aminoácidos (0.5 – 2 ppm), ácidos orgânicos (2 – 3 ppm), açúcares (3 – 5 ppm) e compostos aromáticos (6 – 8 ppm). A Figura 26 mostra a comparação entre os espectros de RMN-¹H dos cultivares Equador 72 Controle (Verde), Equador 72 Infestada (Azul), Cultivar BRS Jari Controle (vermelho) e do Cultivar BRS Jari Infestado (Amarelo). A análise desses espectros utilizando somente o experimento de hidrogênio unidimensional é muito complexa devido à sobreposição de sinais de dezenas de metabólitos, sendo difícil a identificação dos mesmos. Para a identificação dos metabólitos discriminantes entre as plantas dos dois cultivares de mandioca estudados, foram executadas análises de dados de ressonância magnética nuclear em duas dimensões.

Figura 27 Comparação dos espectros de RMN-¹H de extrato de folhas de mandioca do cultivar Equador 72 (Controle e Infestada) e cultivar BRS Jari (Controle e Infestada) com as regiões características de algumas classes de metabólitos.



A identificação dos metabólitos foi realizada pela análise dos dados de RMN, com base na inspeção direta dos espectros comparando-se com dados da literatura (HMDB, 2020), software Chenomix[®], para confirmação dos metabólitos foi utilizado uma combinação dos experimentos J-resolvido, COSY (acoplamento homonuclear ¹H - ¹H), HSQC (acoplamento heteronuclear ¹H - ¹³C J¹) e HMBC (acoplamento heteronuclear ¹H - ¹³C J^{2,3}) que são

importantes para a confirmação dos metabólitos. Foram identificados um total de dezesseis metabólitos solúveis nos dois cultivares de mandioca nos diferentes tratamentos, como podemos observar na Tabela 6.

Tabela 6 Metabólitos solúveis encontrados nas cultivares de mandioca Equador 72 e BRS Jari.

| Nº | Metabólitos | Deslocamento Químico (ppm) - J (Hz) – RMN-¹H |
|-----------|------------------------------------|---|
| 1 | Kaempferol-3-O-rutinosídico | 8,05 (H-6', H-2, d, J=9 Hz), 7,00 (H-5', H-3', d, J=9 Hz), 6,54 (H-6, d, J=2 Hz), 6,33 (H-8, d, J=2 Hz), 5,11 (d, J=7,00 Hz), 4,52 (d, J=2Hz), 3,80 (m), 3,63 (m), 3,54 (m), 3,43 (m), 3,31 (m), 1,09 (d, J=6 Hz) |
| 2 | Rutina | 8,05 (H-6', H-2, d, J=9 Hz), 7,00 (H-5', H-3', d, J=9 Hz), 6,54 (H-6, d, J=2 Hz), 6,33 (H-8, d, J=2 Hz), 5,11 (d, J=7,00 Hz), 4,52 (d, J=2Hz), 3,80 (m), 3,63 (m), 3,54 (m), 3,43 (m), 3,31 (m), 1,09 (d, J=6 Hz) |
| 3 | Treonina | 1,33(H-4, d, J=7Hz), 3,60 (H-2, q) e 4,26 (H-3, m) |
| 4 | Ácido Lático | 1,32 (H-3, d, J=7 Hz) e 4,07 (H-2, q, J=7 Hz) |
| 5 | Linamarina | 1,60 (Metilas, s) |
| 6 | Acetona | 2,22 (H-2, s) |
| 7 | Ácido Clorogênico | 7,59 (H-7', d, J=16 Hz), 6,39 (H-8',d, J=16 Hz), 7,14 (H-2', d, J=2 Hz), 7,05 (H-6',dd), 5,33 (H-5), 2,03 (H-6), 3,80 (H-4) e 4,23 (H-3) |
| 8 | Trigonelina | 9,14(H-1, s), 8,86 (H-3, H-5, m), 8,07(H-4, m) e 4,45(H-7, s) |
| 9 | Alanina | 1,48 (H-3,d, J=7,4 Hz), 3.8(H-2, q, J=7,4 Hz) |

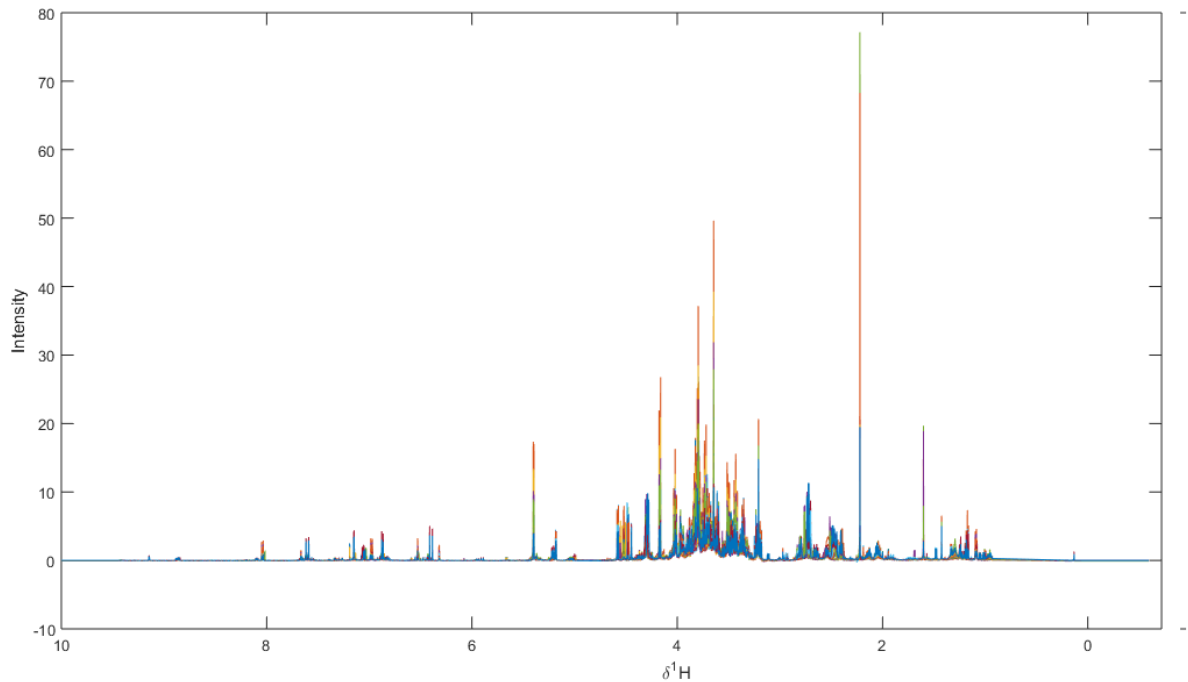
| | |
|---------------------------------------|--|
| 10 Etanol | 1,26 (H-2, t, J = 7,0 Hz), 3,68 (H-1, q, J = 7.0 Hz) |
| 11 Sacarose | 5,40 (H-1, d, J= 4 Hz) e 4,17 (H-3,d, J=7,7 Hz) |
| 12 Ácido Chiquímico | 4,46 (H-3, t, J=4,10 Hz) |
| 13 Ácido gálico | 7,03 (H-3, H-5, s) |
| 14 α-Glicose | 5.18(H-1, d) |
| 15 Fumarato | 6,61(s) |
| 16 Ácido p-cumárico | 7,43 (H-2,H-6 d, J= 8,4), 7,49 (2H, d), 6,79 (H-3,H-5, d, J= 8,8) 6,79 (2H, d),6,27 (H-7, d,J = 16) 6,29 (1H, d), 7,57 (H-8, d,J = 16), 7,52 (1H, d) |

(s) – simpleto; (d) – dupleto; (dd)-dupleto de dupleto;(m) – multipleto; (q) – quarteto.

5.5.2 Análises multivariada das cultivares da mandioca Equador 72 e BRS Jari

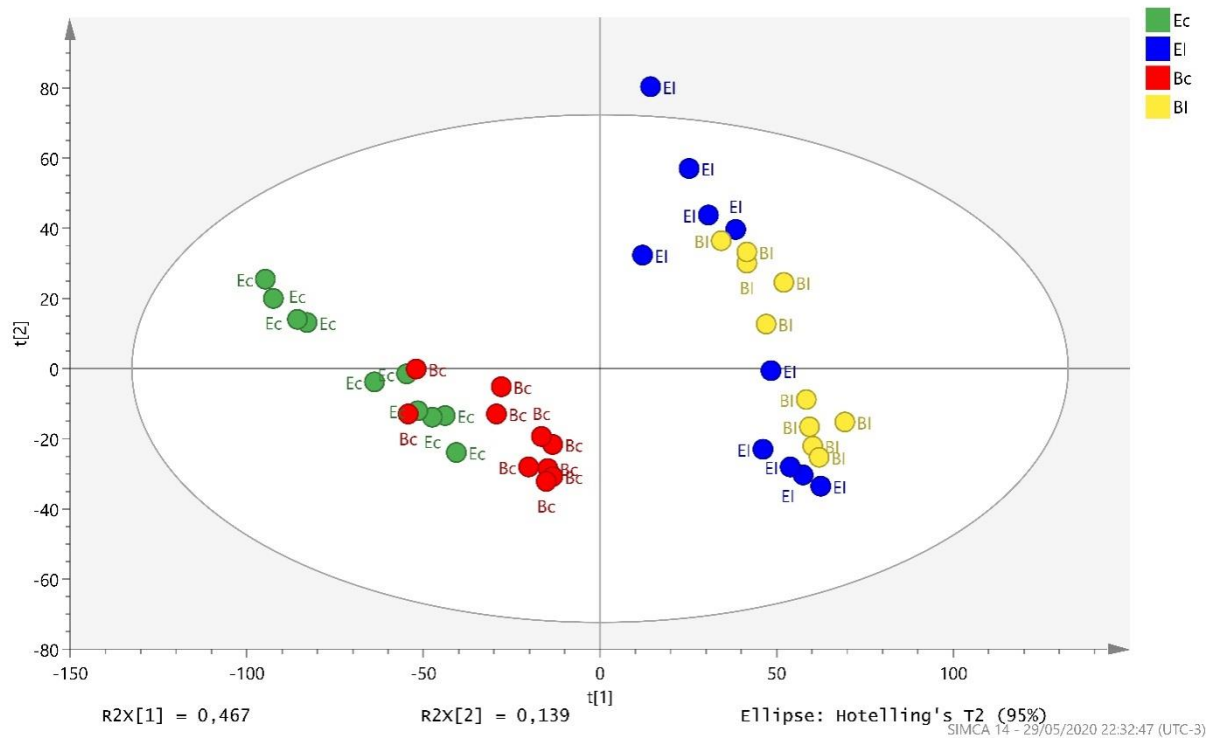
A análise de componentes principais (PCA) foi realizada para identificação de outliers e tendências de agrupamentos entre as cultivares estudadas. Um total de 40 espectros de RMN sendo 10 da cultivar BRS Jari controle (susceptível), 10 da cultivar BRS Jari infestada (susceptível), 10 da Equador 72 controle (resistente) e 10 da Equador 72 controle (resistente) foram utilizados para a formação dos dados para PCA. A figura 28 apresenta todos os 40 espectros sobrepostos alinhados e escalonados pelo método de centralização da média, totalizando 886.572 variáveis.

Figura 28 Dados processados para análise multivariada das cultivares de mandioca estudadas 40 espectros e 886.572 variáveis.



A análise de componentes principais explicou 81,9% da variância total dos dados através das componentes 1 e 2. Os dados estatísticos dos valores de $R = 0,819$, coeficiente que indica a porcentagem da variabilidade dos dados somando-se as duas componentes principais, e $Q = 0,719$, o que indica o poder preditivo do modelo estatístico ($Q > 0.5$ indica um bom poder preditivo). Os escores da PCA (Figura 29) mostraram-se randomizados indicando que houve uma boa separação entre os tratamentos estudados, onde as cultivares sem infestação formaram um grupo e as cultivares do tratamento infestado formaram outro grupo.

Figura 29 Escores das PCA obtidos por espectros de RMN-¹H comparando as amostras BRS Jari e Equador 72.



A OPLS-DA é um método estatístico supervisionado que tem como objetivo a identificação dos biomarcadores relacionados ao estudo. Neste trabalho, foram realizados modelos de OPLS-DA pareando as duas cultivares estudadas comparando os diferentes tratamentos. A validação do método foi realizada por meio da validação cruzada junto com a análise de variância (CV- ANOVA, $p < 0.05$), e os metabólitos discriminantes foram selecionados com valor de correlação Pearson ($r > |0,576|$). A correlação de Pearson é uma medida da variância compartilhada entre duas variáveis, onde o aumento ou decréscimo de uma unidade da variável X gera o mesmo impacto em Y (FILHO, JÚNIOR, 2009). A Tabela 6 mostra todos os metabólitos inclusive os discriminantes entre as cultivares Equador 72 e BRS Jari que foram identificados através dos S-lines gerado no programa SIMCA-P, no qual os picos com alta correlação possuem cores vermelhas, enquanto os picos com baixa correlação possuem cores azuis. Como pode ser visualizado na Tabela 6, o modelo OPLS-DA (Figura 30) foi validado ($p < 0,05$) e foi possível identificar diferenças entre as cultivares de mandioca nos diferentes tratamentos. Houve uma maior concentração dos metabólitos Rutina, Kaempferol-3-O-rutinosídico e os açúcares glicose e sacarose na cultivar Equador 72 (resistente) no tratamento controle, e, elevados níveis de linamarina e ácido clorogênico na cultivar BRS Jari (susceptível) Figura (30).

Figura 30 Escores da OPLS-DA das cultivares de mandioca BRS Jari Controle e Equador 72 Controle. (A) S-line mostrando os metabólitos discriminantes, sinais com fase positiva referem-se a cultivar BRS Jari e sinais com fase negativa referem-se a cultivar Equador 72 (B).

