

**Estudo Comparativo entre os Constituintes Voláteis
Liberados por Machos *Ceratitis Capitata* e
Anastrepha obliqua (Diptera: Tephritidae) e seus
Frutos Hospedeiros Preferencial *Averrhoa carambola*
L. e Secundário, *Carica papaya* L.**

Carlos Eduardo da Silva

**MACEIÓ-AL
Outubro-2005**

CARLOS EDUARDO DA SILVA

Orientadora:

Ruth Rufino do Nascimento

Profa. Ruth Rufino do Nascimento

Departamento de Química/UFAL

Banca Examinadora.

Titulares:

Prof. Dr. Fernando Antônio Cavalcante de Mendonça

Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais/UNEB

Edson de Souza Bento

Prof. Dr. Edson de Souza Bento

Departamento de Química/UFAL

Edleide Leite da Silva.

Dr^a Edleide Leite da Silva

Departamento de Química/UFAL

Suplente:

Prof^a Dr^a Fabiane Caxico de Abreu

Departamento de Química/UFPE

AGRADECIMENTOS



A **Deus**, pelo dom da vida e por me mostrar que nem tudo aquilo que pensei como adequado para mim correspondia ao projeto de sucesso que Ele havia me reservado;

Aos meus **Pais e familiares** por sempre me apoiarem nos meus estudos;

À **Universidade Federal de Alagoas** pela oportunidade de poder alcançar esse objetivo;

À **CAPES**, pela concessão de bolsa de estudos;

À **FAPEAL** pelo financiamento da pesquisa com moscas-das-frutas;

À professora **Dra. Ruth Rufino do Nascimento** da Universidade Federal de Alagoas, por me acolher em seu laboratório desde a graduação, pela confiança em mim depositada, pela orientação e exemplo de profissionalismo, além da amizade;

Ao professor da Universidade Federal de Alagoas **Dr. Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana**, pelo constante apoio a mim e ao Laboratório de Química Entomológica, em especial ao trabalho com moscas-das-frutas;

À **Usina Utinga Leão** e à **Rio Verde Plantas Frutíferas**, pelo fornecimento de material biológico e pela confiança neste trabalho;

Ao professor da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz **Dr. Roberto Antônio Zucchi**, pela identificação taxonômica dos insetos utilizados neste estudo;

Aos funcionários da Universidade Federal de Alagoas: **José Joubert Gonçalves de Alencar**, pela colaboração na coleta de material biológico, e também pela amizade e **Aldy dos Santos**, pela confecção e reparo de artefatos em vidro, pelo constante apoio e amizade;

À minha amiga e companheira de laboratório **Adriana de Lima Mendonça**, pelo apoio constante e por me acompanhar e auxiliar na elaboração dos gráficos e na realização dos experimentos ou quando da redação deste trabalho;

À **Gláucia Barretto Gonçalves** e **Jeinny Christine Gomes dos Santos**, pela amizade, por permitirem que eu dividisse com as mesmas a responsabilidade sobre o Projeto de moscas-das-frutas e pela paciência na transmissão de seus conhecimentos relacionados às moscas-das-frutas;

À **Maria do Rosário Tenório de Freitas**, pela grande amizade, colaboração e sugestões durante todo o período em que trabalhamos juntos;

À **Edleide Leite da Silva**, pelo constante apoio aos trabalhos desenvolvidos no Laboratório de Química Entomológica;

À aluna de mestrado **Eunice Soares dos Santos**, pela contribuição aos trabalhos com moscas-das-frutas durante a época da graduação, e também pela amizade;

À minha namorada **Thaís Maynart Sangreman Moura**, por compreender a importância que este trabalho tem para mim e por me acompanhar e ajudar em minhas idas ao laboratório durante os finais de semana;

A todos os **colegas** e **amigos** do Curso de Pós-graduação em Química e Biotecnologia (Ana Lucila, Maria Emília, James Romero, Walfrido Bispo, Daniel, Carol, José Rui Reys , Natália Velásquez, Brancilene Araújo,.....) pela amizade e pelo auxílio que em algum momento, ainda que não lembrem, me prestaram;

E a todos os **professores** e **funcionários** do Curso de Pós-graduação em Química e Biotecnologia - UFAL.

ÍNDICE



LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	iv
RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
3. REVISÃO DE LITERATURA	5
3.1. As moscas-das-frutas da família Tephritidae	5
3.2. Frutos hospedeiros em estudo	12
3.2.1. Fruto hospedeiro preferencial: Carambola - <i>Averrhoa carambola</i> L.	13
3.2.2. Fruto hospedeiro alternativo: Mamão - <i>Carica papaya</i> L.	14
3.3. Compostos químicos como mediadores de sinais	16
3.4. Extração, isolamento e identificação de feromônios de insetos	19
3.5. Feromônios na família Tephritidae	23
3.6. Extração, isolamento e identificação de voláteis de frutos	27

4. MATERIAL E MÉTODOS	30
4.1. Obtenção de material biológico	30
4.1.1. Obtenção dos Insetos	30
4.1.2. Frutos para bioensaios, reprodução dos insetos e aerações	32
4.2. Manutenção dos insetos em laboratório	32
4.3. Bioensaios de preferência de frutos por fêmeas de <i>C. capitata</i>	32
4.4. Obtenção dos extratos	33
4.1. Obtenção dos extratos de frutos	33
4.2. Obtenção dos extratos de insetos	35
4.5. Identificação dos constituintes voláteis presentes nos extratos	36
4.5.1. Identificação dos constituintes voláteis de frutos	36
4.5.2. Identificação dos constituintes voláteis liberados pelos insetos	37
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1. Bioensaios realizados em condições de laboratório	38
5.1.1. Preferência de <i>C. capitata</i> frente aos frutos de mamão e carambola	38
5.1.2. Padrão diário de liberação de feromônio	39
5.1.3. Identificação dos constituintes químicos presentes nos extratos de aeração de machos de <i>C. capitata</i> em diferentes intervalos do período fotofásico.	40
5.2. Análise química dos constituintes voláteis dos frutos de mamão	42
5.2.1. Compostos voláteis presentes em extratos obtidos em adsorvente carvão ativo	42
5.2.1.1. Variedade formosa	43
5.2.1.1.1. Frutos maduros intactos	43
5.2.1.1.2. Frutos maduros danificados	44
5.2.1.2. Variedade Havaí	45
5.2.1.2.1. Frutos maduros intactos	45
5.2.1.2.2. Frutos maduros danificados	46

5.2.2. Compostos voláteis presentes em extratos obtidos em adsorvente Tenax®	47
5.2.2.1. Variedade formosa	48
5.2.2.1.1. Frutos maduros intactos- Tenax®	48
5.2.2.1.2. Frutos maduros danificados- Tenax®	49
5.2.2.2. Variedade Havaí	50
5.2.2.2.1. Frutos maduros intactos- Tenax®	50
5.2.2.2.2. Frutos maduros danificados- Tenax®	51
5.3. Análise química dos constituintes voláteis liberados pelos insetos em chamamento.	55
5.3.1. Compostos voláteis presentes em extratos obtidos por aeração de machos de <i>C. capitata</i> em chamamento cujas larvas infestavam frutos de mamão	55
5.3.2. Compostos voláteis presentes em extratos obtidos por aeração de machos de <i>A. obliqua</i> em chamamento cujas larvas infestavam frutos de mamão	57
6. CONCLUSÕES.	60
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	62
8. APÊNDICES.	74

LISTA DE FIGURAS



Figura	Descrição	Página
1	Larvas de <i>C. capitata</i> em fruto de mamão.	6
2	Pupários de <i>C. capitata</i> (Adaptado de Walder, 2000).	6
3	Macho e fêmea de <i>Ceratitis capitata</i> .	7
4	Macho e fêmea de <i>Anastrepha obliqua</i> .	8
5	Frutos de carambola no estágio maduro.	14
6	Mamoeiro em pomar comercial	15
7	Fruto de mamão -variedade Havaí.	15
8	Esquema da classificação dos compostos químicos envolvidos na comunicação entre os insetos.	18
9	Representação esquemática de um cromatógrafo gasoso.	22
10	Compostos voláteis liberados por machos de <i>C. capitata</i> e identificados por JACOBSON <i>et al.</i> (1973).	24
11	Compostos voláteis liberados por machos de <i>C. capitata</i> que apresentam proporção majoritária.	24