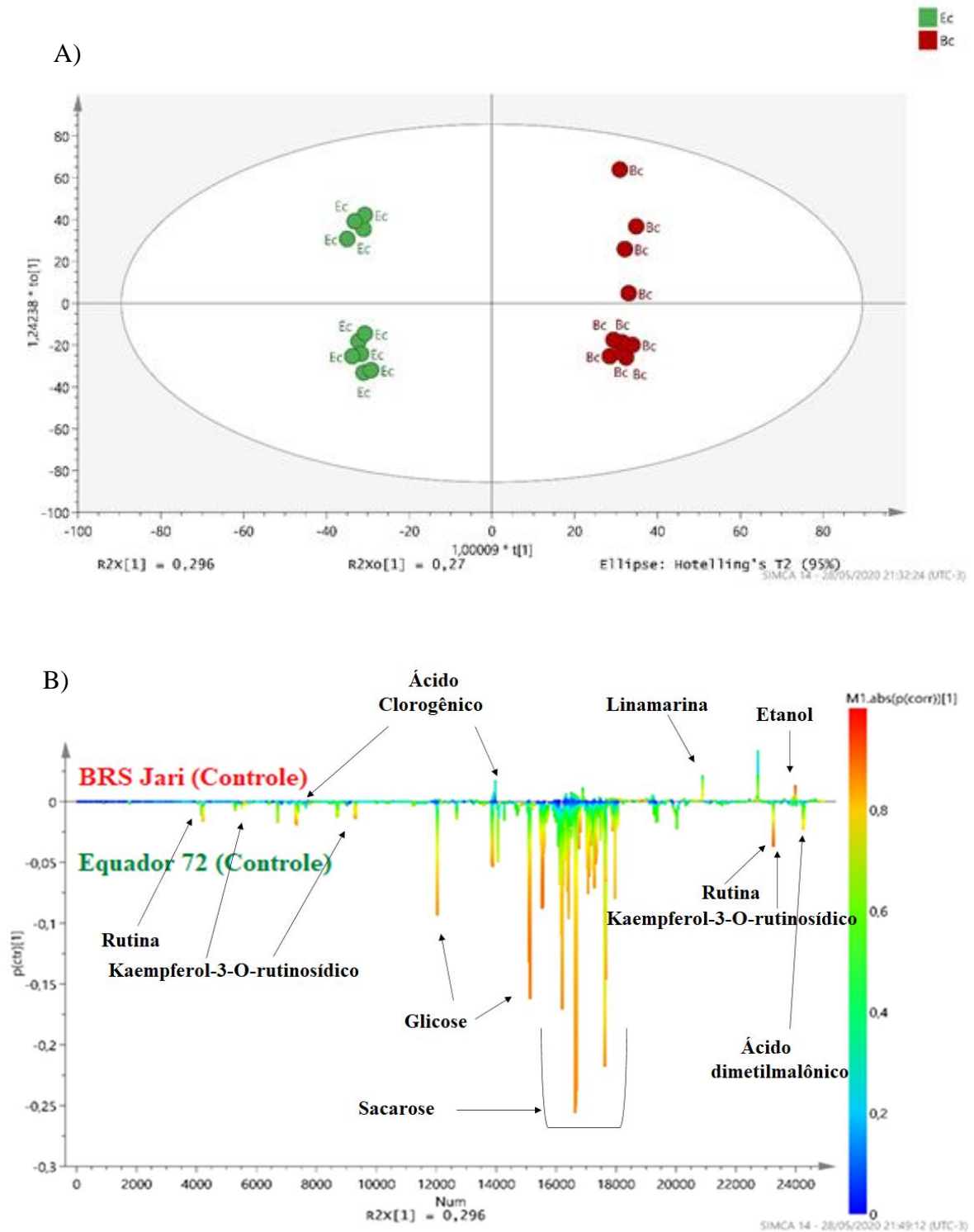
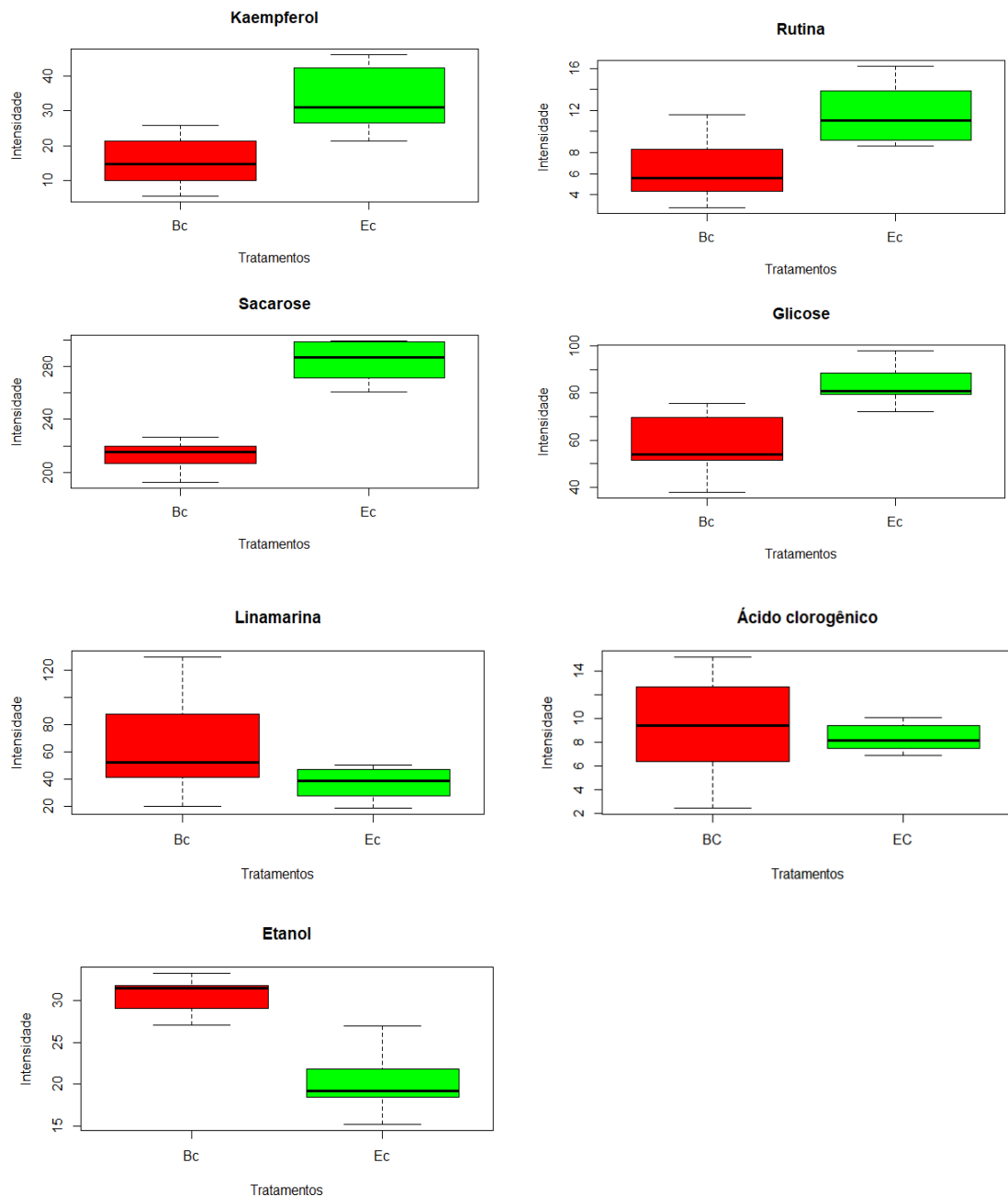


Figura 31 Boxplot das concentrações relativas dos metabólitos discriminantes presentes nas cultivares de mandioca Equador 72 Controle (resistente) e BRS Jari Controle (susceptível). (Teste t , $p < 0,05$).



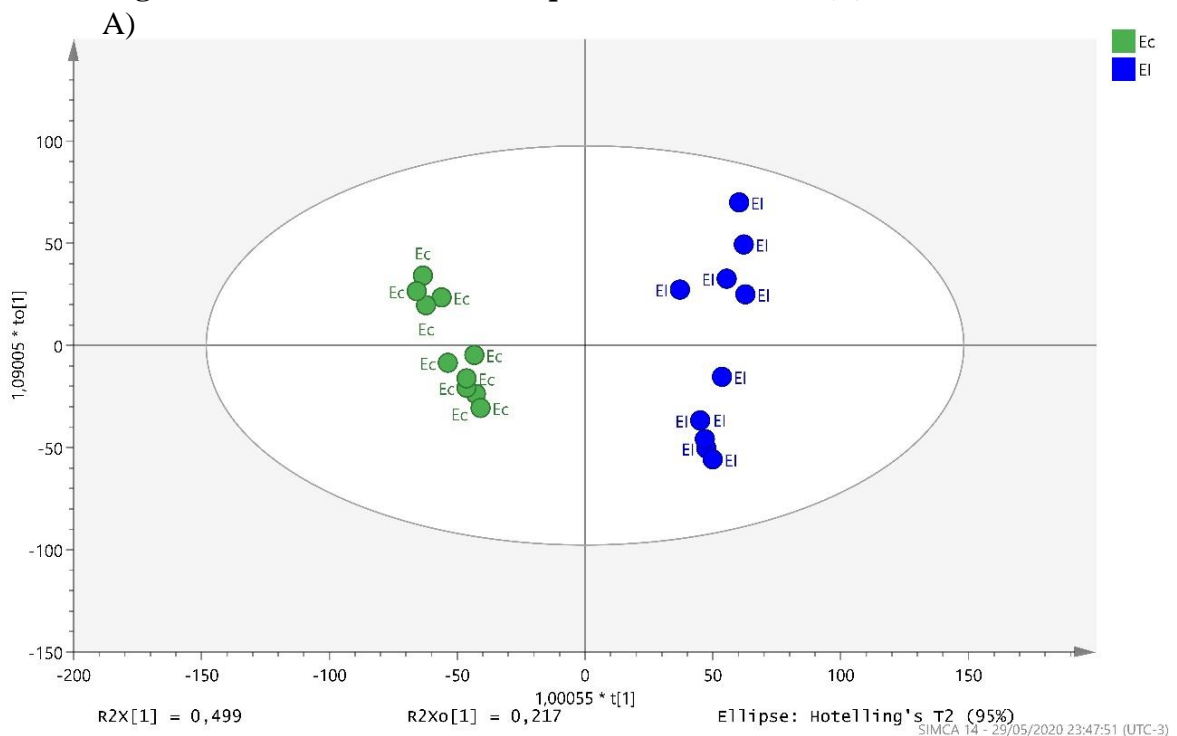
Os boxplots com BC) BRS Jari controle (Vermelho) e EC) Equador 72 Controle (Verde).

A Figura 31 apresenta o comportamento dos níveis dos metabólitos discriminantes nas folhas da cultivar resistentes e susceptíveis de mandioca por meio do gráfico boxplot, que foi construído através das integrais das áreas dos sinais de RMN processados no software Matlab. Estes metabólitos apresentaram variância significativa (ANOVA) com valor de $p < 0,05$. Ao

analisar os gráficos boxplots foi observado uma tendência de aumento nos níveis dos metabólitos Kaempferol-3-O-rutinosídico, Rutina, Sacarose, Glicose para cultivar resistente e, para a cultivar susceptível houve um aumento dos níveis dos metabólitos ácido clorogênico, Linamarina e Etanol.

Foram realizadas comparações ainda entre as duas cultivares em ambos os tratamentos, controle e infestado, para verificar quais os metabólitos estão discriminando em cada tratamento e quais metabólitos estão discriminando entre as cultivares. A análise da "impressão digital" (fingerprint) por RMN-¹H do tecido foliar das plantas do cultivar de mandioca resistente Equador 72, nos tratamentos controle e infestado, possibilitou a separação dos grupos por meio da OPLS-DA onde a cultivar Equador 72 no tratamento controle (pontos em verde) e no tratamento infestado (pontos em azul) (Figura 32) e a identificação dos metabólitos discriminantes no gráfico S-line, após a infestação. Pode-se verificar uma diminuição significativa nas quantidades de açúcares após a infestação com mosca-branca e o aumento nas quantidades de etanol e acetona (metabólito liberado pela hidrólise da linamarina, que geralmente ocorre quando o tecido foliar da mandioca sofre algum dano) (Figura 32B).

Figura 32 Escores da OPLS-DA das cultivares de mandioca Equador 72 controle (Verde) e Equador 72 infestada (Azul) (A). S-line mostrando os metabólitos discriminantes, sinais com fase positiva referem-se a cultivar Equador 72 Controle e sinais com fase negativa referem-se a cultivar Equador 72 Infestada (B).



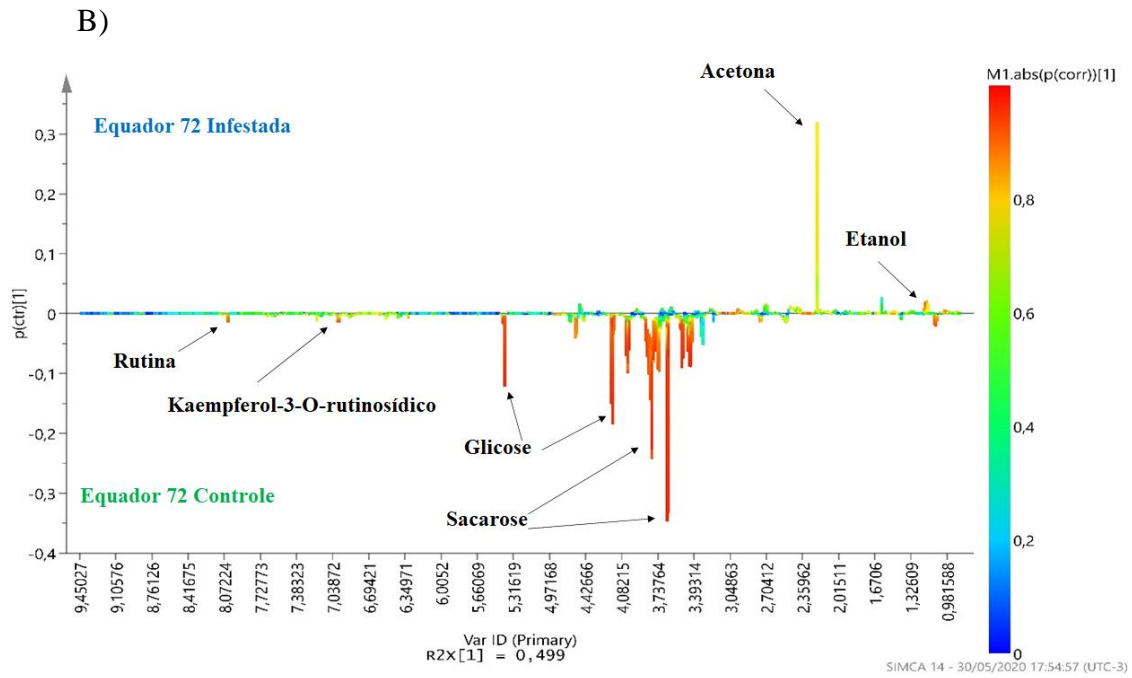
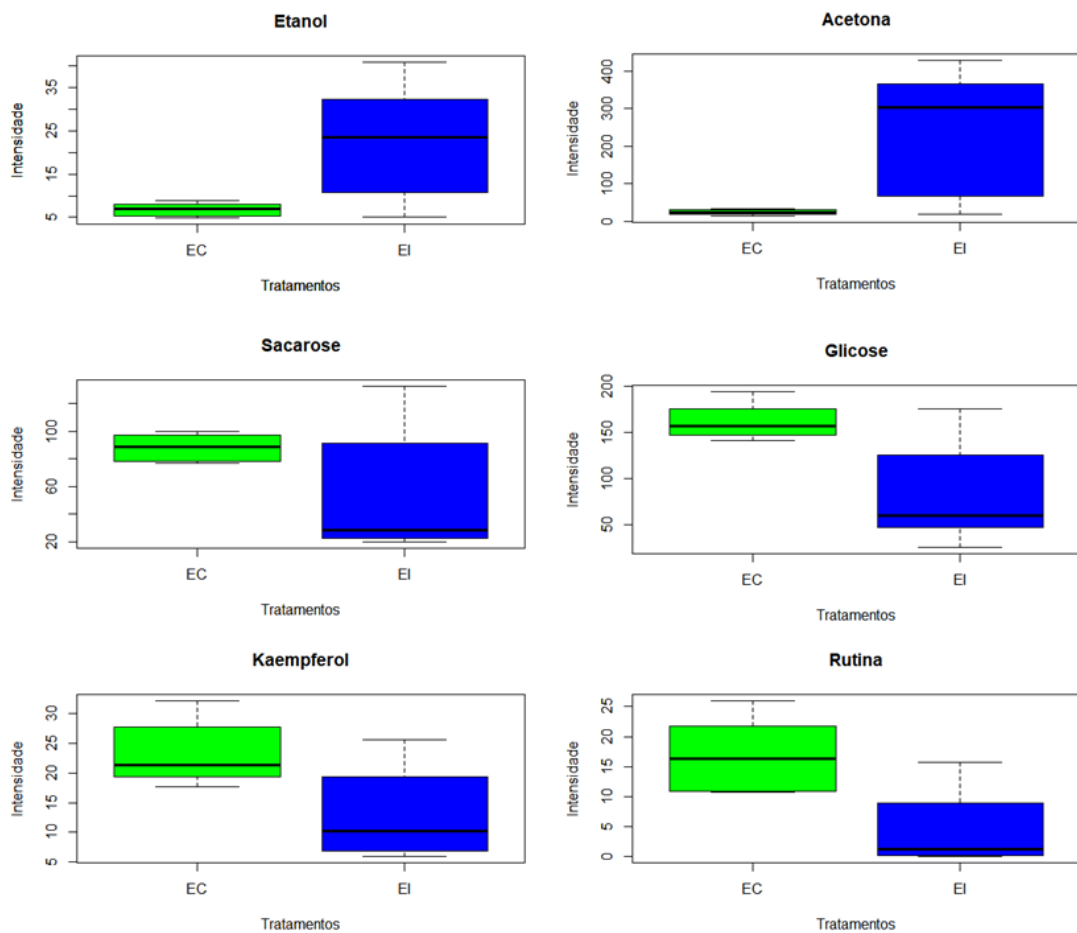


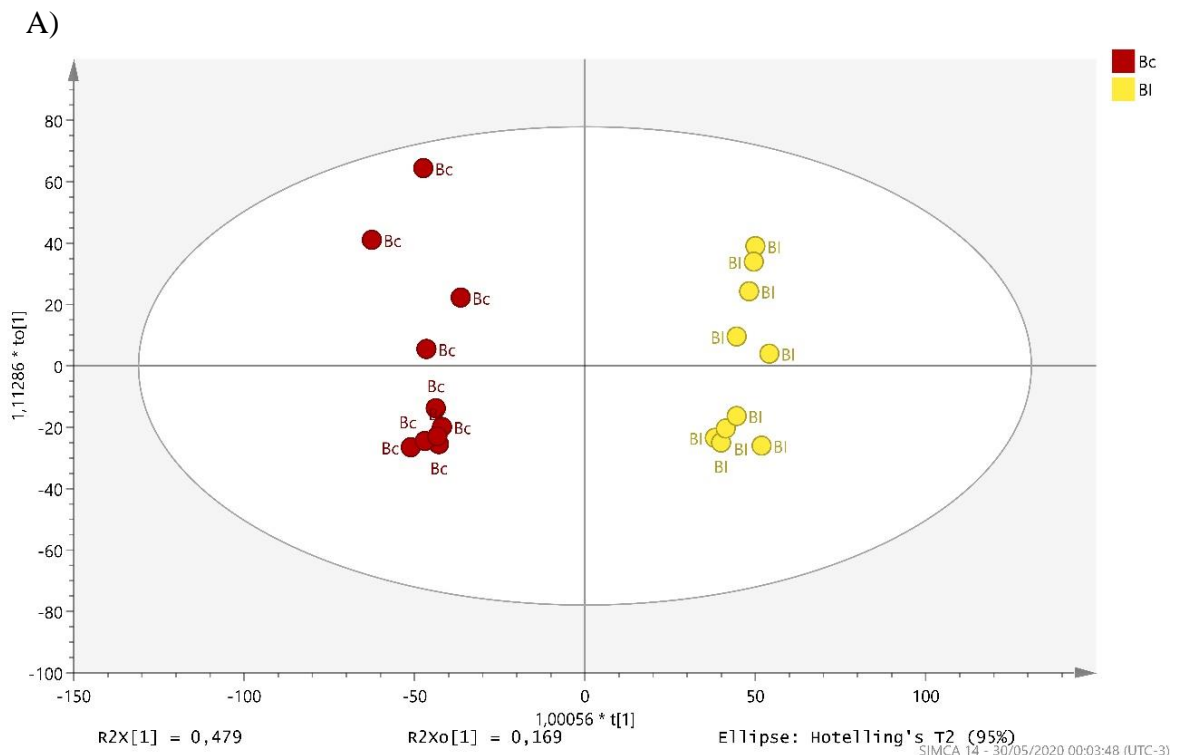
Figura 33 - Boxplot das concentrações relativas dos metabólitos discriminantes presentes nas cultivares de mandioca Equador 72 Controle e Infestado (resistente). (Teste t , $p < 0,05$).