12	Compostos identificados em extratos obtidos a partir de machos do gênero <i>Anastrepha</i> .	25
13	Compostos voláteis presentes em extratos de glândulas salivares e liberados por machos de <i>A. fraterculus</i> em chamamento.	26
14	Isômeros do farneseno	26
15	Mono- e sesquiterpenos encontrados em <i>A. suspensa</i> e <i>A. ludens</i> .	27
16	Compostos majoritários identificados em extratos de frutos de carambola.	28
17	Compostos majoritários identificados em extratos de frutos de mamão.	29
18	Frutos infestados coletados para obtenção de larvas.	31
19	Larva de <i>C. capitata</i> no interior do fruto.	31
20	Gaiolas de vidro nas quais foram mantidos os insetos adultos.	32
21	Esquema do sistema utilizado para aeração de frutos.	34
22a e 22b	Sistemas de aeração utilizados na extração dos compostos voláteis liberados pelos frutos de mamão.	34
23	Diagrama esquemático do sistema empregado na coleta dos compostos voláteis liberados por machos em chamamento de <i>C. capitata</i> e <i>A. obliqua</i> .	35
24	Média do número de visitas realizadas por fêmeas acasaladas de <i>C. capitata</i> aos frutos preferencial (carambola) e alternativo (mamão).	39
25	Constituintes voláteis dos extratos da aeração de machos de <i>C. capitata</i> no intervalo de 6:00 às 9:00 h.	41
26	Constituintes voláteis dos extratos da aeração de machos de <i>C. capitata</i> no intervalo de 9:00 às 12:00 h.	41
27	Constituintes voláteis dos extratos da aeração de machos de <i>C. capitata</i> no intervalo de 12:00 às 15:00 h.	42
28	Cromatograma referente ao extrato de mamão, variedade formosa maduro intacto tendo o carvão ativo como adsorvente.	44

29	Cromatograma referente ao extrato de mamão, variedade formosa maduro danificado, tendo carvão ativo como adsorvente.	45
30	Cromatograma referente ao extrato de mamão, variedade havaí maduro intacto, tendo carvão ativo como adsorvente.	46
31	Cromatograma referente ao extrato de mamão, variedade havaí maduro danificado, tendo carvão ativo como adsorvente.	47
32	Cromatograma referente ao extrato de mamão, variedade formosa maduro intacto, tendo o Tenax® como adsorvente.	49
33	Cromatograma referente ao extrato de mamão, variedade formosa maduro danificado, tendo o Tenax® como adsorvente.	49
34	Cromatograma referente ao extrato de mamão, variedade havaí maduro intacto, tendo o Tenax® como adsorvente.	51
35	Cromatograma referente ao extrato de mamão, variedade havaí maduro danificado, tendo o Tenax® como adsorvente.	52
36	Cromatograma dos constituintes voláteis liberados por machos de <i>Ceratitis capitata</i> cujas larvas se alimentaram da polpa de mamão.	56
37	Cromatograma dos constituintes voláteis liberados por machos de <i>Anastrepha obliqua</i> cujas larvas se alimentaram da polpa de mamão.	58

LISTA DE TABELAS



Tabela	Descrição	Página
1	Plantas hospedeiras de <i>C. capitata</i> relatadas no Brasil	9
2	Plantas hospedeiras de <i>A. obliqua</i> conhecidas no Brasil	11
3	Compostos similares identificados nos extratos de frutos de mamão das variedades formosa e havaí, tendo o carvão ativo como adsorvente.	43
4	Compostos identificados nos extratos da variedade formosa maduro intacto, em adsorvente carvão ativo.	44
5	Compostos identificados nos extratos da variedade formosa maduro danificado e adsorvidos em carvão ativo.	45
6	Compostos identificados nos extratos da variedade havaí maduro intacto, tendo carvão ativo como adsorvente.	46
7	Compostos identificados nos extratos da variedade havaí maduro danificado, tendo carvão ativo como adsorvente.	47
8	Compostos similares identificados nos extratos de frutos de mamão das variedades formosa e havaí, tendo o Tenax® como adsorvente.	48
9	Compostos identificados nos extratos da variedade formosa maduro intacto, tendo o Tenax® como adsorvente.	49

10	Compostos identificados nos extratos da variedade formosa maduro danificado, tendo o Tenax® como adsorvente.	50
11	Compostos identificados nos extratos da variedade havaí maduro intacto, tendo o Tenax® como adsorvente.	51
12	Compostos identificados nos extratos da variedade havaí maduro danificado, tendo o Tenax® como adsorvente.	53
13	Compostos identificados nos extratos de machos de <i>C. capitata</i> em chamamento cujas larvas se alimentaram da polpa de mamão.	57
14	Compostos identificados nos extratos de machos de <i>Anastrepha obliqua</i> em chamamento cujas larvas se alimentaram da polpa de mamão.	58

RESUMO



Os machos de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) liberam uma mistura complexa de constituintes químicos para atrair machos e fêmeas coespecíficos (feromônio de agregação). Nas espécies de moscas-das-frutas, pertencentes ao gênero *Bactrocera*, os machos utilizam os constituintes químicos presentes no hospedeiro do qual se alimentam como parte do seu feromônio de agregação. Diante desta evidência, foram realizados estudos, objetivando verificar se existe influência entre os constituintes químicos liberados por frutos hospedeiros preferencial, *Averrhoa carambola* L. (Oxalidaceae) e alternativo, *Carica papaya* L. (Caricaceae) na composição química dos odores liberados por machos de *Ceratitidis capitata* e *Anastrepha obliqua*, cujas larvas se alimentaram destes hospedeiros. Além disto, buscou-se verificar ainda, se havia uma relação entre o horário de pico de chamamento e a quantidade de constituintes voláteis liberados por machos de *C. capitata* em chamamento.