Os boxplots com EC) Equador 72 Controle (Verde) e EI) Equador 72 Infestado (Azul).

As plantas do cultivar susceptível (BRS Jari) tiveram seus tratamentos comparados (controle x infestado) para observar como as plantas estão respondendo a herbivoria à mosca-branca *A. aepim*. A OPLS-DA possibilitou a separação dos grupos no tratamento controle (pontos em vermelho) e no tratamento infestado (pontos em amarelo) (Figura 34) e a identificação dos metabólitos discriminantes no gráfico S-line, após a infestação. As plantas infestadas também apresentaram uma diminuição significativa nas quantidades de açúcares após a infestação com mosca-branca, (de forma semelhante ao que aconteceu nas plantas do cultivar resistentes infestadas), e o aumento nas quantidades de acetona, ácido clorogênico e ácido gálico (Figura 32).

Figura 34 Escores da OPLS-DA das cultivares de mandioca BRS Jari Controle (Vermelho) e BRS Jari Infestada (Amarelo) (A). S-line mostrando os metabólitos discriminantes, sinais com fase positiva referem-se a cultivar BRS Jari Infestada e sinais com fase negativa referem-se a cultivar BRS Jari Controle (B).



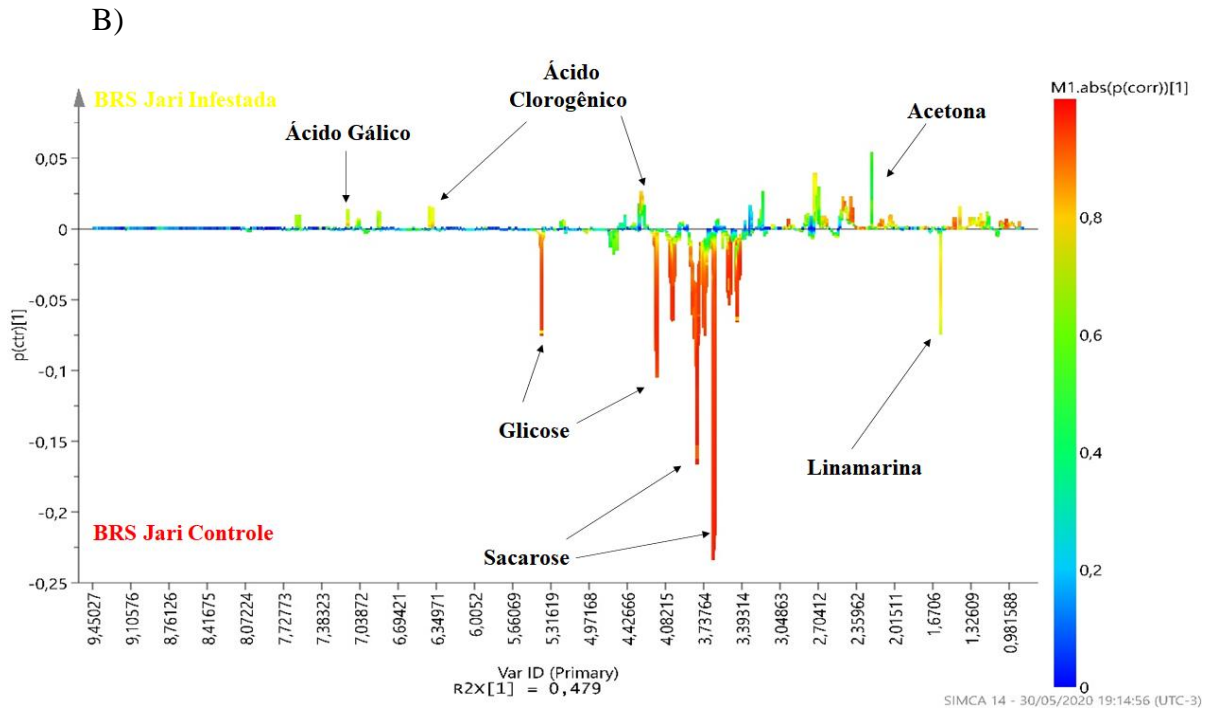
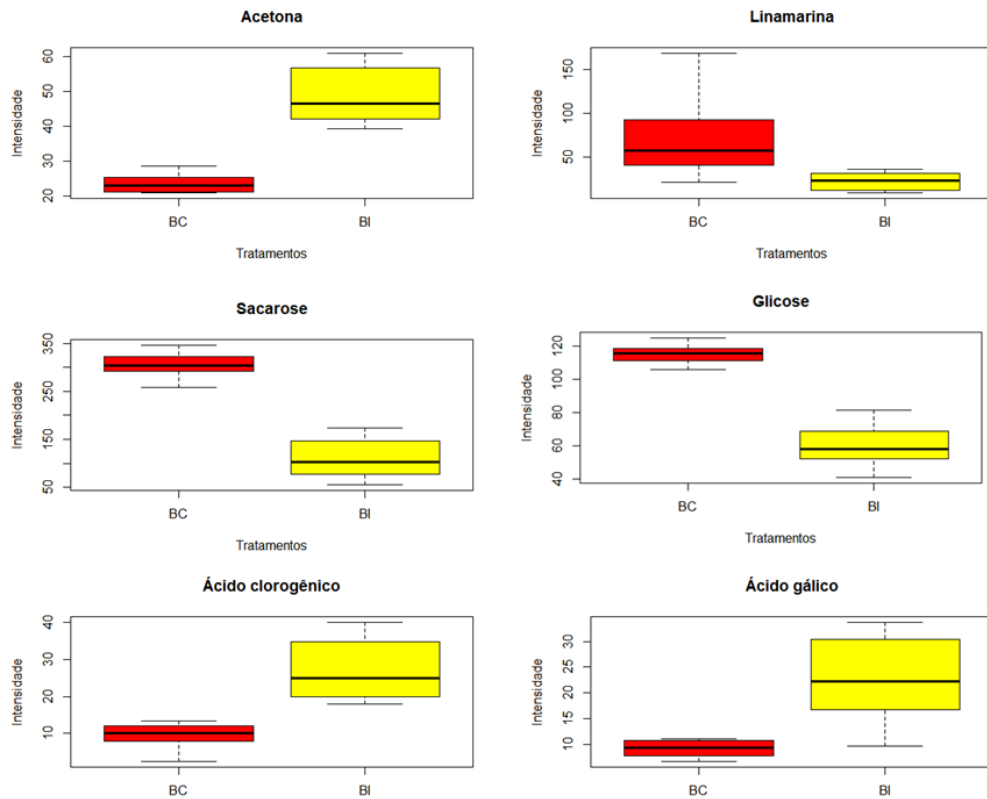


Figura 35 - Boxplot das concentrações relativas dos metabólitos discriminantes presentes nas cultivares de mandioca BRS Jari Controle e Infestado (Susceptível). (Teste t, $p < 0,05$).



Os boxplots com BC) BRS Jari Controle (Vermelho) e BI) BRS Jari Infestado (Amarelo).

As plantas submetidas à herbivoria de ambos os cultivares, também foram comparadas, para verificar quais os metabólitos discriminantes. Os grupos formados por Equador 72 Infestado (pontos em azul) e BRS Jari infestado (pontos em amarelo) (Figura 36) e a identificação dos metabólitos discriminantes no gráfico S-line apresentaram altos níveis de acetona e Linamarina na cultivar resistente, enquanto apresentaram altos níveis ácido gálico, ácido p-cumárico e ácido clorogênico.

Figura 36 Escores da OPLS-DA das cultivares de mandioca Equador 72 Infestada (Azul) e BRS Jari Infestada (Amarelo) (A). S-line mostrando os metabólitos discriminantes, sinais com fase positiva referem-se a cultivar BRS Jari Infestada e sinais com fase negativa referem-se a cultivar Equador 72 infestada (B).

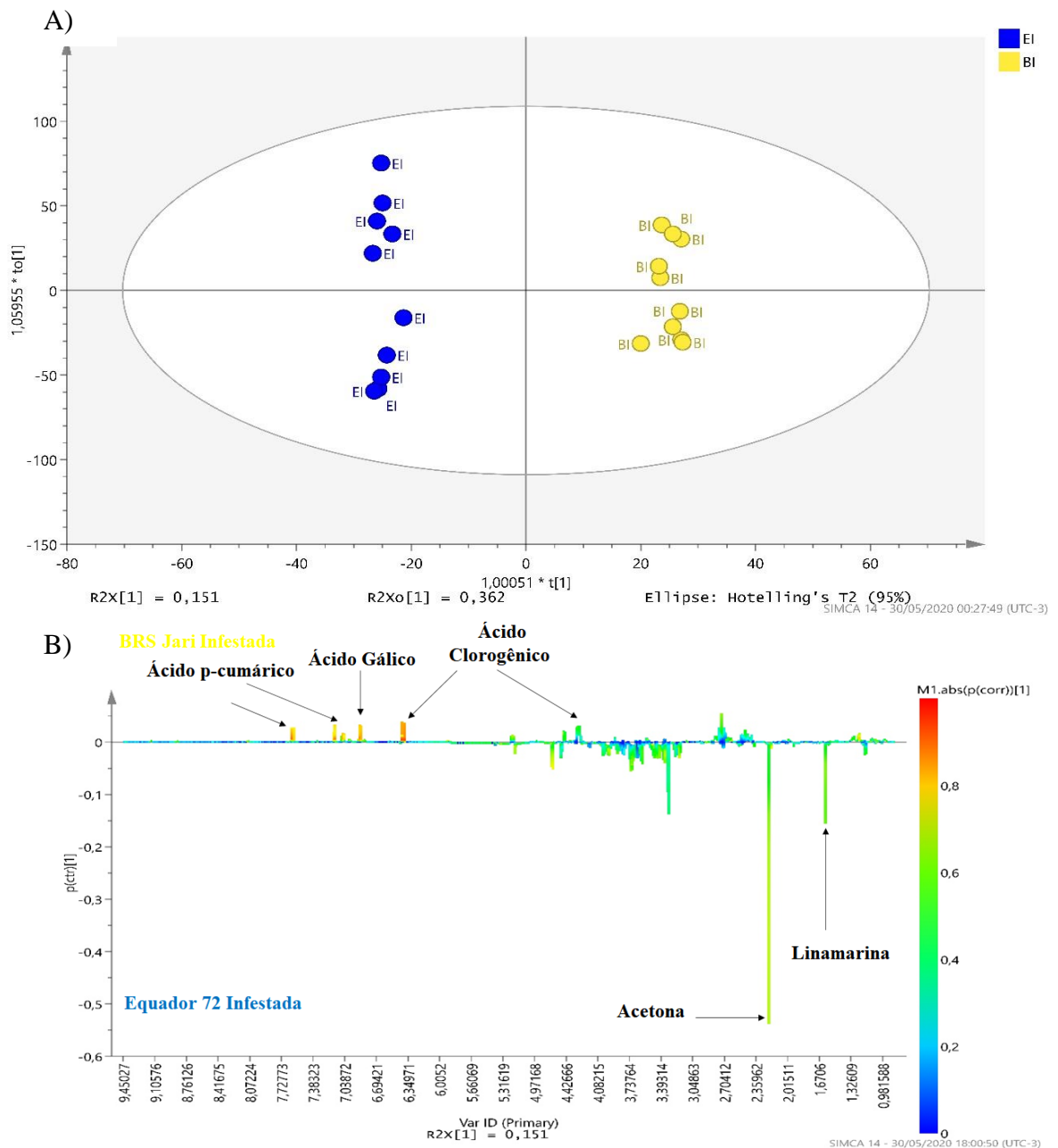
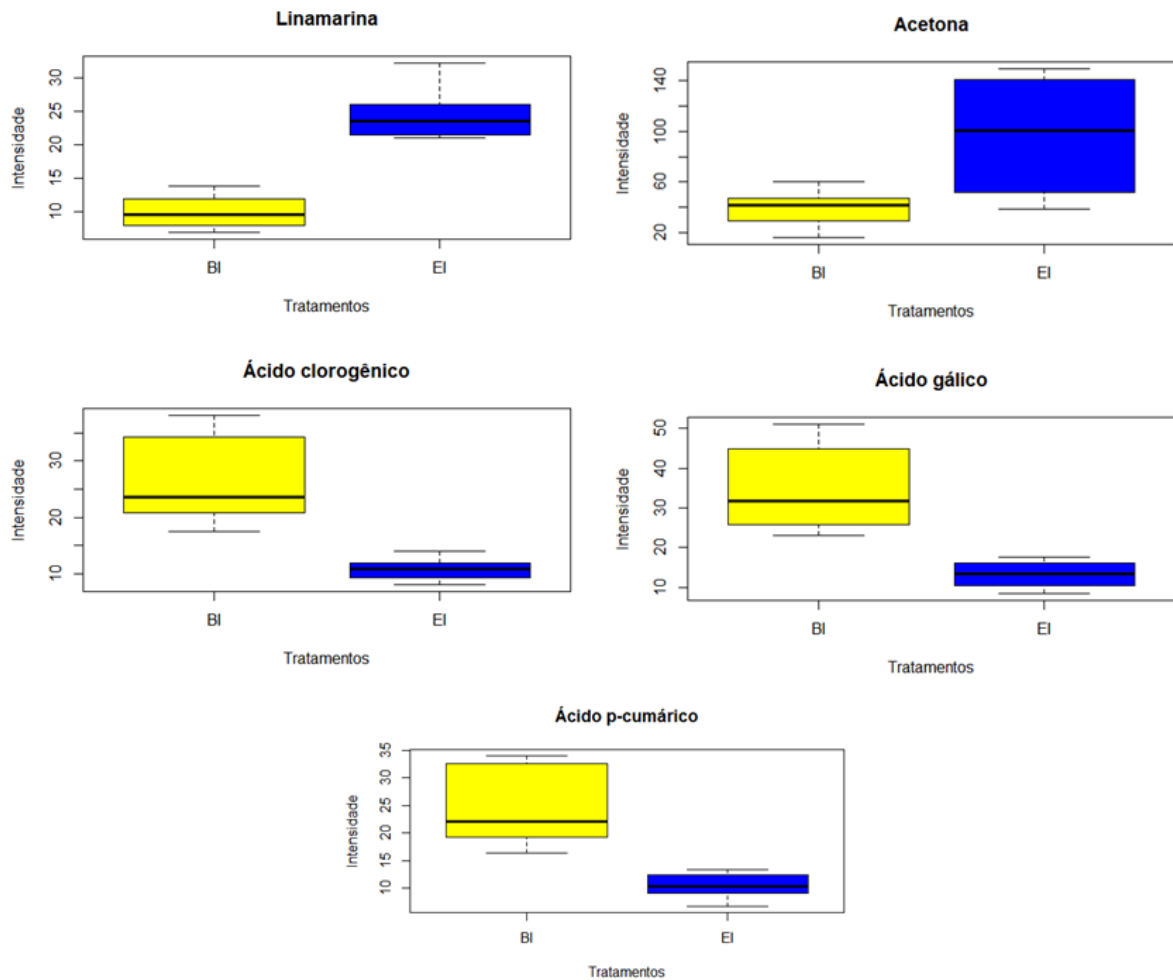


Figura 37 - Boxplot das concentrações relativas dos metabólitos discriminantes presentes nas cultivares de mandioca BRS Jari Infestado (Susceptível) e Equador 72 Infestado (Resistente). (Teste t , $p < 0,05$).



Os boxplots com BRS Jari Infestado (Amarelo). e EI) Equador 72 Jari Infestado (Azul).

Entre os metabólitos solúveis encontrados no presente trabalho, estão alguns aminoácidos como Ácido láctico, Treonina, Fumarato e Alanina, que são metabólitos primários e são essenciais para vida de qualquer organismo. Os aminoácidos possuem várias funções proeminentes nas plantas. Além de seu uso durante a biossíntese de proteínas, eles também representam blocos de construção para várias outras como precursores para biossíntese de outros compostos nitrogenados, como nucleotídeos, fitohormônios ou metabólitos secundários e desempenham papéis fundamentais durante os processos de sinalização, bem como na resposta ao estresse da planta (HILDEBRANDT, NUNES NESI, *et al.*, 2015). O glicolato, malato, lactato e o 2-hidroxiácido (2HA) no metabolismo da planta. A maioria deles pode ser encontrado como estereoisômeros D e L. Estes 2HA

desempenham um papel fundamental no metabolismo primário da planta, onde estão envolvidos em caminhos fundamentais, como fotorespiração, ciclo de ácido tricarbóxico, ciclo de glioxilato, via metilglioxal e catabolismo de lisina. Em plantas, o L-lactato funciona como um dissipador de elétrons durante condições de microoxia (hipoxia), mas também está envolvido na defesa de plantas contra patógenos (MAURINO, ENGQVIST, 2015).