Os constituintes voláteis liberados por machos das duas espécies, em chamamento, e por seus hospedeiros maduros, foram extraídos pelo emprego da técnica de aeração, utilizando Tenax[®] e carvão ativado como adsorventes e posteriormente dessorvidos em *n*-hexano.

Os resultados demonstraram que constituintes químicos presentes exclusivamente em extratos de aeração de mamão foram encontrados também nos extratos obtidos pela aeração de machos de *C. capitata* e *A. obliqua*, destacando-se dentre estes compostos, o citronelal, o qual não havia sido detectado nos extratos de carambola, tampouco nos extratos dos insetos cujas larvas se alimentaram deste fruto, demonstrando que compostos ingeridos pela larva podem também ser empregados por machos de moscas das frutas como parte da mistura feromonal. O período compreendido entre as 6h00 e 9h00, que corresponde ao período no qual a maioria dos machos de *C. capitata* exhibe comportamento de chamamento e corte é aquele em que os extratos obtidos apresentam uma maior diversidade de compostos, sendo este o melhor período do dia para a coleta de voláteis liberados por machos desta espécie.



ABSTRACT

Males of fruit flies (Diptera: Tephritidae) release a complex blend of chemical constituents to attract co-specific males and females (aggregation pheromone). Males fruit fly from the genus *Bactrocera* use chemicals acquired from their host by feeding as part of their aggregation pheromone. Considering this information, studies were carried out aiming to find out if the chemical constituents released by preferential, *Averrhoa carambola* L. (Oxalidaceae) and alternative, *Carica papaya* L. (Caricaceae) fruit hosts, whose fruit fly larvae fed on these fruits, exert any influence in the chemical composition of the odours released by calling males of *Ceratitis capitata* and *Anastrepha obliqua*. In addition, a correlation between the time when the majority of *C. capitata* males displayed the calling behaviour and the amount of chemical constituents released by them was also studied.

The volatile constituents released by calling males of the two fruit fly species and their mature host fruits were extracted by means of headspace technique using Tenax[®] and activated charcoal as adsorbents and desorptions were carried out by use of HPLC grade *n*-hexane.

The results demonstrated that the chemicals found exclusively in papaya fruits were also present in extracts of *C. capitata* and *A. obliqua* calling males, including linalol, which was not found amongst the volatiles released by starfruits and also in extracts of fruit flies whose larvae fed on this fruit, showing that the volatile compounds ingested by these insects at the larval stage may be used by adults as part of their sex pheromone bouquet. The time period which ranges from 6h00 to 9h00, which corresponds to the period when most males of *C. capitata* display courtship and calling behaviours was the time when the obtained extracts presented the most complex mixture of compounds and thus, it was considered the best time of day for collection of volatiles released by males of this species.

1. INTRODUÇÃO



O Brasil tem na agricultura uma das principais fontes de divisas e vem apresentando, a cada ano, consideráveis índices de crescimento nas exportações de produtos de origem agropecuária que fazem parte da pauta de exportações. O agronegócio brasileiro foi responsável por US\$ 26,7 bilhões em exportações no ano de 2004, sendo a soja e seus derivados, o açúcar, o frango, o café e a carne os cinco principais produtos (www.agricultura.gov.br).

A fruticultura também responde por uma parcela significativa do que é exportado pelo Brasil. Segundo dados do Instituto de Economia Agrícola - IEA, em 2004 o Brasil exportou o equivalente a US\$ 370 milhões em frutas frescas, valor que representa um aumento de cerca de 10% em relação ao ano de 2003.

Os mercados europeu e norte americano foram os que mais contribuíram para que essa marca fosse atingida. São mercados bastante exigentes que impõem diversas barreiras ao comércio de produtos agropecuários devido a questões sanitárias relacionadas a pragas e doenças, as quais podem ser introduzidas em áreas isentas das mesmas. As barreiras quarentenárias impostas pelos mercados consumidores de frutas estão associadas principalmente às moscas-das-frutas, em especial, as da família Tephritidae.

Mundialmente elas representam o maior obstáculo ao livre trânsito de frutas no comércio internacional. Esse obstáculo é a causa de prejuízos da ordem de US\$ 2

bilhões anuais, segundo estimativas do Departamento de Alimentação e Agricultura da Califórnia (DUARTE & MALAVASI, 2000).

Os danos aos frutos devem-se à postura de ovos por fêmeas acasaladas ou não, no interior dos mesmos. A oviposição na maioria das vezes provoca deformações na pele, prejudicando o aspecto visual dos frutos e conseqüentemente uma redução do valor de mercado, bem como favorece a entrada de microrganismos fitopatogênicos através do orifício deixado pela inserção do ovipositor da fêmea. Já as larvas que eclodem dos ovos fecundados passam a se alimentar da polpa, danificando os tecidos e tornando o fruto impróprio para o consumo *in natura* ou mesmo para o beneficiamento e industrialização.

Várias medidas fitossanitárias ou tratamentos quarentenários são exigidos pelos mercados consumidores e representam altos custos aos produtores, podendo até inviabilizar a comercialização das frutas. A exemplo disto podem ser citados como medidas quarentenárias, os tratamentos pós-colheita com utilização de radiação gama, o tratamento térmico ou o tratamento químico (MALAVASI, 2000). O uso de defensivos químicos tem se caracterizado como uma alternativa inviável em muitos casos, visto que outra exigência dos mercados se refere à isenção de produtos / resíduos químicos, visando uma melhor qualidade dos frutos e redução dos riscos à saúde de quem os consomem.

Diante deste panorama, é necessária a busca de ferramentas que auxiliem no combate a esses insetos-praga. Metodologias como o controle biológico, liberação de machos estéreis no campo (Técnica do macho estéril), o uso de armadilhas com inseticidas e de algumas técnicas de manejo das culturas, como o ensacamento dos frutos para se evitar o acesso dos insetos, têm sido amplamente empregadas obtendo-se alguns resultados positivos.

Entretanto, o uso de armadilhas químicas na maioria dos casos, se constitui num problema de ordem ecológica, mesmo sendo menor quando se comparado ao uso de defensivos por pulverização, devido à ação não específica do atraente utilizado, a exemplo das que utilizam proteína hidrolisada. Assim, quando armadilhas são dispostas em um pomar, com o intuito de se eliminar / controlar uma determinada praga, outros insetos, incluindo-se os benéficos – como os polinizadores -, são igualmente atraídos e conseqüentemente aniquilados.

As pesquisas envolvendo atraentes específicos, tais como prováveis candidatos a feromônios de moscas-das-frutas, embora sejam complexas e dependam de uma série de fatores biológicos e ambientais, representam a possibilidade de se encontrar uma alternativa viável sob os pontos de vista econômico e ecológico para as culturas de frutas, visto que seriam reduzidos os gastos e o uso de pesticidas e provocariam menos impacto negativo ao meio ambiente e a outras espécies de insetos úteis.

Vários grupos de pesquisa em todo o mundo têm se dedicado a essa questão, resultando na elaboração e publicação de vários trabalhos. Mas é necessário que os estudos nessa área sejam aprofundados a fim de que as dúvidas relacionadas à segurança e à eficácia do uso de atraentes e/ou feromônios sintéticos sejam equacionadas.

Diante do exposto, o presente estudo objetivou identificar os compostos presentes em frutos hospedeiros de moscas-das-frutas, *Ceratitis capitata* e *Anastrepha obliqua*, e a relação destes com os voláteis liberados por estes insetos face à aquisição de metabólitos secundários de plantas durante o período larval dos mesmos.

2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS



Os objetivos específicos deste trabalho foram:

1. Avaliar a preferência de frutos diferentes – hospedeiros preferencial e alternativo, por parte de fêmeas de *C. capitata* acasaladas;
2. Verificar possíveis alterações na mistura de constituintes voláteis liberados por *C. capitata* em diversos horários durante o fotoperíodo;
3. Identificar os compostos voláteis liberados por duas variedades do fruto hospedeiro alternativo *Carica papaya* (mamão);
4. Identificar os compostos voláteis contidos na mistura liberada por machos de *C. capitata* e *A. obliqua* em chamamento obtidos em laboratório a partir do fruto hospedeiro alternativo mamão;
5. Verificar possíveis relações entre a composição dos extratos dos frutos hospedeiros obtidos por aeração e a composição das misturas de voláteis liberadas por *C. capitata* e *A. obliqua*.