A treonina é um dos aminoácidos essenciais para o desenvolvimento e crescimento dos insetos herbívoros. As plantas desenvolveram um arsenal fitoquímico para dissuadir os insetos herbívoros, inclui metabólitos de baixo peso molecular (os chamados metabólitos secundários), bem como proteínas que exercem efeitos tóxicos ou anti-nutricionais. Entre as proteínas defensivas mais bem estudadas estão os inibidores de proteases (PI) que formam complexos altamente estáveis com proteases digestivas de insetos. A inibição das PIs resulta em diminuição da digestão de proteínas alimentares, depleção de aminoácidos essenciais e consequentemente na diminuição das taxas de crescimento e desenvolvimento de insetos. Como em plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) que expressam isoformas de arginase e treonina desaminase (TD) que atuam no intestino do inseto degradando os aminoácidos essenciais arginina e treonina, respectivamente e desta forma influenciando na biologia do inseto, resultando em uma das formas de resistência da planta (antibiose) (GONZALES-VIGIL, BIANCHETTI, *et al.*, 2011).

A alanina é um dos primeiros produtos da assimilação de CO₂ nas plantas. Ela é formada na fotossíntese, presumivelmente, pela aminação redutora do PEP (fosfo-enol- piruvato) que é derivada da PGA (ácido 3-fosfoglicerato). A produção de alanina é aumentada quando a fotossíntese ocorre a baixas concentrações de oxigênio, e a temperaturas extremas e sob o estresse hídrico (SOSINSKA e MALESZEWSKI, 1978). Alguns compostos voláteis incluindo aldeídos, álcool, éster, ácidos e compostos contendo nitrogênio e enxofre são derivados de aminoácidos como alanina, valina, leucina e isoleucina, os quais desempenham um papel importante na defesa da planta (MÜLLER, 2012).

A trigonelina foi um dos metabólitos encontrados nos extratos das folhas das cultivares de mandioca. Esse composto é um alcalóide que foi isolado pela primeira vez do fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) (Johns, 1885) é encontrada em várias plantas e em algumas espécies animais, incluindo ouriços-do-mar e água-viva. Comumente encontrado em sementes, folhas de café e em folhas de cana-de-açúcar, sintetizado através da metilação do ácido

nicotínico utilizando S-adenosil metionina (JOSHI; HANDLER, 1960; ASHIHARA, 2006). Este metabólito foi detectado em uma cultivar da cana-de-açúcar sob herbivoria, demonstrando uma redução em seus níveis no tecido foliar da planta (SABINO, 2017). No trabalho de (MINORSKY, 2002), apresentou diversas funções reguladoras nas plantas, entre elas, no ciclo celular e nos estresses oxidativo, salino e radiação ultravioleta. Esse composto foi encontrado em cultivares de soja resistentes e susceptíveis ao pulgão, apresentando uma redução da quantidade de trigonelina nos genótipos de soja resistentes ao herbívoro (SATO, SUGIMOTO, *et al.*, 2014), houve também a redução na quantidade trigonelina em folhas de tomate sob herbivoria com trips (MIRNEZHAD, ROMERO-GONZÁLEZ, *et al.*, 2010).

Os compostos ácido clorogênico e linamarina foram encontrados em maior concentração nos extratos de folhas da cultivar BRS Jari (susceptível) no tratamento controle, entretanto as plantas do cultivar (BRS Jari Infestadas) também apresentaram ácido clorogênico e acetona entre os discriminantes. A linamarina é um glicosídeo cianogênico derivado de L-valina. Esses compostos são relativamente difundidos no reino vegetal e constituem um importante grupo de metabólitos secundários envolvidos na defesa da planta contra herbívoros artrópodes (PINTO-ZEVALLOS, MARTINS, *et al.*, 2013). Na mandioca, a linamarina e lotaustralina são os glicosídeos cianogênicos mais abundantes e representam, respectivamente, mais de 90% e menos de 10% de compostos cianogênicos totais em mandioca (MCMAHON *et al.*, 1995). A linamarina está mais concentrada nas folhas e na raiz da mandioca (PINTO-ZEVALLOS, PAREJA, *et al.*, 2016, VARGAS;, GRACIOLI, 2013). A degradação da linamarina pela linamarase resulta na formação de acetona e cianeto de hidrogênio (HCN), sendo ambos altamente tóxicos para herbívoros (MITHÖFER, BOLAND, 2012). Os glicosídeos cianogênicos (CNglcs) são produtos vegetais bioativos derivados de aminoácidos. Estruturalmente, esses compostos vegetais especializados são caracterizados como α -hidroxinitrilas (cianoidrinas) que são estabilizados por glicosilação (GLEADOW, MØLLER, 2014). Esse grupo de compostos secundários de plantas contendo nitrila que produzem cianeto (cianogênese) após sua quebra enzimática (WHITE, ARIAS-GARZON, *et al.*, 1998). As funções dos glicosídeos cianogênicos ainda precisam ser determinadas em muitas plantas; embora, em algumas plantas elas foram implicadas como dissuasores de herbívoros e como formas transportáveis de nitrogênio reduzido (BELLOTI & ARIAS, 1993; MCMAHON *et al.*, 1995). Estima-se que entre 3.000 e 12.000 espécies de plantas produzam e sequestram glicosídeos cianogênicos, a mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz) é a mais importante em termos agrônômicos das culturas cianogênicas (WHITE, ARIAS-GARZON, *et al.*, 1998). Os

CNglcs são envolvidos na defesa das plantas contra herbívoros em virtude de sua capacidade de liberar cianeto de hidrogênio tóxico (HCN) após a ruptura do tecido (PIČMANOVÁ, NEILSON, *et al.*, 2015).

Em nossos resultados encontramos altas quantidade de acetona nas plantas infestadas com mosca-branca *A.aepim* no cultivar Equador 72, como é possível observar na (Figura 32). O dano causado pela mosca-branca *A. Aepim*, possivelmente, iniciou-se o processo de cianogênese, onde acontece a liberação de linamarina que é hidrolisada pela linamarase, uma β -glicosidase associada à parede celular (MCMAHON *et al.*, 1995). A hidrólise da linamarina produz um intermediário hidroxinitrila instável, acetona cianohidrina. A cianidrina acetona decompõe-se em acetona e HCN este processo ocorre espontaneamente a pH maior que 5,0 ou é catalisado enzimaticamente pela hidroxinitrila liase (HNL)(WHITE, ARIAS-GARZON, *et al.*, 1998). Insetos sugadores como a mosca-branca que é um inseto especialista, que é estudado em nosso trabalho pode ter uma vantagem competitiva sobre os insetos desfoliadores quando se alimentam de plantas cianogênicas, uma vez que seu modo de alimentação causa pouco dano mecânico ao tecido da planta, causando assim pouca ou nenhuma degradação dos glicosídeos cianogênicos em compostos mais tóxicos (PINTO-ZEVALLOS, PAREJA, *et al.*, 2016). Apesar de alguns trabalhos relatarem que insetos sugadores sofreram danos relacionados a esses compostos tóxicos como os estudos realizados por BELLOTI & ARIAS (1993), o percevejo, *Cyrtomenus bergi* (Hymenoptera: Cydnidae) se desenvolve mais rapidamente no milho do que na mandioca e prefere o milho à mandioca no teste de livre escolha. Os bioensaios de campo sugerem que a resistência a *C. bergi* pode estar relacionada ao conteúdo de HCN das raízes. Em testes de laboratório, adultos e ninfas alimentados com um clone com altos teores de HCN apresentaram maior desenvolvimento ninfal, redução da longevidade do adulto, produção de ovos reduzida e aumento da mortalidade. Os estudos realizados por (RIIS, BELLOTTI, *et al.*, 2009), apresentaram diferenças significativas nos níveis de infestação entre clones com baixos níveis de compostos cianogênio e com altos níveis de compostos cianogênio .O efeito negativo da cianogênese na oviposição, concomitantemente com um efeito positivo na sobrevivência dessa praga, é provavelmente resultado de uma troca fisiológica entre sobrevivência e oviposição. Contudo, em nosso trabalho as altas concentrações de acetona podem esta ligadas somente ao dano causado pelos insetos nas plantas das cultivares infestadas. Esses metabólitos podem não está ligados a resistência dessa cultura a mosca-branca uma vez que esses insetos são especialistas e conseguem driblar as defesas plantas.

O ácido clorogênico é outro metabólito discriminante encontrado na cultivar de mandioca susceptível (BRS Jari) no tratamento controle e infestado. Esse metabólito é o principal fenilpropanóide em muitas plantas, incluindo batata (*Solanum tuberosum*), tomate (*Solanum lycopersicon*), maçãs (*Malus domestica*) e café (*Coffea arabica*) (PAYYAVULA, SHAKYA, *et al.*, 2015), foi encontrado também em cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) (SABINO, 2017) e em nosso trabalho em plantas de mandioca. Este metabólito é um dos principais precursores das ligninas, que tem a função de conferir rigidez, impermeabilidade e resistência a ataques microbiológicos e mecânicos aos tecidos vegetais (AZADI, INDERWILDI, *et al.*, 2013). A biossíntese do ácido clorogênico, tem como precursor a fenilalanina (PLAZAS, ANDÚJAR, *et al.*, 2013). Esse metabólito secundário é conhecido por possuir efeito negativo contra herbívoros, pois é oxidado para clorogenoquinona que se liga a aminoácidos e proteínas livres, reduzindo a biodisponibilidade de aminoácidos, que diminui a digestão de proteínas dietéticas (FELTON *et al.*, 1989). Várias espécies de plantas sob herbívoros apresentaram aumento nas concentrações de ácido clorogênico em comparação com plantas controle como em cana-de-açúcar submetida à herbívoros frente à *Diatraea saccharalis* (SABINO, 2017), *Catharanthus roseus* em resposta a infecção por fitoplasmas (YOUNG, TAPIAS, *et al.*, 2004), em cultivares de tabaco que foram atacadas por lagartas de *Manduca sexta* (LI, Dapeng, BALDWIN, *et al.*, 2015). Além disso, existem alguns trabalhos que tem testado algumas concentrações de ácido clorogênico em dietas artificiais, para avaliar o efeito por ele causado frente à biologia do inseto. Nas larvas de *Anastrepha ludens*, o ácido clorogênico e outros compostos fenólicos causaram perda de peso e retardamento na biologia do inseto (PASCACIO-VILLAFÁN, LAPOINTE, *et al.*, 2014); nas lagartas de *Diatraea saccharalis*, o ácido clorogênico causou mudanças na biologia do inseto, reduzindo o ciclo de vida do inseto e com isso deformação de insetos adultos (TAVARES, 2016). Esse composto apresenta várias funções biológicas sendo muito importante na defesa direta das plantas, em nosso trabalho cabe salientar que, esse metabólito foi encontrado em maior concentração na cultivar susceptível (BRS Jari) nos tratamentos controle e infestado. Possivelmente, a diferença nas concentrações desses dois metabólitos na cultivar susceptível tornando-os discriminantes podem não ser suficiente para apresentar alguma resposta na intoxicação da mosca-branca.

As plantas da cultivar susceptível (BRS Jari) no tratamento infestado apresentaram níveis altos de compostos fenólicos como ácido gálico, ácido cumárico e ácido clorogênico. Esta classe de compostos são metabólitos secundários de vegetais, que abrangem várias classes estruturalmente diversas de produtos naturais, biogeneticamente provenientes das vias

shiquimato-fenilpropanóides-flavonóides. As plantas precisam de compostos fenólicos para pigmentação, crescimento, reprodução, resistência a patógenos e para muitas outras funções. O ácido gálico dá origem a taninos hidrossolúveis quando condensados a glicose ou outros açúcares. São responsáveis pela adstringência de muitos frutos e produtos vegetais devido à precipitação de glicoproteínas salivares, o que ocasiona a perda do poder lubrificante. Têm reconhecidamente a função de inibir herbívoros, pois em altas concentrações, frutos, folhas, sementes ou demais tecidos jovens tornam-se não palatáveis aos fitófagos e, ainda, combinado a algumas proteínas, estes tecidos resistem fortemente à putrefação. Além disso, plantas com elevadas concentrações de taninos ou fenólicos tem ocorrido decréscimo do uso das folhas dessas plantas para alimentação de herbívoros (MONTEIRO, DE ALBUQUERQUE, *et al.*, 2005, OLIVEIRA, 2015).

Os compostos fenólicos têm demonstrado repetidamente desempenhar um papel vital na resistência das plantas contra pragas de insetos considerado um componente importante das defesas constitutivas e induzidas (LATTANZIO *et al.*, 2006). Os ácidos fenólicos são os precursores dos taninos condensados e, portanto, o aumento dos atributos fenólicos na acumulação de taninos condensados. Nos trabalhos realizados por (DIXIT, PRAVEEN, *et al.*, 2017), com plantas de algodão submetidas a infestação com *Helicoverpa armigera* e *Spodoptera litura* apresentaram alterações nos níveis de ácido gálico e ácido p-cumárico. As larvas desses insetos apresentaram redução significativa no peso e na mortalidade substancial no 10º dia em que as larvas foram alimentadas com dieta rica em ácido p-cumárico. Plantas de tabaco (*Nicotiana tabaco* L.) infestadas por *Bemisia tabaci* e *Trialeurodes vaporariorum* apresentaram alterações nos níveis de compostos fenólicos como ácido clorogênico, catequina, ácido cafeíco, ácido p-cumárico, rutina e ácido ferúlico nas plantas de tabaco infestadas por *B. tabaci* aumentaram significativamente, tendo efeitos espaciais e temporais, comparados com as plantas controle (não infestadas) e as plantas infestadas por *T. vaporariorum*. Os níveis elevados de compostos fenólicos induzidos por *B. tabaci* foram correlacionados com a via de sinalização do ácido salicílico e induziram as respostas dos compostos fenólicos relacionados à defesa (ZHANG, Xiao, SUN, *et al.*, 2017). A presença dos fenólicos encontrados em maior quantidade na cultivar susceptível é uma resposta da planta aos danos sofridos pela mosca-branca *A. aepim*.

Os metabólitos encontrados em maior concentração para a cultivar resistente (Equador 72 Controle) foram a Rutina, Kaempferol-3-O-rutinosídico, sacarose e glicose. Além da presença dos compostos fenólicos, os extratos das folhas do cultivar resistente Equador 72 apresentaram altos níveis de açúcar no tratamento controle quando comparado com os extratos das folhas da cultivar susceptível BRS Jari do mesmo tratamento, os açúcares podem estar

ligado com os níveis de resistência dessa cultivar, como em cultivares resistentes de outras culturas, plantas de tomate com altos níveis de resistência para a mosca-branca *B. tabaci* apresentaram alta densidade de tricomas e teores elevados de açúcares (SILVA, 2012), também em plantas de tomate as linhagens ricas em açúcares apresentaram maior resistência à oviposição e sobrevivência das ninfas de mosca-branca, além de maior repelência ao ácaro-rajado, quando comparadas com os demais tratamentos, que possuem baixos teores foliares de açúcares (MARCHESE, 2013). Em estudos realizados com a cultivar equador 72 em campo, mostraram que as moscas-brancas *Aleurothrixus socialis* e *Bemisia tuberculata* quando se alimentaram desse genótipo, apresentaram baixas taxas de oviposição, período de desenvolvimento mais longos, tamanho reduzido e maior mortalidade do que os de outros genótipos da mandioca (BARILLI, WENGRAT, *et al.*, 2019, BELLOTTI, A. C., ARIAS, 2001, CARABALÍ, BELLOTTI, *et al.*, 2010a).

As plantas infestadas dos dois cultivares de mandioca apresentaram uma diminuição nos níveis de açúcares tanto para a cultivar resistente quanto para a cultivar suscetível (Figuras 32 B e 34 B). Os açúcares são importantes para o metabolismo, pois são substratos para a síntese de hidratos de carbono complexos, tais como amido, celulose e são utilizados para a biossíntese de aminoácidos e ácidos graxos e praticamente todos os outros compostos presentes nas plantas (SMEEKENS, 2000). As reduções nas quantidades de açúcar devem estar ligadas diretamente ao dano sofrido pela mosca-branca, uma vez que, os açúcares foram encontrados em maiores concentrações nas plantas controle. A glicose atua como substrato da enzima hexoquinase, sendo metabolizada como fonte de energia pela glicólise, pela via das pentoses-fosfato e do ciclo do ácido cítrico. Constituem também os principais esqueletos de carbono para a síntese de intermediários dessas vias, e ainda são unidades para a biossíntese de oligo e polissacarídeos (SOUZA, MORAES, *et al.*, 2005). A sacarose é um carboidrato não redutor, pode ser translocado e armazenado nos vacúolos celulares, visto que é o principal carboidrato em plantas vasculares. É uma molécula altamente solúvel, e quimicamente inerte quando em contato com proteínas, pois não forma ligações covalentes com grupos amino livres. É também a molécula que retém a maior energia livre de hidrólise conhecida para uma ligação glicosídica, sendo metabolizado apenas quando necessário. A sacarose atua como molécula sinalizadora do metabolismo e no desenvolvimento vegetal, através da modulação da expressão gênica de proteínas (FARRAR, POLLOCK, *et al.*, 2000, OLIVEIRA, 2015).