3. REVISÃO DE LITERATURA



3.1. As moscas-das-frutas da família Tephritidae.

As moscas-das-frutas pertencentes à família Tephritidae compreendem cerca de 4.400 espécies agrupadas em 484 gêneros os quais se apresentam amplamente distribuídos por todo mundo, tendo maior diversidade na região tropical, sendo considerada a mais importante família de moscas de relevância econômica na agricultura (www.sel.barc.usda.gov/diptera/tephriti/tephriti.htm). Seis gêneros da família Tephritidae merecem destaque como pragas na agricultura mundial – *Anastrepha*, *Ceratitis*, *Bactrocera*, *Dacus*, *Rhagoletis*, e *Toxotrypana* (MALAVASI *et al.*, 2000). As espécies de importância econômica no Brasil pertencem a quatro gêneros: *Anastrepha*, *Ceratitis*, *Bactrocera* e *Rhagoletis*. Destes gêneros, dois são representados por apenas uma espécie, cada: *Ceratitis capitata* (Wiedemann) também conhecida como mosca-do-mediterrâneo e *Bactrocera carambolae* (Drew & Hancock) (ZUCCHI, 2000a).

São insetos holometábolos, ou seja, apresentam metamorfose completa com estágios de ovo, larva (**figura 1**), pupa (**figura 2**) e adulto (**figuras 3 e 4**), podendo este atingir idades entre 161 e 269 dias dependendo das condições do ambiente, como observado para *A. fraterculus* (LIMA *et al.*, 1994; SALLES, 2000).



Figura 1. Larvas de *C. capitata* em fruto de mamão.



Figura 2. Pupários de *C. capitata*.

O gênero *Ceratitidis* está distribuído em quase todas as áreas tropicais e temperadas quentes do mundo compreendendo cerca de 65 espécies estando a maioria delas presente na África. A única espécie representante do gênero no Brasil, *C. capitata*, foi introduzida no país há aproximadamente 100 anos e é considerada como a mais prejudicial, cosmopolita e invasora dentre todos os tefritídeos (MALAVASI *et al.*, 2000; PUCHE *et al.*, 2005; ZUCCHI, 2000c). O grau de importância desta espécie refere-se à sua polifagia e à severidade com a qual ataca seus hospedeiros.

Os machos e fêmeas de *C. capitata* (**figura 3**) medem de 4 a 5 mm de comprimento e 10 a 12 mm de envergadura, apresentam coloração castanho-escuro com manchas brancas simétricas na região dorsal do tórax (WEENS JR, 1981). As asas são transparentes, com algumas manchas escuras na parte basal e algumas faixas amarelo-castanho na parte distal (ZUCCHI, 2000c). O abdome é amarelado e apresenta duas faixas transversais mais claras e tal como em espécies de *Anastrepha*, as fêmeas de *C. capitata* apresentam uma modificação no último segmento, a qual serve como caráter distintivo de dimorfismo sexual e que envolve o acúleo.

A espécie *C. capitata* tem seu padrão de desenvolvimento afetado por fatores ambientais. WEENS JR (1981) observou que o ciclo de vida (estágio de ovo até a fase adulta) desta espécie variava entre 19 e 34 dias e que a exibição dos comportamentos de corte por parte dos machos e de oviposição pelas fêmeas atingiram valores máximos entre o 11º e o 13º dias de emergência dos adultos (GONÇALVES, 2005). Assim sendo, os níveis populacionais de *C. capitata* e de outros tefritídeos sofrem influência de fatores como a temperatura, insolação, precipitação pluviométrica, umidade relativa e velocidade do vento (GARCIA & CORSEUIL, 1999).

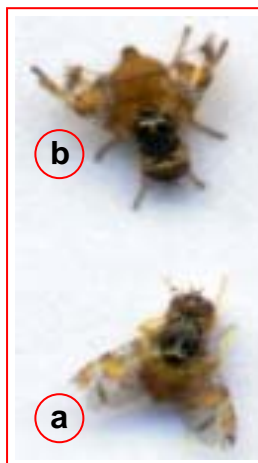


Figura 3. Macho (a) e fêmea (b) de *Ceratitís capitata*.

O gênero *Anastrepha* abriga cerca de 195 espécies no mundo, distribuídas principalmente na América do Sul e em parte das Américas Central e do Norte - México, sul do Texas e centro sul da Flórida (MALAVASI *et al.*, 2000). No Brasil, o gênero agrupa 94 espécies, das quais sete são freqüentemente citadas como economicamente importantes para a agricultura: *Anastrepha fraterculus* (Wied.), *Anastrepha sororcula* Zucchi, *Anastrepha obliqua* (Macquart), *Anastrepha zenildae* Zucchi, *Anastrepha grandis* (Macquart), *Anastrepha striata* Schiner e *Anastrepha pseudoparallela* (Loew) (ZUCCHI, 2000b).

Os adultos de *A. obliqua* apresentam coloração amarelada (**Figura 4**) e as dimensões do corpo são em torno de 7 mm de comprimento por cerca de 15 mm de envergadura (NASCIMENTO, 1997; WEENS JR. *et al.*, 2001).

A face dorsal do tórax é de cor castanho amarelada e apresenta três faixas longitudinais amarelo claras (ZUCCHI, 2000a). No último segmento torácico existem duas estreitas faixas negras (ZUCCHI, 1988) atrás do ponto de inserção das asas (DA CRUZ *et al.*, 2000). As asas são transparentes e possuem três faixas amarelas sombreadas de preto, das quais uma é em forma de “V”, outra que se assemelha a um “S” e a outra que cobre todo o bordo anterior da base da asa e chama-se faixa costal (ALUJA, 1994; ZUCCHI, 2000a).

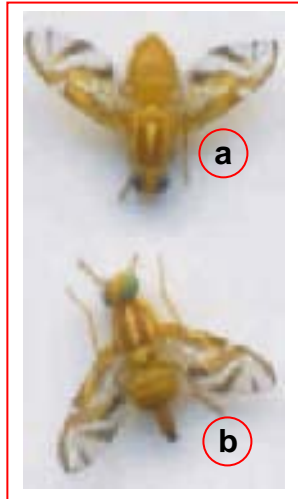


Figura 4. Macho (a) e fêmea (b) de *Anastrepha obliqua*.

O abdome possui sete segmentos, nas fêmeas, e seis nos machos. Nas fêmeas, o último segmento abdominal é modificado em um apêndice tubular, formando a bainha do ovipositor a qual serve como principal caracter distintivo sexual. Internamente existe uma membrana eversível e ligada a ela tem-se uma haste esclerotizada que contém a abertura do oviduto. A esta haste dá-se o nome acúleo ou ovipositor que, no caso das espécies de *Anastrepha*, se constitui como principal caráter para identificação das espécies, devido a pequenas diferenças no formato de seu ápice (ALUJA, 1994; DA CRUZ *et al.*, 2000; ZUCCHI, 2000a).

O ciclo de vida de *A. obliqua*, dependendo das condições do ambiente, varia de 23 a 56 dias, seguido por um período de maturação sexual variando entre 7 e 30 dias, que nas fêmeas é chamado de período de pré-oviposição. Nos machos, o comportamento de chamamento foi observado por GONÇALVES (2005) a partir do 7º dia perdurando até o 21º após a emergência do adulto. As fêmeas de *A. obliqua* depositam os ovos individualmente (LIEDO *et al.*, 1992), geralmente, em frutos verdes totalmente desenvolvidos (WEENS JR. *et al.*, 2001, GONÇALVES, 2005). LIEDO *et al.* (1992) também caracterizaram *A. obliqua* como uma espécie de período reprodutivo muito concentrado, iniciando a oviposição aos 10 dias de vida adulta e diminuindo nitidamente aos 40 dias.

Os frutos que servem como sítios de oviposição para moscas-das-frutas têm sido objeto de estudo de diversos autores sob os mais variados aspectos, desde o relato das espécies de frutos onde estas são encontradas até sobre os fatores

nutricionais dos mesmos quando relacionados à influência destes no desenvolvimento de atividades ou na fisiologia desses insetos (CAMARGO *et al.*, 1996; LANDOLT, 1997; SUGAYAMA *et al.*, 1997; ZUCCHI, 2000b; GONÇALVES, 2001; ROBACKER & FRASER, 2002; FONTELLAS-BRANDALHA, 2004; GONÇALVES, 2005;).

Para *C. capitata* são registradas cerca de 370 espécies hospedeiras em todo o mundo. No Brasil, um levantamento feito por ZUCCHI (2000c) registra a presença em 57 espécies de frutos de 21 famílias, como pode ser observado na **tabela 1**.

TABELA 1. Plantas hospedeiras de *C. capitata* relatadas no Brasil (Adapt. de GONÇALVES, 2001)

Família	Espécie	Nome popular
Anacardiaceae	<i>Anacardium occidentale</i>	caju
	<i>Mangifera indica</i>	manga*
	<i>Spondias dulcis</i>	cajá
	<i>Spondias purpurea</i>	sirigüela
	<i>Spondias venulosa</i>	cajá-mirim
Annonaceae	<i>Annona muricata</i>	graviola
Caricaceae	<i>Carica papaya</i>	mamão
Clusiaceae	<i>Garcinia brasiliensis</i>	-
	<i>Rheedia braziliensis</i>	bacupari
Combretaceae	<i>Terminalia catappa</i>	castanhola
Curcubitaceae	<i>Sechium edule</i>	chuchu
Ebenaceae	<i>Dyospyros kaki</i>	caqui
Lauraceae	<i>Persea americana</i>	abacate
Malpighiaceae	<i>Malpighia emarginata</i>	acerola
	<i>Malpighia sp.</i>	cereja
	<i>Malpighia glabra</i>	acerola
Melastomataceae	<i>Mouriri elliptica</i>	
Mimosaceae	<i>Inga affinis</i>	ingá
Moraceae	<i>Morus nigra</i>	amora-preta
	<i>Campomanesia cambessedoana</i>	gabirola
	<i>Eugenia dodoneifolia</i>	-
	<i>Eugenia dysenterica</i>	cagaita
	<i>Eugenia pyriformis</i>	uvaia
	<i>Eugenia uniflora</i>	pitanga
	<i>Jambosia sp.</i>	jambo-vermelho*
	<i>Myrciaria cauliflora</i>	jabuticaba
	<i>Psidium cattleianum</i>	araçá
	<i>Psidium guajava</i>	goiaba*
	<i>Syzigium jambos</i>	jambo