Os compostos que apresentaram maiores quantidades, quando comparadas as plantas BRS Jari (cultivar suscetível) e Equador 72 (cultivar resistente) no tratamento controle são

rutina e kaempferol-3-O-rutinosídico, esses metabólitos são compostos fenólicos que abrangem um extenso grupo de substâncias que possuem um anel aromático contendo pelo menos uma hidroxila. Estes compostos incluem: fenóis simples e glicosilados, ácidos fenol-carboxílicos, derivados dos ácidos benzóico e cinâmico, α -pirones (cumarinas e isocumarinas), ligninas, flavonóides (flavononas, antocianinas e catequinas) e quinonas. As rotas biossintéticas ocorrem por duas vias principais, a via do ácido chiquimico através de carboidratos ou pela via do acetato-polimato que inicia com a acetil-coA e a malonil-coA (KNAGGS, 2003). Os compostos fenólicos encontrados em folhas e raízes de mandioca incluem dois grupos, flavonóides glicosilados e hidroxycumarinas. Ambos são grupos bioativos que desempenham papéis importantes na defesa de plantas contra não só artrópodes herbívoros, mas também patógenos. Nas folhas de mandioca, identificou-se a rutina (quercetina-3-O-rutinósido) e um isômero contendo (kaempferol-3-O-rutinosido). A rutina ocorre em várias espécies de plantas e, dependendo da concentração, este composto pode atuar como um fagostimulante ou um impedimento alimentar para muitos herbívoros generalistas (PINTO-ZEVALLOS, PAREJA, *et al.*, 2016, SIMMONDS, 2003). A rutina pode atuar como ativador para melhorar a resistência de plantas à doença. Foram testadas três espécies de plantas pré-tratadas com 2 mM rutina para aumentar a resistência de plantas de arroz, tabaco e *Arabidopsis thaliana* respectivamente, frente as estirpes das bactérias *Xanthomonas oryzae. oryzae*, *Ralstonia solanacearum* e *Pseudomonas syringae pv.* Os resultados mostraram que o sinal de defesa iniciado pela rutina foi modulado pela via dependente do ácido salicílico (YANG, Wei, XU, *et al.*, 2016). A rutina também mostrou-se influenciar de forma negativa a biologia de *Spodoptera frugiperda*, por prolongar o período larval, diminuir o peso larval e viabilidade pupal. A adição de rutina nas diferentes concentrações prolongou o ciclo de *S. frugiperda* (SILVA, ALMEIDA, *et al.*, 2016).

O Kaempferol foi encontrado em quantidades significativamente maiores nos híbridos de *Senecio jacobaeae* e *Senecio aquaticus*, que são híbridos resistentes aos trips. O composto tem um efeito dissuasivo sobre lagartas e pulgões generalistas, além de ser eficaz contra patógenos fúngicos. As folhas novas das plantas resistentes aos trips apresentaram quantidades significativamente maiores de kaempferol em comparação com as folhas velhas (LEISS, CHOI, *et al.*, 2011). Em plantas de *Arabidopsis thaliana*, que apresentaram uma redução significativa nos níveis de kaempferol-3,7-dirhamnosídeo (KRR) resultou em uma susceptibilidade aumentada das plantas em relação à alimentação de lagartas *Pieris brassicaeas*. Ao passo que, as lagartas que foram alimentadas com uma dieta artificial contendo KRR ou em plantas que foram tratadas com KRR, cresceram menos apoiando a função de que KRR age com uma defesa

direta contra essa lagarta especialista (ONKOKESUNG, REICHEL, *et al.*, 2014). Uma característica relevante na bioquímica da mandioca é a presença de compostos secundários em folhas, ramos e raízes, que podem agir como mecanismos de defesa, cujas concentrações, em geral, variam de acordo com as condições climáticas (temperaturas, déficit hídrico, chuvas), condições do solo e disponibilidade de nutrientes. Esses mecanismos abrangem uma série de substâncias químicas (alcaloides, esteroides, flavonóides, taninos, glucosinolatos, e compostos cianogênicos), que podem torná-la repelente, tóxica ou não atrativa para insetos-praga. Dentre esses compostos, a rutina (quercetina 3-O rutinosídico) tem sido associada à resistência de insetos sugadores em mandioca, como a insetos desfolhadores em soja (HOFFMANN-CAMPO, NETO, *et al.*, 2006, PIUBELLI, HOFFMANN-CAMPO, *et al.*, 2005).

Em nossos resultados podemos observar os mecanismos de resistência utilizados pelas cultivares de mandioca em resposta aos ataques da mosca-branca *A. aepim*, usando uma cultivar resistente à mosca-branca como referência. Essa cultivar foi a única que apresentou alta densidade de tricomas, que são defesas constitutivas das plantas em comparação com as outras nove cultivares estudadas. Por sua vez, podemos observar a variabilidade de compostos voláteis emitidos pelas dez cultivares nos tratamentos controle e infestado, e agrupar as cultivares de acordo com os perfis dos voláteis emitidos, dando destaque para cultivar BRS Mulatinha que emitiu uma mistura de voláteis semelhante ao da cultivar resistente Equador 72 em ambos os tratamentos, até na quantidade do monoterpeneo (E)- β -ocimeno e que apresentou uma resposta ativa para as antenas da mosca-branca. Foram observadas diminuições nas emissões de terpenos ocasionadas pela infestação com a mosca-branca, sugerindo que essa infestação leva inativação da via do ácido jasmônico e ativa a via do ácido salicílico, uma forma da mosca-branca driblar as defesas da planta. O composto (E)- β -ocimeno usado nos bioensaios de olfatométrica apresentou atividade repelente sugerindo que este composto pode estar relacionado com os mecanismos de defesa das plantas. Em relação aos metabólitos solúveis, foram analisadas as plantas controle e infestadas, foram observados altos níveis de compostos fenólicos e açúcares na cultivar resistente, esses metabólitos podem estar diretamente ligados aos mecanismos de resistência desta cultivar a mosca-branca, já que esses insetos não conseguem se desenvolver com êxito nesse cultivar em estudos realizados em campo por (BARILLI, WENGRAT, *et al.*, 2019, BELLOTTI, A. C., ARIAS, 2001, CARABALÍ, BELLOTTI, *et al.*, 2010a), as plantas infestadas apresentaram altos níveis de acetona, possivelmente em resposta ao tecido foliar lesionado, além disso, as plantas do cultivar susceptível (BRS Jari) apresentaram altos níveis de ácidos fenólicos em respostas aos danos sofridos. Em suma, nossos resultados apontam que

a soma de vários mecanismos de defesa entre ceras epicuticulares, tricomas, COVs e os metabólitos solúveis são os responsáveis pela resistência da cultivar Equador 72 frente à mosca-branca *A. aepim*. Os resultados obtidos demonstram que uma melhor compreensão da variabilidade genética da mandioca em relação aos mecanismos de defesa, podem ser mais explorados e aplicados nos programas de melhoramento genético dessa cultura.

6. CONCLUSÕES

- As dez cultivares de mandioca apresentaram variações nos perfis das ceras epicuticulares nas superfícies adaxial (parte superior) e abaxial (superfície inferior) das folhas. Entre as 10 cultivares apenas a cultivar Equador 72 apresentou uma alta densidade de tricomas no tecido foliar em ambas superfícies.
- A PCA apresentou a formação de grupos entre as cultivares com base nos voláteis emitidos em ambos os tratamentos controle e infestado. Essas análises mostram semelhanças entre os voláteis liberados pela cultivar BRS Mulatinha e a cultivar resistente Equador 72, inclusive nas quantidades emitidas do monoterpene (E)- β -ocimeno.
- As plantas das dez cultivares de mandioca apresentaram uma diminuição na emissão dos terpenos no tratamento infestado. As plantas possivelmente ativam a via do ácido salicílico emitindo compostos provenientes dessa via como salicilato de metila e salicilato de octila.
- Entre as concentrações testadas do padrão (E)- β -ocimeno, a concentração 300 ng/ μ L apresentou repelência contra a mosca-branca *A. aepim*. Nos bioensaios de eletroantenografia (puff), os extratos das cultivares BRS mulatinha, BRS Dourada, IAC 90, corrente mostraram atividade frente às antenas da mosca-branca *A. aepim*.
- Os dois cultivares de mandioca, nos diferentes tratamentos apresentaram perfis distintos para os metabólitos solúveis, com variações nas intensidades de alguns compostos. Foram identificados um total de dezesseis metabólitos solúveis.
- Houve uma maior concentração dos metabólitos Rutina, Kaempferol-3-O-rutinosídico e os açúcares glicose e sacarose na cultivar Equador 72 (resistente) no tratamento controle, e, elevados níveis de linamarina e ácido clorogênico na cultivar BRS Jari (susceptível).
- As plantas do cultivar Equador 72 e BRS Jari apresentaram altos níveis dos açúcares, sacarose e glicose, muito embora ocorra uma redução significativa nos níveis de açúcares nos dois cultivares após a infestação.

REFERÊNCIAS

ABD EL-GHANY, N. M. "Semiochemicals for controlling insect pests", **Journal of Plant Protection Research**, v. 59, n. 1, p. 1–11, 2019. DOI: 10.24425/jppr.2019.126036. Disponível em: [http://www.czasopisma.pan.pl/Content/109966/PDF/R1_JPPR_59_1_234_Abd El-Ghany_AOP.pdf](http://www.czasopisma.pan.pl/Content/109966/PDF/R1_JPPR_59_1_234_Abd_El-Ghany_AOP.pdf).

ADHIKARY, P., MUKHERJEE, A., BARIK, A. "Attraction of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) to four varieties of *Lathyrus sativus* L. seed volatiles", **Bulletin of Entomological Research**, v. 105, n. 2, p. 187–201, 2015. DOI: 10.1017/S000748531400087X.

AGELOPOULOS, N. G., HOOPER, A. M., MANIAR, S. P., *et al.* "A novel approach for isolation of volatile chemicals released by individual leaves of a plant in situ", **Journal of Chemical Ecology**, v. 25, n. 6, p. 1411–1425, 1999. DOI: 10.1023/A:1020939112234. .

AGELOPOULOS, N. G., PICKETT, J. A. "Headspace analysis in chemical ecology: Effects of different sampling methods on ratios of volatile compounds present in headspace samples", **Journal of Chemical Ecology**, v. 24, n. 7, p. 1161–1172, 1998. DOI: 10.1023/A:1022442818196. .

AHMAD, H. M., UR-RAHMAN, M., ALI, Q., *et al.* "Plant cuticular waxes: A review on functions, composition, biosyntheses mechanism and transportation", **Life Science Journal**, v. 12, n. 4, p. 60–67, 2015. DOI: 10.7537/marslsj1204s15.08. .

ALLWOOD, J. W., ELLIS, D. I., GOODACRE, R. "Metabolomic technologies and their application to the study of plants and plant-host interactions", **Physiologia Plantarum**, v. 132, n. 2, p. 117–135, 2008. DOI: 10.1111/j.1399-3054.2007.01001.x. .

ANASTASAKI, E., DRIZOU, F., MILONAS, P. G. "Electrophysiological and Oviposition Responses of *Tuta absoluta* Females to Herbivore-Induced Volatiles in Tomato Plants", **Journal of Chemical Ecology**, v. 44, n. 3, p. 288–298, 2018. DOI: 10.1007/s10886-018-0929-1. .

ASAI, T., MATSUKAWA, T., KAJIYAMA, S. "Metabolic changes in Citrus leaf volatiles in response to environmental stress", **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 121, n. 2, p. 235–241, 2016. DOI: 10.1016/j.jbiosc.2015.06.004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiosc.2015.06.004>.

ASCRIZZI, R., CIONI, P. L., GIUSTI, G., *et al.* "Patterns in Volatile Emission of Different Aerial Parts of Caper (*Capparis spinosa* L.)", **Chemistry and Biodiversity**, p. 904–912, 2016. DOI: 10.1002/cbdv.201500292. .

ASHIHARA, H. "Metabolism of alkaloids in coffee plants", **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, n. 1, p. 1–8, 2006. DOI: 10.1590/S1677-04202006000100001. .

ASHOUR, M., WINK, M., GERSHENZON, J. **Biochemistry of Terpenoids: Monoterpenes, Sesquiterpenes and Diterpenes**. [S.l.: s.n.], 2018. v. 40.

AZADI, P., INDERWILDI, O. R., FARNOOD, R., *et al.* "Liquid fuels, hydrogen and chemicals from lignin: A critical review", **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 21, p. 506–523, 2013. DOI: 10.1016/j.rser.2012.12.022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2012.12.022>.

AZEVEDO, F. R. de, BLEICHER, E. "Distribuição vertical e setorial das ninfas de mosca-branca nas folhas do meloeiro", **Horticultura Brasileira**, v. 21, n. 3, p. 464–467, 2003. DOI: 10.1590/s0102-05362003000300010. .

BAKTHAVATSALAM, N. **Chapter 19 - Semiochemicals**. [S.l.], Elsevier Inc., 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-803265-7.00018-X>.

BALDWIN, I. T. "Plant volatiles", **Current Biology**, v. 20, n. 9, p. R392–R397, maio 2010. DOI: 10.1016/J.CUB.2010.02.052. .

BARILLI, D. R., WENGRAT, A. P. G. da S., GUIMARÃES, A. T. B., *et al.* "Resistance of cassava genotypes to *Bemisia tuberculata*", **Arthropod-Plant Interactions**, v. 0, n. 0, p. 0, 2019. DOI: 10.1007/s11829-019-09694-z. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s11829-019-09694-z>.

BELHADJ, S., DERRIDJ, A., AIGOUY, T., *et al.* "Comparative Morphology of Leaf Epidermis in Eight Populations of Atlas Pistachio (*Pistacia atlantica* Desf., Anacardiaceae)", **Microscopy research and technique**, v. 71, n. 2, p. 146–157, 2007. DOI: 10.1002/jemt. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/jemt.20483?casa_token=fk5-7cLfozMAAAAA:fxTASpnJtctqgq9927VTb0tZLvIUsgWGeRNyXKg4zwhdpS9wdJgM9BfcOt5x18nkb3ZrlME6weQPvkKSIA.

BELLOTTI, A. C., ARIAS, B. "Host plant resistance to whiteflies with emphasis on cassava as a case study". 2001. **Anais [...]** [S.l.: s.n.], 2001. DOI: 10.1016/S0261-2194(01)00113-2.

BELLOTTI, A., PEÑA, J., ARIAS, B., *et al.* **Biological control of whiteflies by indigenous natural enemies for major food crops in the Neotropics. Whitefly and Whitefly-borne Viruses in the Tropics: Building a Knowledge Base for Global Action.** [S.l.], Centro Internacional de Agricultura Tropical, 2005.

BENGTSSON, M., BÄCKMAN, A. C., LIBLIKAS, I., *et al.* "Plant odor analysis of apple: Antennal response of codling moth females to apple volatiles during phenological development", **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 8, p. 3736–3741, 2001. DOI: 10.1021/jf0100548. .

BERHAL, C., DE CLERCK, C., FAUCONNIER, M. L., *et al.* "First Characterisation of Volatile Organic Compounds Emitted by Banana Plants", **Scientific Reports**, v. 7, p. 1–7, 2017. DOI: 10.1038/srep46400. .

BEZERRA, R. H. S. **VOLÁTEIS INDUZIDOS POR HERBIVORIA EM PLANTAS DE MANDIOCA E ATRATIVIDADE A ÁCAROS (ACARI: TETRANYCHIDAE: PHYTOSEIIDAE).** 2017. UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE, 2017. DOI: 10.1017/CBO9781107415324.004.

BLOCK, A. K., VAUGHAN, M. M., SCHMELZ, E. A., *et al.* "Biosynthesis and function of terpenoid defense compounds in maize", **Planta**, v. 249, n. 1, p. 21–30, 2019. DOI: 10.1007/s00425-018-2999-2. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00425-018-2999-2>.

BOHINC, T., MARKOVIČ, D., TRDAN, S. "Leaf epicuticular wax as a factor of antixenotic resistance of cabbage to cabbage flea beetles and cabbage stink bugs attack", **Acta Agriculturae Scandinavica Section B: Soil and Plant Science**, v. 64, n. 6, p. 493–500, 2014. DOI: 10.1080/09064710.2014.926978. .

BOIÇA JÚNIOR, A. L., SOUZA, B. H. S., RIBEIRO, Z. A., *et al.* "Resistência de plantas: explorando o potencial de defesa aos insetos", **Tópicos em Entomologia Agrícola – VIII**, n. July, p. 73–94, 2016. .

BRILLI, F., LORETO, F., BACCELLI, I. "Exploiting plant volatile organic compounds (VOCS) in agriculture to improve sustainable defense strategies and productivity of crops", **Frontiers in Plant Science**, v. 10, n. March, p. 1–8, 2019. DOI: 10.3389/fpls.2019.00264. .

BRUCE, T. J. A., PICKETT, J. A. **Perception of plant volatile blends by herbivorous insects - Finding the right mix. Phytochemistry.** [S.l: s.n.], 2011

CÁCERES, L. A., LAKSHMINARAYAN, S., YEUNG, K. K. C., *et al.* "Repellent and Attractive Effects of α -, β -, and Dihydro- β - Ionone to Generalist and Specialist Herbivores", **Journal of Chemical Ecology**, v. 42, n. 2, p. 107–117, 2016. DOI: 10.1007/s10886-016-0669-z. .

CANUTO, G. A. B., DA COSTA, J. L., DA CRUZ, P. L. R., *et al.* "Metabolomics: Definitions, state-of-the-art and representative applications", **Quimica Nova**, v. 41, n. 1, p. 75–91, 2018. DOI: 10.21577/0100-4042.20170134. .

CARABALÍ, A., BELLOTTI, A. C., MONTOYA-LERMA, J., *et al.* " Resistance to the Whitefly, *Aleurotrachelus socialis* , in Wild Populations of Cassava, *Manihot Tristis* ", **Journal of Insect Science**, 2010a. DOI: 10.1673/031.010.14130. .

CARABALÍ, A., BELLOTTI, A. C., MONTOYA-LERMA, J., *et al.* "Resistance to the Whitefly, *Aleurotrachelus socialis* , in Wild Populations of Cassava, *Manihot Tristis*", **Journal of Insect Science**, v. 10, n. 170, p. 1–10, out. 2010b. DOI: 10.1673/031.010.14130. .

CARR, D. J., CRUTHERS, N. M., GIRVAN, E., *et al.* "Variation in epicuticular wax morphology on *Phormium tenax* leaves as a possible indicator of cultivar identification", **New Zealand Journal of Botany**, v. 47, n. 2, p. 149–153, 2009. DOI: 10.1080/00288250909509802. .

CARVALHO, R. da S., RINGENBERG, R., PIETROWSKI, V. **Guia para reconhecimento dos principais insetos, ácaros-praga e inimigos naturais da cultura da mandioca.** [S.l: s.n.], 2015.

CASCONE, P., IODICE, L., MAFFEI, M. E., *et al.* "Tobacco overexpressing β -ocimene induces direct and indirect responses against aphids in receiver tomato plants", **Journal of Plant Physiology**, v. 173, p. 28–32, 2015. DOI: 10.1016/j.jplph.2014.08.011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jplph.2014.08.011>.

CERÓN-CARPIO, A. B., PÉREZ-GARCÍA, B., MONRIBOT VILLANUEVA, J. L., *et al.* "Chemical composition and micromorphological structure of cuticular leaf waxes of eight tropical fern species of Mexico", **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 85, n. January, p. 13–20, 2019. DOI: 10.1016/j.bse.2019.04.008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bse.2019.04.008>.

CHANCHALA, K. M. G., WANASINGHE, V. K. A. S. M., HEMACHANDRA, K. S., *et al.* "Effect of the epicuticular wax level of leaf lamina on the behaviour of leaf hopper

Deltocephalus menoni (Hemiptera: Cicadellidae); A vector of sugarcane white leaf disease", **Tropical Agricultural Research**, v. 31, n. 1, p. 73, 2020. DOI: 10.4038/tar.v31i1.8345. .

CHANG, G. C., NEUFELD, J., EIGENBRODE, S. D. "Leaf surface wax and plant morphology of peas influence insect density", **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 119, n. 3, p. 197–205, 2006. DOI: 10.1111/j.1570-7458.2006.00410.x. .

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, C. "MANDIOCA: RAIZ, FARINHA E FÉCULA Janeiro de 2017 1.", p. 9, 2017. .

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, C. "Perspectivas para a agropecuária / Companhia Nacional de Abastecimento – v.1 – Brasília : Conab, 2013", v. 1, 2014. Disponível em:

https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwjfu6jUxuDpAhX7H7kGHR0oDh4QFjABegQIBBAB&url=https%3A%2F%2Fwww.conab.gov.br%2Fperspectivas-para-a-agropecuaria%2Fitem%2Fdownload%2F2527_8bd114af4c0c88a929dcf3aa432a8b79&usg=AOvVaw1JWU.

CONAB. "Volume 7 – Safra 2019 / 2020 Brasília , 2019", **Perspectivas para a agropecuária**, v. 7, p. 102, 2019. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>.

CUI, H., SU, J., WEI, J., *et al.* "Elevated O₃ enhances the attraction of whitefly-infested tomato plants to *Encarsia formosa*", **Scientific Reports**, v. 4, p. 1–6, 2014. DOI: 10.1038/srep05350. .

DA COSTA, J. G., PIRES, E. V., RIFFEL, A., *et al.* "Differential preference of *Capsicum* spp. cultivars by *Aphis gossypii* is conferred by variation in volatile semiochemistry", **Euphytica**, v. 177, n. 3, p. 299–307, 2011a. DOI: 10.1007/s10681-010-0250-8. .

DA COSTA, J. G., PIRES, E. V., RIFFEL, A., *et al.* **Differential preference of *Capsicum* spp. cultivars by *Aphis gossypii* is conferred by variation in volatile semiochemistry. *Euphytica*. [S.l: s.n.]. , 2011b**

DA S. SANTOS, M., COLNAGO, L. A. "Validação de método quantitativo por RMN de ¹H para análises de formulações farmacêuticas", **Química Nova**, v. 36, n. 2, p. 324–330, 2013. DOI: 10.1590/S0100-40422013000200020. .

DA SILVA, A. A., CARVALHO, R. de C., ANDRADE, M. C., *et al.* "Glandular trichomes

that mediate resistance to green peach aphid in tomato genotypes from the cross between s. Galapagense and s. lycopersicum", **Acta Scientiarum - Agronomy**, v. 41, n. 1, p. 1–8, 2019. DOI: 10.4025/actasciagr.41i1.42704. .

DE CASTRO E CASTRO, B. M., SOARES, M. A., DE ANDRADE JÚNIOR, V. C., *et al.* "Morphological characters of resistant and susceptible Ipomoea batatas genotypes to Tetranychus ludeni (Acari: Tetranychidae)", **Phytoparasitica**, v. 47, n. 4, p. 505–511, 2019. DOI: 10.1007/s12600-019-00752-z. .

DE OLIVEIRA, H. N., BELLON, P. P., LOUREIRO, E. de S., *et al.* "Não-preferência para a oviposição de percevejo-de-renda Vatiga illudens (Hemiptera: Tingidae) por cultivares de mandioca", **Acta Biologica Colombiana**, v. 21, n. 2, p. 447–451, 2016. DOI: 10.15446/abc.v21n2.52021. .

DE OLIVEIRA, M. R. V., LIMA, E. C. L. "Moscas-Branças Na Cultura Da Mandioca No Brasil", **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-Documentos (INFOTECA-E)**, p. 1–74, 2006. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/186094/1/doc186.pdf>.

DENG, Y., LU, S. "Biosynthesis and Regulation of Phenylpropanoids in Plants", **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 36, n. 4, p. 257–290, 2017. DOI: 10.1080/07352689.2017.1402852. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/07352689.2017.1402852>.

DHANYALAKSHMI, K., RAJU Y. SOOLANAYAKANAHALLY, T. R., NATARAJA, K. K. T. and K. N. "Leaf Cuticular Wax, a Trait for Multiple Stress Resistance in Crop Plants", **Abiotic and Biotic Stress in Plants**, 2019. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2011.12.014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1039/C7RA00172J><https://www.intechopen.com/books/advanced-biometric-technologies/liveness-detection-in-biometrics><http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2011.12.014>.

DIABATE, S., MARTIN, T., MURUNGI, L. K., *et al.* "Repellent activity of Cymbopogon citratus and Tagetes minuta and their specific volatiles against Megalurothrips sjostedti", **Journal of Applied Entomology**, v. 37(2), n. 8, p. 180–184, 2008. DOI: 10.1111/jen.12651. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/ne/v37n2/a12v37n2.pdf>.

DICKE, M., BALDWIN, I. T. "The evolutionary context for herbivore-induced plant volatiles:

beyond the “cry for help””, **Trends in Plant Science**, v. 15, n. 3, p. 167–175, 2010. DOI: 10.1016/j.tplants.2009.12.002. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2009.12.002>.

DICKE, M., LORETO, F. "Induced plant volatiles: from genes to climate change", **Trends in Plant Science**, v. 15, n. 3, p. 115–117, 2010. DOI: 10.1016/j.tplants.2010.01.007. .

DICKE, M., VAN LOON, J. J. A. "Multitrophic effects of herbivore-induced plant volatiles in an evolutionary context", **Entomologia Experimentalis et Applicata**, 2000. DOI: 10.1046/j.1570-7458.2000.00736.x. .

DIXIT, G., PRAVEEN, A., TRIPATHI, T., *et al.* "Herbivore-responsive cotton phenolics and their impact on insect performance and biochemistry", **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 20, n. 2, p. 341–351, 2017. DOI: 10.1016/j.aspen.2017.02.002. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aspen.2017.02.002>.

DUDAREVA, N., KLEMPIEN, A., MUHLEMANN, J. K., *et al.* "Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds", **New Phytologist**, v. 198, n. 1, p. 16–32, 2013. DOI: 10.1111/nph.12145. .

DUDAREVA, N., NEGRE, F., NAGEGOWDA, D. A., *et al.* "Plant volatiles: Recent advances and future perspectives", **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 25, n. 5, p. 417–440, 2006. DOI: 10.1080/07352680600899973. .

DUDAREVA, N., PICHERSKY, E. "Metabolic engineering of plant volatiles", **Current Opinion in Biotechnology**, v. 19, n. 2, p. 181–189, abr. 2008. DOI: 10.1016/J.COPBIO.2008.02.011. .

DUNN, W. B., ELLIS, D. I. "Metabolomics: Current analytical platforms and methodologies", **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 24, n. 4, p. 285–294, 2005. DOI: 10.1016/j.trac.2004.11.021. .

EIGENBRODE, S. D., DING, H., SHIEL, P., *et al.* "Volatiles from potato plants infected with potato leafroll virus attract and arrest the virus vector, *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae)", **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 269, n. 1490, p. 455–460, 2002. DOI: 10.1098/rspb.2001.1909. .

EIGENBRODE, S. D., JETTER, R. "Attachment to plant surface waxes by an insect predator", **Integrative and Comparative Biology**, v. 42, n. 6, p. 1091–1099, 2002. DOI: 10.1093/icb/42.6.1091. .

EL-GENGAIHI, S. E., MOHAMMED, M. A., ABOUBAKER, D. H., *et al.* "Chemical, biological and molecular studies on different Citrus species wastes", **Plant Archives**, v. 20, n. March, p. 2773–2782, 2020. .

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, P. e A. "Visão 2030 - o futuro da agricultura brasileira", **Embrapa**, p. 212, 2018. Disponível em: www.embrapa.br/fale-conosco/sac%0Ahttp://www.embrapa.br/futuro.

FAO. **Food Outlook- Biannual report on global food markets - November 2018**. [S.l: s.n.], 2018. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/013/al969e/al969e00.pdf>.

FARRAR, J., POLLOCK, C., GALLAGHER, J. "Sucrose and the integration of metabolism in vascular plants", **Plant Science**, v. 154, n. 1, p. 1–11, 2000. DOI: 10.1016/S0168-9452(99)00260-5. .

FARRÉ-ARMENGOL, G., FILELLA, I., LLUSIÀ, J., *et al.* " β -Ocimene, a Key Floral and Foliar Volatile Involved in Multiple Interactions between Plants and Other Organisms", **Molecules**, v. 22, n. 7, p. 1148, jul. 2017. DOI: 10.3390/molecules22071148. .

FERNANDES ET AL. "Análises de Cenários da Cadeia da Manioca", **Embrapa**, 2017. .

FERNANDES, N. de S., SILVA, F. A. N., ARAGÃO, F. A. S. de, *et al.* "Volatile Organic Compounds Role in Selective Pollinator Visits to Commercial Melon Types", **Journal of Agricultural Science**, v. 11, n. 3, p. 93, 2019. DOI: 10.5539/jas.v11n3p93. .

FIALHO, J. F., VIEIRA, E. A. **Mandioca no Cerrado**. [S.l: s.n.], 2011. Disponível em: <https://www.embrapa.br/documents/1354377/1743416/Mandioca+no+Cerrado+orientações+técnicas.pdf/2df4d240-b1b5-4107-84ed-12f85305ec67?version=1.0>.

FILHO, D. B. F., JÚNIOR, J. A. D. S. "Desvendando os mistérios do coeficiente de correlação de Pearson (r)", **Revista Política Hoje**, v. 18, n. 1, p. 115–146, 2009. .

FOLMER, O., BLACK, M., HOEH, W., *et al.* "DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates", **Molecular Marine Biology and Biotechnology**, v. 3, n. 5, p. 294–299, 1994. DOI: 10.1071/ZO9660275. Disponível em: https://www.mbari.org/wp-content/uploads/2016/01/Folmer_94MMBB.pdf.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **Cassava, a 21st century crop**. [S.l: s.n.], 2013a.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **Save and Grow**. [S.l: s.n.], 2013b.

GIACOMUZZI, V., CAPPELLIN, L., KHOMENKO, I., *et al.* "Emission of Volatile Compounds from Apple Plants Infested with *Pandemis heparana* Larvae, Antennal Response of Conspecific Adults, and Preliminary Field Trial", **Journal of Chemical Ecology**, v. 42, n. 12, p. 1265–1280, 2016. DOI: 10.1007/s10886-016-0794-8. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s10886-016-0794-8>.

GIGOT, C., ONGENA, M., FAUCONNIER, M. L., *et al.* "The lipoxygenase metabolic pathway in plants: Potential for industrial production of natural green leaf volatiles", **Biotechnology, Agronomy and Society and Environment**, v. 14, n. 3, p. 451–460, 2010. .

GLEADOW, R. M., MØLLER, B. L. "Cyanogenic Glycosides: Synthesis, Physiology, and Phenotypic Plasticity", **Annual Review of Plant Biology**, v. 65, n. 1, p. 155–185, 2014. DOI: 10.1146/annurev-arplant-050213-040027. .

GONZALES-VIGIL, E., BIANCHETTI, C. M., PHILLIPS, G. N., *et al.* "Adaptive evolution of threonine deaminase in plant defense against insect herbivores", **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 108, n. 14, p. 5897–5902, 2011. DOI: 10.1073/pnas.1016157108. .

GÜLER, Z., DURSUN, A., ÖZKAN, D. "Volatile Compounds in the Leaf of Plane Tree (*Platanus orientalis*) with Solid Phase Microextraction (SPME) Technique", **International Journal of Secondary Metabolite**, v. 4, n. 1, p. 167–176, 2017. DOI: 10.21448/ijsm.369776. .

HALL, R. D. "Plant metabolomics: From holistic hope, to hype, to hot topic", **New Phytologist**, v. 169, n. 3, p. 453–468, 2006. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2005.01632.x. .

HEUSKIN, S., VERHEGGEN, F. J., HAUBRUGE, E., *et al.* "The use of semiochemical slow-release devices in integrated pest management strategies", **Biotechnology, Agronomy and Society and Environment**, 2011. .

HIJAZ, F., NEHELA, Y., KILLINY, N. "Possible role of plant volatiles in tolerance against Huanglongbing in citrus", **Plant Signaling and Behavior**, v. 11, n. 3, p. 1–12, 2016. DOI: 10.1080/15592324.2016.1138193. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/15592324.2016.1138193>.

HILDEBRANDT, T. M., NUNES NESI, A., ARAÚJO, W. L., *et al.* "Amino Acid Catabolism in Plants", **Molecular Plant**, v. 8, n. 11, p. 1563–1579, 2015. DOI: 10.1016/j.molp.2015.09.005. .

HILKER, M., SCHWACHTJE, J., BAIER, M., *et al.* "Priming and memory of stress responses in organisms lacking a nervous system", **Biological Reviews**, v. 91, n. 4, p. 1118–1133, 2016. DOI: 10.1111/brv.12215. .

HOFFMANN-CAMPO, C. B., NETO, J. A. R., DE OLIVEIRA, M. C. N., *et al.* "Detrimental effect of rutin on *Anticarsia gemmatalis*", **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 41, n. 10, p. 1453–1459, 2006. DOI: 10.1590/S0100-204X2006001000001. .

HUFF, R. M., JASON PITTS, R. "An odorant receptor from *Anopheles gambiae* that demonstrates enantioselectivity to the plant volatile, linalool", **PLoS ONE**, v. 14, n. 11, p. 1–15, 2019. DOI: 10.1371/journal.pone.0225637. .

JACOBSON, A. L., DUFFY, S., SSERUWAGI, P. **Whitefly-transmitted viruses threatening cassava production in Africa. Current Opinion in Virology**. [S.l: s.n.], 2018

JOSÉ EUSTÁQUIO RIBEIRO VIEIRA FILHO, GASQUES, J. G. **Agricultura, transformação produtiva e sustentabilidade**. [S.l: s.n.], 2016.

KANG, Z.-W., LIU, F.-H., ZHANG, Z.-F., *et al.* "Volatile β -Ocimene Can Regulate Developmental Performance of Peach Aphid *Myzus persicae* Through Activation of Defense Responses in Chinese Cabbage *Brassica pekinensis*", **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 708, maio 2018. DOI: 10.3389/fpls.2018.00708. .

KARIYAT, R. R., SMITH, J. D., STEPHENSON, A. G., *et al.* "Non-glandular trichomes of *solanum carolinense* deter feeding by *manduca sexta* caterpillars and cause damage to the gut peritrophic matrix", **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 284, n. 1849, 2017. DOI: 10.1098/rspb.2016.2323. .

KESSELMEIER, J. ., STAUDT, M. "Biogenic Volatile Organic Compounds (VOC): An Overview on Emission, Physiology and Ecology", **Journal of Atmospheric Chemistry**, v. 33, p. 23–88, 1999. DOI: 10.1016/j.atmosenv.2018.01.026. .

KHAN, M. A., BERA, S., GHOSH, R., *et al.* "Leaf cuticular morphology of some angiosperm taxa from the Siwalik sediments (middle Miocene to lower Pleistocene) of Arunachal Pradesh, eastern Himalaya: Systematic and palaeoclimatic implications", **Review of Palaeobotany and**

Palynology, v. 214, p. 9–26, 2015. DOI: 10.1016/j.revpalbo.2014.10.008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.revpalbo.2014.10.008>.

KIM, H. K., CHOI, Y. H., VERPOORTE, R. "NMR-based metabolomic analysis of plants", **Nature Protocols**, v. 5, n. 3, p. 536–549, 2010. DOI: 10.1038/nprot.2009.237. .

KNAGGS, A. R. "The biosynthesis of shikimate metabolites", **Natural Product Reports**, v. 20, n. 1, p. 119–136, 2003. DOI: 10.1039/b100399m. .

KRISHNAN, P., KRUGER, N. J., RATCLIFFE, R. G. "Metabolite fingerprinting and profiling in plants using NMR", **Journal of Experimental Botany**, v. 56, n. 410, p. 255–265, 2005. DOI: 10.1093/jxb/eri010. .

KUMAR, J., PAUL, B., NEBAPURE, S. M., *et al.* "Chemical Science Review and Letters Comparative GC-MS Analysis of two Brassica rapa L. Varieties for Identification of Volatile Compounds", **Chem Sci Rev Lett**, v. 6, n. 22, p. 884–889, 2017. Disponível em: <https://www.xlstat.com>.

LAHIRI, S., REISIG, D. D., REAY-JONES, F. P. F., *et al.* "Soybean Host Plant Resistance to Megacopta cribraria (Hemiptera: Plataspidae) and the Potential Role of Leaf Trichome Density", **Environmental Entomology**, v. 49, n. 1, p. 88–97, 2020. DOI: 10.1093/ee/nvz158. .

LANGE, B. M., RUJAN, T., MARTIN, W., *et al.* "Isoprenoid biosynthesis: The evolution of two ancient and distinct pathways across genomes", **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 97, n. 24, p. 13172–13177, 2000. DOI: 10.1073/pnas.240454797. .

LARISSA C. DE LIMA, A. R. C. "Fatores que Afetam a Oviposição de Bemisia tabaci (Genn.) Biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) em Pimentão", **CROP PROTECTION**, v. 27, n. 2, p. 190–195, 2008. .

LATTANZIO, V., LATTANZIO, V. M. T. ., CARDINALI, and A. **Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insect**. [S.l: s.n.], 2006. v. 10.

ŁAŻNIEWSKA, J., MACIOSZEK, V. K., KONONOWICZ, A. K. "Plant-fungus interface: The role of surface structures in plant resistance and susceptibility to pathogenic fungi", **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 78, p. 24–30, 2012. DOI:

10.1016/j.pmpp.2012.01.004. .

LEE, J. H. J., JAYAPRAKASHA, G. K., AVILA, C. A., *et al.* "Metabolomic studies of volatiles from tomatoes grown in net-house and open-field conditions", **Food Chemistry**, v. 275, n. June 2018, p. 282–291, 2019. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.09.091. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.091>.

LEISS, K. A., CHOI, Y. H., VERPOORTE, R., *et al.* "An overview of NMR-based metabolomics to identify secondary plant compounds involved in host plant resistance", **Phytochemistry Reviews**, v. 10, n. 2, p. 205–216, 2011. DOI: 10.1007/s11101-010-9175-z. .

LI, D., BALDWIN, I. T., GAQUEREL, E. "Navigating natural variation in herbivory-induced secondary metabolism in coyote tobacco populations using MS/MS structural analysis", **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 112, n. 30, p. E4147–E4155, 2015. DOI: 10.1073/pnas.1503106112. .

LI, R., WELDEGERGIS, B. T., LI, J., *et al.* "Virulence factors of geminivirus interact with MYC2 to subvert plant resistance and promote vector performance", **Plant Cell**, v. 26, n. 12, p. 4991–5008, 2014. DOI: 10.1105/tpc.114.133181. .

LI, X., ZHANG, X. ge, XIAO, C., *et al.* "Behavioral responses of potato tuber moth (*Phthorimaea operculella*) to tobacco plant volatiles", **Journal of Integrative Agriculture**, v. 19, n. 2, p. 325–332, 2020. DOI: 10.1016/S2095-3119(19)62663-8. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S2095-3119\(19\)62663-8](http://dx.doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62663-8).

LI, Y., ZHONG, S., QIN, Y., *et al.* "Identification of plant chemicals attracting and repelling whiteflies", **Arthropod-Plant Interactions**, 2014. DOI: 10.1007/s11829-014-9302-7. .

LIMA, W. H., RINGENBERG, R., BARBOSA, R. "BIOLOGIA DA MOSCA-BRANCA *Aleurothrixus aepim* (GOELDI, 1886) EM *Manihot reniformis* POHL", p. 11–14, 2015. .

LIMA, W. H., RINGENBERG, R., FANCELLI, M., *et al.* "Resistance of *Manihot esculenta* and its intraspecific hybrids to the whitefly *Aleurothrixus aepim* (Hemiptera: Aleyrodidae)", **Pesq. agropec. bras.**, n. 8, p. 885–891, 2018. DOI: 10.1590/S0100-204X2018000800002. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/pab/v53n8/1678-3921-pab-53-08-885.pdf>. Acesso em: 24 maio 2019.

LORENZI, J. O., OTSUBO, A. A., MONTEIRO, D. A., *et al.* **Aspectos Fitotécnicos da Mandioca em Mato Grosso do Sul**. [S.l: s.n.], 2002. Disponível em:

<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/38819/1/LV20021.pdf>.

LORETO, F., SCHNITZLER, J. P. "Abiotic stresses and induced BVOCs", **Trends in Plant Science**, v. 15, n. 3, p. 154–166, 2010. DOI: 10.1016/j.tplants.2009.12.006. .

LOUGHRIN, J. H., MANUKIAN, A., HEATH, R. R., *et al.* **VOLATILES EMITTED BY DIFFERENT COTTON VARIETIES DAMAGED BY FEEDING BEET ARMYWORM LARVAE**. **Journal of Chemical Ecology**. [S.l: s.n.], 1995.

MAEDA, H., DUDAREVA, N. "The Shikimate Pathway and Aromatic Amino Acid Biosynthesis in Plants", **Annual Review of Plant Biology**, v. 63, n. 1, p. 73–105, 2012. DOI: 10.1146/annurev-arplant-042811-105439. .

MAFFEI, M. E. "Sites of synthesis, biochemistry and functional role of plant volatiles", **South African Journal of Botany**, v. 76, n. 4, p. 612–631, out. 2010. DOI: 10.1016/J.SAJB.2010.03.003. .

MARCHESE, A. "RESISTÊNCIA À MOSCA-BRANCA E AO ÁCARO-RAJADO MEDIADA POR ACILAÇÚCARES E PELO GENE Mi EM TOMATEIRO", p. 1–63, 2013. Disponível em: [http://repositorio.ufla.br/jspui/bitstream/1/1051/1/TESE_Resistência à mosca-branca....pdf](http://repositorio.ufla.br/jspui/bitstream/1/1051/1/TESE_Resistência%20à%20mosca-branca....pdf).

MARKOVIC, D., GLINWOOD, R., OLSSON, U., *et al.* "Plant response to touch affects the behaviour of aphids and ladybirds", **Arthropod-Plant Interactions**, v. 8, n. 3, p. 171–181, 2014. DOI: 10.1007/s11829-014-9303-6. .

MAURINO, V. G., ENGQVIST, M. K. M. "2-Hydroxy Acids in Plant Metabolism", **The Arabidopsis Book**, v. 13, p. e0182, 2015. DOI: 10.1199/tab.0182. .

MAYO-HERNÁNDEZ, J., RAMÍREZ-CHÁVEZ, E., MOLINA-TORRES, J., *et al.* "Effects of *Bactericera cockerelli* Herbivory on Volatile Emissions of Three Varieties of *Solanum lycopersicum*", **Plants**, v. 8, n. 509, p. 1–10, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6918368/pdf/plants-08-00509.pdf>.

MESQUITA, P. R. R., PENA, L. C., SANTOS, F. N. dos, *et al.* "Mango (*Mangifera indica*) Aroma Discriminate Cultivars and Ripeness Stages", **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 31, n. 7, p. 1424–1433, 2020. DOI: 10.1007/978-1-59259-365-1_17. Disponível em: <http://static.sites.s bq.org.br/jbcs.s bq.org.br/pdf/2019-0416AR.pdf>.

MINORSKY, P. V. "Trigonelline: A diverse regulator in plants.", 2002. .

MIRNEZHAD, M., ROMERO-GONZÁLEZ, R. R., LEISS, K. A., *et al.* "Metabolomic analysis of host plant resistance to thrips in wild and cultivated tomatoes", **Phytochemical Analysis**, v. 21, n. 1, p. 110–117, 2010. DOI: 10.1002/pca.1182. .

MISHYNA, M., LAMAN, N., PROKHOROV, V., *et al.* "Angelicin as the principal allelochemical in heracleum sosnowskyi fruit", **Natural Product Communications**, v. 10, n. 5, p. 767–770, 2015. DOI: 10.1177/1934578x1501000517. .

MITHÖFER, A., BOLAND, W. "Plant Defense Against Herbivores: Chemical Aspects", **Annual Review of Plant Biology**, v. 63, n. 1, p. 431–450, 2012. DOI: 10.1146/annurev-arplant-042110-103854. .

MONTEIRO, J. M., DE ALBUQUERQUE, U. P., DE LIMA ARAÚJO, E., *et al.* "Taninos: Uma abordagem da química à ecologia", **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 892–896, 2005. DOI: 10.1590/s0100-40422005000500029. .

MOREIRA, M. A. B. ., FARIAS, A. R. de;, ALVES, M. C. S. ., *et al.* **Alternativas para o Controle da Mosca-branca**, . [S.l: s.n.], 2006. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/372643/alternativas-para-o-controle-da-mosca-branca-aleurothrixus-aepim-na-cultura-da-mandioca-em-sergipe>.

MÜLLER, C., RIEDERER, M. "Plant surface properties in chemical ecology", **Journal of Chemical Ecology**, v. 31, n. 11, p. 2621–2651, 2005. DOI: 10.1007/s10886-005-7617-7. .

MÜLLER, M. K. and C. "Crosstalk between above- and belowground herbivores is mediated by minute metabolic responses of the host *Arabidopsis thaliana*", **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 2, p. 695–709, 2012. DOI: 10.1093/jxb/err313. .

NAGEGOWDA, D. A. "Plant volatile terpenoid metabolism: Biosynthetic genes, transcriptional regulation and subcellular compartmentation", **FEBS Letters**, v. 584, n. 14, p. 2965–2973, 2010. DOI: 10.1016/j.febslet.2010.05.045. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.febslet.2010.05.045>.

NASELLI, M., ZAPPALÀ, L., GUGLIUZZO, A., *et al.* "Olfactory response of the zoophytophagous mirid *Nesidiocoris tenuis* to tomato and alternative host plants", **Arthropod-Plant Interactions**, v. 11, n. 2, p. 121–131, 2017. DOI: 10.1007/s11829-016-9481-5. .

NAVIA-GINÉ, W. G., YUAN, J. S., MAUROMOUSTAKOS, A., *et al.* "Medicago truncatula (E)- β -ocimene synthase is induced by insect herbivory with corresponding increases in

emission of volatile ocimene", **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 47, n. 5, p. 416–425, 2009. DOI: 10.1016/j.plaphy.2009.01.008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2009.01.008>.

NYADANU, D., AKROMAH, R., ADOMAKO, B., *et al.* "Host plant resistance to Phytophthora pod rot in cacao (*Theobroma cacao* L.): The role of epicuticular wax on pod and leaf surfaces", **International Journal of Botany**, v. 8, n. 1, p. 13–21, 2012. DOI: 10.3923/ijb.2012.13.21. .

OLIVEIRA, D. José de albuquerque. **Análise metabolômica e de metabólitos orgânicos voláteis em plantas de cana-de-açúcar em associação com microrganismos diazotróficos**. 2015. 1–102 f. 2015.

OMONGO, Christopher A, KAWUKI, R., BELLOTTI, A. C., *et al.* "African Cassava Whitefly, *Bemisia tabaci*, Resistance in African and South American Cassava Genotypes", **Journal of Integrative Agriculture**, v. 11, n. 2, p. 327–336, fev. 2012. DOI: 10.1016/S2095-3119(12)60017-3. .

OMONGO, Christopher Abu, NAMUDDU, A., OKAO-OKUJA, G., *et al.* "Occurrence of Bondar's Nesting Whitefly, *Paraleyrodes bondari* (Hemiptera: Aleyrodidae), on cassava in Uganda", **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 62, n. 4, p. 257–259, 2018. DOI: 10.1016/j.rbe.2018.10.001. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rbe.2018.10.001>.

ONKOKESUNG, N., REICHEL, M., VAN DOORN, A., *et al.* "Modulation of flavonoid metabolites in *Arabidopsis thaliana* through overexpression of the MYB75 transcription factor: Role of kaempferol-3,7- dirhamnoside in resistance to the specialist insect herbivore *Pieris brassicae*", **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 8, p. 2203–2217, 2014. DOI: 10.1093/jxb/eru096. .

PASCACIO-VILLAFÁN, C., LAPOINTE, S., WILLIAMS, T., *et al.* "Mixture-Amount Design and Response Surface Modeling to Assess the Effects of Flavonoids and Phenolic Acids on Developmental Performance of *Anastrepha ludens*", **Journal of Chemical Ecology**, v. 40, n. 3, p. 297–306, 2014. DOI: 10.1007/s10886-014-0404-6. .

PASTÓRIO, M. A., HOSHINO, A. T., OLIVEIRA, L. M. de, *et al.* "Cassava Varieties Trichome Density Influence the Infestation of *Vatiga illudens* (Hemiptera: Tingidae)", **Journal of Agricultural Science**, v. 11, n. 17, p. 319, 2019. DOI: 10.5539/jas.v11n17p319. .

PAULO, J., TEIXEIRA, F. "Comunicação entre plantas como estratégia de defesa*", **Instituto**

Agrônomo, Centro de Recursos Genéticos Vegetais, p. 1–20, 2016. Disponível em: jpfeijao@iac.sp.gov.br.

PAYYAVULA, R. S., SHAKYA, R., SENGODA, V. G., *et al.* "Synthesis and regulation of chlorogenic acid in potato: Rerouting phenylpropanoid flux in HQT-silenced lines", **Plant Biotechnology Journal**, v. 13, n. 4, p. 551–564, 2015. DOI: 10.1111/pbi.12280. .

PEÑUELAS, J., LLUSIÀ, J. **The Complexity of Factors Driving Volatile Organic Compound Emissions by Plants**. . [S.l: s.n.]. , 2001

PETERSON, R. K. D., VARELLA, A. C., HIGLEY, L. G. "Tolerance: The forgotten child of plant resistance", **PeerJ**, v. 2017, n. 10, p. 1–16, 2017. DOI: 10.7717/peerj.3934. .

PICHERSKY, E., NOEL, J. P., DUDAREVA, N. "Biosynthesis of plant volatiles: Nature's diversity and ingenuity", **Science**, v. 311, n. 5762, p. 808–811, 2006. DOI: 10.1126/science.1118510. .

PICKETT, J. A., WOODCOCK, C. M., MIDEGA, C. A. O., *et al.* "Push-pull farming systems", **Current Opinion in Biotechnology**, v. 26, n. January, p. 125–132, 2014. DOI: 10.1016/j.copbio.2013.12.006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2013.12.006>.

PIČMANOVÁ, M., NEILSON, E. H., MOTAWIA, M. S., *et al.* "A recycling pathway for cyanogenic glycosides evidenced by the comparative metabolic profiling in three cyanogenic plant species", **Biochemical Journal**, v. 469, n. 3, p. 375–389, 2015. DOI: 10.1042/BJ20150390. .

PIETROWSKI, VANDA., RINGENBERGER, R., RHEINHEIMER, A. R., BELLON, P. P., GAZOLA, D., MIRANDA, A. M. "Insetos-praga da cultura da mandioca na região centro-sul do brasil", p. 5–40, 2010. Disponível em: <http://atividaderural.com.br/artigos/5602f5914fe45.pdf>.

PINTO-ZEVALLOS, D. M., MARTINS, C. B. C., PELLEGRINO, A. C., *et al.* "Compostos orgânicos voláteis na defesa induzida das plantas contra insetos herbívoros", **Química Nova**, v. 36, n. 9, p. 1395–1405, 2013. DOI: 10.1590/S0100-40422013000900021. .

PINTO-ZEVALLOS, D. M., PAREJA, M., AMBROGI, B. G. "Current knowledge and future research perspectives on cassava (*Manihot esculenta* Crantz) chemical defenses: An agroecological view", **Phytochemistry**, v. 130, p. 10–21, 2016. DOI: 10.1016/j.phytochem.2016.05.013. Disponível em:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2016.05.013>.

PIUBELLI, G. C., HOFFMANN-CAMPO, C. B., MOSCARDI, F., *et al.* "Are chemical compounds important for soybean resistance to *Anticarsia gemmatalis*?", **Journal of Chemical Ecology**, v. 31, n. 7, p. 1509–1525, 2005. DOI: 10.1007/s10886-005-5794-z. .

PLAZAS, M., ANDÚJAR, I., VILANOVA, S., *et al.* "Breeding for Chlorogenic Acid Content in Eggplant: Interest and Prospects", **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 41, n. 1, p. 26–35, 2013. DOI: 10.15835/nbha4119036. .

PROFFIT, M., BIRGERSSON, G., BENGTSSON, M., *et al.* "Attraction and Oviposition of *Tuta absoluta* Females in Response to Tomato Leaf Volatiles", **Journal of Chemical Ecology**, v. 37, n. 6, p. 565–574, 2011. DOI: 10.1007/s10886-011-9961-0. .

QUINTANA-RODRIGUEZ, E., MORALES-VARGAS, A. T., MOLINA-TORRES, J., *et al.* "Plant volatiles cause direct, induced and associational resistance in common bean to the fungal pathogen *Colletotrichum lindemuthianum*", **Journal of Ecology**, v. 103, n. 1, p. 250–260, 2015. DOI: 10.1111/1365-2745.12340. .

RAKHA, M., HANSON, P., RAMASAMY, S. "Identification of resistance to *Bemisia tabaci* Genn. in closely related wild relatives of cultivated tomato based on trichome type analysis and choice and no-choice assays", **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 64, n. 2, p. 247–260, 2017. DOI: 10.1007/s10722-015-0347-y. .

REDDY, G. V. . "Plant volatiles mediate orientation and plant preference by the predator *Chrysoperla carnea* Stephens (Neuroptera: Chrysopidae)", **Biological Control**, v. 25, n. 1, p. 49–55, set. 2002. DOI: 10.1016/S1049-9644(02)00038-5. .

RIBEIRO, T. F. L. **Maceió 2015**. 2015. Universidade Federal de Alagoas- UFAL, 2015. Disponível em: [http://www.repositorio.ufal.br/bitstream/riufal/2719/1/Semioquímicos envolvidos na interação cana-de-açúcar versus broca gigante e mandioca versus percevejo-de-renda versus mosca-branca.pdf](http://www.repositorio.ufal.br/bitstream/riufal/2719/1/Semioquímicos%20envolvidos%20na%20interação%20cana-de-açúcar%20versus%20broca%20gigante%20e%20mandioca%20versus%20percevejo-de-renda%20versus%20mosca-branca.pdf).

RIIS, L., BELLOTTI, A. C., BONIERBALE, M., *et al.* "Cyanogenic Potential in Cassava and Its Influence on a Generalist Insect Herbivore *Cyrtomenus bergi* (Hemiptera: Cydnidae)", **Journal of Economic Entomology**, v. 96, n. 6, p. 1905–1914, 2009. DOI: 10.1603/0022-0493-96.6.1905. .

RIM, H., UEFUNE, M., OZAWA, R., *et al.* "An omnivorous arthropod, *Nesidiocoris tenuis*,

induces gender-specific plant volatiles to which conspecific males and females respond differently", **Arthropod-Plant Interactions**, v. 12, n. 4, p. 495–503, 2018. DOI: 10.1007/s11829-018-9612-2. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s11829-018-9612-2>.

SABINO, A. rodrigues. **O metaboloma da cana-de-açúcar (saccharum sp.) na resposta à herbivoria**. 2017. 2017.

SAMANTA, T. D., GHOSH, T., LASKAR, S. "Variation of hydrocarbon constituents of epicuticular wax of leaves of Litchi chinensis Sonn.", **The South Pacific Journal of Natural and Applied Sciences**, v. 31, n. 1, p. 73, 2013. DOI: 10.1071/sp13008. .

SANTOS TOZIN, L. R. dos, DE MELO SILVA, S. C., RODRIGUES, T. M. "Non-glandular trichomes in Lamiaceae and Verbenaceae species: morphological and histochemical features indicate more than physical protection", **New Zealand Journal of Botany**, v. 54, n. 4, p. 446–457, 2016. DOI: 10.1080/0028825X.2016.1205107. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/0028825X.2016.1205107>.

SATO, D., SUGIMOTO, M., AKASHI, H., *et al.* "Comparative metabolite profiling of foxglove aphids (*Aulacorthum solani* Kaltendbach) on leaves of resistant and susceptible soybean strains", **Molecular BioSystems**, v. 10, n. 4, p. 909–915, 2014. DOI: 10.1039/c3mb70595a. .

SCALA, A., ALLMANN, S., MIRABELLA, R., *et al.* "Green leaf volatiles: A plant's multifunctional weapon against herbivores and pathogens", **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 9, p. 17781–17811, 2013. DOI: 10.3390/ijms140917781. .

SCHNEE, C., KOLLNER, T. G., GERSHENZON, J., *et al.* "The Maize Gene terpene synthase 1 Encodes a Sesquiterpene Synthase Catalyzing the Formation of (E)-Farnesene, (E)-Nerolidol, and (E,E)-Farnesol after Herbivore Damage", **Society**, v. 130, n. December, p. 2049–2060, 2002. DOI: 10.1104/pp.008326.the. .

SCHRÖDER, M. L., GLINWOOD, R., WEBSTER, B., *et al.* "Olfactory responses of *Rhopalosiphum padi* to three maize, potato, and wheat cultivars and the selection of prospective crop border plants", **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 157, n. 2, p. 241–253, 2015. DOI: 10.1111/eea.12359. .

SEAB - SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO, DERAL - DEPARTAMENTO DE ECONOMIA RURAL. "Prognóstico Mandioca", p. 19, 2018. Disponível em:

http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/2019/mandioca_2019_v1.pdf.

SEKER, M., EKINCI, N., GÜR, E. "Effects of different rootstocks on aroma volatile constituents in the fruits of peach (*Prunus persica* L. Batsch cv. 'Cresthaven')", **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, v. 45, n. 1, p. 1–13, 2017. DOI: 10.1080/01140671.2016.1223148. .

SHAMEER, K. S., NASSER, M., MOHAN, C., *et al.* "Direct and indirect influences of intercrops on the coconut defoliator *Opisina arenosella*", **Journal of Pest Science**, v. 91, n. 1, p. 259–275, 2018. DOI: 10.1007/s10340-017-0904-6. .

SHERIF, M., BECKER, E. M., HERRFURTH, C., *et al.* "Volatiles emitted from maize ears simultaneously infected with two *Fusarium* species mirror the most competitive fungal pathogen", **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. September2016, p. 1–11, 2016. DOI: 10.3389/fpls.2016.01460. .

SILVA FILHO, B. F. DA. **ANÁLISE DA RESPOSTA ECOLÓGICA DA CANA-DE-AÇÚCAR (*Saccharum* sp) EM RESPOSTA À HERBIVORIA POR *Diatrea saccharalis***. 2014. Universidade Federal de Alagoas, 2014. DOI: 10.1530/EJE-14-0355. Disponível em: <https://eje.bioscientifica.com/view/journals/eje/171/6/727.xml>.

SILVA, K. F. A. S. **RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE TOMATEIRO À *Bemisia tabaci*(GENN.)(HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) BIÓTIPO B**. 2012. Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2012. DOI: 10.1017/CBO9781107415324.004. Disponível em: <http://www.ppgea.ufrpe.br/sites/ppgea.ufrpe.br/files/documentos/karlasilva.pdf>.

SILVA, T. R. F. B., ALMEIDA, A. C. de S., MOURA, T. de L., *et al.* "Efeito do flavonoide rutina na biologia de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)", **Acta Scientiarum - Agronomy**, v. 38, n. 2, p. 165–170, 2016. DOI: 10.4025/actasciagron.v38i2.27956. .

SIMMONDS, M. S. J. "Flavonoid-insect interactions: Recent advances in our knowledge", **Phytochemistry**, v. 64, n. 1, p. 21–30, 2003. DOI: 10.1016/S0031-9422(03)00293-0. .

SINGH, B., SHARMA, R. A. "Plant terpenes: defense responses, phylogenetic analysis, regulation and clinical applications", **3 Biotech**, v. 5, n. 2, p. 129–151, 2015. DOI: 10.1007/s13205-014-0220-2. .

SMEEKENS, S. "SUGAR-INDUCED SIGNAL TRANSDUCTION IN PLANTS", **Plant**

Molecular Biology, p. 49–81, 2000. .

SMITH, C. M., CLEMENT, S. L. "Plant Resistance to Arthropods: Molecular and Conventional Approaches Molecular Bases of Plant Resistance to Arthropods", n. January, 2011. DOI: 10.1007/1-4020-3702-3. .

SONENSHINE, D. E. **Pheromones and other semiochemicals of ticks and their use in tick control. Parasitology.** [S.l: s.n.]. , 2004

SOUZA, A. de, MORAES, M. G. de, FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. de C. L. "Gramíneas do cerrado: carboidratos não-estruturais e aspectos ecofisiológicos", **Acta Botanica Brasilica**, v. 19, n. 1, p. 81–90, 2005. .

STENBERG, J. A., HEIL, M., ÅHMAN, I., *et al.* "Optimizing Crops for Biocontrol of Pests and Disease", **Trends in Plant Science**, v. 20, n. 11, p. 698–712, 2015. DOI: 10.1016/j.tplants.2015.08.007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2015.08.007>.

STOUT, M. J. **Host-Plant Resistance in Pest Management.** [S.l.], Elsevier Inc., 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-398529-3.00002-6>.

STRUCKER, A. **também os genótipos de mandioca que apresentam alto número de tricomas foram menos preferidas para oviposição do ácaro-verde-da-mandioca, Mononychellus tanajoa.** 2016. Universidade Federal de Roraima, 2016.

TAMIRU, A., BRUCE, T. J. A., RICHTER, A., *et al.* "A maize landrace that emits defense volatiles in response to herbivore eggs possesses a strongly inducible terpene synthase gene", **Ecology and Evolution**, v. 7, n. 8, p. 2835–2845, 2017. DOI: 10.1002/ece3.2893. .

TAVARES, S. dos S. **Ecologia Química da Cana-de-açúcar: Caracterização das respostas de defesa em diferentes cultivares de cana-de-açúcar.** 2016. 2016. DOI: 10.1017/CBO9781107415324.004.

TU, H., QIN, Y. "Repellent Effects of Different Celery Varieties in Bemisia tabaci (Hemiptera: Aleyrodidae) Biotype Q", **Journal of economic entomology**, v. 110, n. 3, p. 1307–1316, 2017. DOI: 10.1093/jee/tox110. .

VAN DEN DOOL, H., & DEC. KRATZ, P. "A GENERALIZATION OF THE RETENTION INDEX SYSTEM INCLUDING LINEAR TEMPERATURE PROGRAMMED GAS-LI&UID PARTITION CHROMATOGRAPHY", **JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY**, v. 11, 1963. DOI: 10.1007/978-3-319-70262-9_7. .

VARGAS, A. G. DE, GRACIOLI, B. **SÍNTESE DE 2-OXAZOLINA A PARTIR DA REAÇÃO DOS CIANOCOMPOSTOS ACETONITRILA E BENZONITRILA COM UM AMINOÁLCOOL**. 2013. 2013.

VASSÃO, D. G., GANG, D. R., KOEDUKA, T., *et al.* "Chavicol formation in sweet basil (*Ocimum basilicum*): Cleavage of an esterified C9 hydroxyl group with NAD(P)H-dependent reduction", **Organic and Biomolecular Chemistry**, v. 4, n. 14, p. 2733–2744, 2006. DOI: 10.1039/b605407b. .

VIVALDO, G., MASI, E., TAITI, C., *et al.* "The network of plants volatile organic compounds", **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–18, 2017. DOI: 10.1038/s41598-017-10975-x. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-10975-x>.

WALKER, G. S., RYDER, T. F., SHARMA, R., *et al.* "Validation of Isolated Metabolites from Drug Metabolism Studies as Analytical Standards by Quantitative NMR p p Omeprazole p Caffeine 4 - n i t r o b e n z y l g l u t a t h i o n e", **Drug Metabolism and Disposition**, v. 39, n. 3, p. 433–440, 2011. DOI: 10.1124/dmd.110.036343.inorganic. .

WANG, X. W., LI, P., LIU, S. S. "Whitefly interactions with plants", **Current Opinion in Insect Science**, v. 19, p. 70–75, 2017. DOI: 10.1016/j.cois.2017.02.001. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cois.2017.02.001>.

WANG, Y., WANG, J., CHAI, G., *et al.* "Developmental changes in composition and morphology of cuticular waxes on leaves and spikes of glossy and glaucous wheat (*Triticum aestivum* L.)", **PLoS ONE**, v. 10, n. 10, p. 1–17, 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0141239. .

WASTERNAK, C. "Jasmonates: An update on biosynthesis, signal transduction and action in plant stress response, growth and development", **Annals of Botany**, v. 100, n. 4, p. 681–697, 2007. DOI: 10.1093/aob/mcm079. .

WEISSTEINER, S., HUETTEROTH, W., KOLLMANN, M., *et al.* "Cockchafer Larvae Smell Host Root Scents in Soil", **PLoS ONE**, v. 7, n. 10, 2012. DOI: 10.1371/journal.pone.0045827. .

WHITE, W. L. B., ARIAS-GARZON, D. I., MCMAHON, J. M., *et al.* "Cyanogenesis in Cassava: The Role of Hydroxynitrile Lyase in Root Cyanide Production", **Plant Physiology**, v. 116, n. 4, p. 1219–1225, 1998. DOI: 10.1104/pp.116.4.1219. .

WÓJCICKA, A. "Importance of epicuticular wax cover for plant/insect interactions:

experiment with cereal aphids", **Polish Journal of Ecology**, v. 61, p. 183–186, 2013. .

WRIGHT, M. S., GREENE-MCDOWELLE, D. M., ZERINGUE, H. J., *et al.* "Effects of volatile aldehydes from *Aspergillus*-resistant varieties of corn on *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxin biosynthesis", **Toxicon**, v. 38, n. 9, p. 1215–1223, 2000. DOI: 10.1016/S0041-0101(99)00221-4. .

WU, T. hor, SOLBERG, S. O., YNDGAARD, F., *et al.* "Morphological patterns in a world collection of *Cleome gynandra*", **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 65, n. 1, p. 271–283, 2018. DOI: 10.1007/s10722-017-0529-x. .

YANG, F., DONG, W., ZHANG, X., *et al.* "Volatile-organic compound changes in rose twigs consequent to infection with rose powdery mildew", **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 79, n. 4, p. 596–608, 2019. DOI: 10.4067/S0718-58392019000400596. .

YANG, W., XU, X., LI, Y., *et al.* "Rutin-mediated priming of plant resistance to three bacterial pathogens initiating the early SA signal pathway", **PLoS ONE**, v. 11, n. 1, p. 1–15, 2016. DOI: 10.1371/journal.pone.0146910. .

YOUNG, H. C., TAPIAS, E. C., HYE, K. K., *et al.* "Metabolic discrimination of *Catharanthus roseus* leaves infected by phytoplasma using ¹H-NMR spectroscopy and multivariate data analysis", **Plant Physiology**, v. 135, n. 4, p. 2398–2410, 2004. DOI: 10.1104/pp.104.041012. .

ZARBIN, P. H. G., RODRIGUES, M. A. C. M. ., LIMA, eraldo r. "Quim. Nova," v. 32, n. 3, p. 722–731, 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/qn/v32n3/a16v32n3.pdf>.

ZHANG, P. J., HE, Y. C., ZHAO, C., *et al.* "Jasmonic acid-dependent defenses play a key role in defending tomato against *Bemisia tabaci* nymphs, but not adults", **Frontiers in Plant Science**, v. 9, n. July, p. 1–10, 2018. DOI: 10.3389/fpls.2018.01065. .

ZHANG, P. J., LI, W. Di, HUANG, F., *et al.* "Feeding by Whiteflies Suppresses Downstream Jasmonic Acid Signaling by Eliciting Salicylic Acid Signaling", **Journal of Chemical Ecology**, v. 39, n. 5, p. 612–619, 2013. DOI: 10.1007/s10886-013-0283-2. .

ZHANG, P. J., ZHENG, S. J., VAN LOON, J. J. A., *et al.* "Whiteflies interfere with indirect plant defense against spider mites in Lima bean", **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 106, n. 50, p. 21202–21207, 2009. DOI: 10.1073/pnas.0907890106. .

ZHANG, W. F., GONG, Z. H., WU, M. B., *et al.* "Integrative comparative analyses of

metabolite and transcript profiles uncovers complex regulatory network in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit undergoing chilling injury", **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–13, 2019. DOI: 10.1038/s41598-019-41065-9. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-41065-9>.

ZHANG, X., SUN, X., ZHAO, H., *et al.* "Phenolic compounds induced by *Bemisia tabaci* and *Trialeurodes vaporariorum* in *Nicotiana tabacum* L. and their relationship with the salicylic acid signaling pathway", **Arthropod-Plant Interactions**, v. 11, n. 5, p. 659–667, 2017. DOI: 10.1007/s11829-017-9508-6. .

ZINSOU, V., WYDRA, K., AHOHUENDO, B., *et al.* "Leaf waxes of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) in relation to ecozone and resistance to *Xanthomonas* blight", **Euphytica**, v. 149, n. 1–2, p. 189–198, 2006. DOI: 10.1007/s10681-005-9066-3. .