Tabela 1. Continuação.

Oxalidaceae	<i>Averrhoa carambola</i>	carambola*
Passifloraceae	<i>Passiflora alata</i>	maracujá-doce
	<i>Eriobotrya japonica</i>	nêspera
	<i>Malus domestica</i>	maçã
	<i>Prunus domestica</i>	ameixa
Rosaceae	<i>Prunus persica</i>	pêssego
	<i>Prunus persica var. nucipersica</i>	nectarina
	<i>Prunus sp.</i>	ameixa-preta
	<i>Pyrus communis</i>	pêra
	<i>Rubus sp.</i>	amora-preta
Rubiaceae	<i>Coffea arabica</i>	café
	<i>Citrus aurantium</i>	laranja-azedo
	<i>Citrus deliciosa</i>	mexerica do Rio
	<i>Citrus grandis</i>	toranja
	<i>Citrus limonia</i>	limão cravo
Rutaceae	<i>Citrus nobilis</i>	tangerina
	<i>Citrus reticulata</i>	tangerina Ponkan
	<i>Citrus sinensis</i>	laranja-doce
	<i>Citrus fortunella - C. mitis</i>	calamondim
	<i>Citrus reticulata - C. sinensis</i>	tanqor Murcott
	<i>Fortunella sp.</i>	kunquat
	<i>Chrysophyllum cainito</i>	caimito
	<i>Chrysophyllum mexicanum</i>	caimito mexicano
Sapotaceae	<i>Manilkara zapota</i>	sapoti
	<i>Pouteria cainito</i>	abiu
	<i>Pouteria gardneriana</i>	guapeva
Solanaceae	<i>Capsicum annum</i>	pimenta
Sterculiaceae	<i>Guazuma ulmifolia</i>	mutamba

* Hospedeiros já relatados com infestação em Alagoas.

Alguns representantes do gênero *Anastrepha* têm sido encontrados em diversas espécies de frutos hospedeiros em várias famílias de vegetais. Segundo ZUCCHI (2000b), há registros de ocorrência de *A. obliqua* em 29 espécies de espécies de frutos, pertencentes a 14 gêneros (**tabela 2**).

TABELA 2. Plantas hospedeiras de *A. obliqua* conhecidas no Brasil (Adapt. de Zucchi, 2000b)

Família	Espécie	Nome popular
	<i>Mangifera indica</i>	manga*
	<i>Spondias cytherea</i>	cajarana
	<i>Spondias dulcis</i>	cajá
Anacardiaceae	<i>Spondias mombim</i>	taperebá
	<i>Spondias purpurea</i>	serigüela
	<i>Spondias</i> sp.	umbu-cajá
	<i>Spondias tuberosa</i>	umbu
	<i>Spondias venulosa</i>	cajá-mirim
Combretaceae	<i>Terminalia catappa</i>	castanhola
Malpighiaceae	<i>Malpighia puniceifolia</i>	acerola
	<i>Campomanesia sessiflora</i>	guavira
	<i>Eugenia dysenterica</i>	cagaita
	<i>Eugenia patrisii</i>	ubaia
	<i>Eugenia pyriformis</i>	uvaia
	<i>Eugenia schomburgkii</i>	-
	<i>Eugenia stipitata</i>	araçá-boi
	<i>Eugenia uniflora</i>	pitanga
Myrtaceae	<i>Jambosia</i> sp.	jambo-vermelho*
	<i>Myrcia eximia</i>	azeitoninha
	<i>Myrciaria cauliflora</i>	jabuticaba
	<i>Myrciaria dubia</i>	camu-camu
	<i>Psidium acutangulo</i>	araçá-pêra
	<i>Psidium guajava</i>	goiaba*
	<i>Psidium guineense</i>	araçá-comum
	<i>Syzigium malaccense</i>	pêra-d'água
Oxalidaceae	<i>Averrhoa carambola</i>	carambola*
	<i>Citrus aurantium</i>	laranja-azedo
Rutaceae	<i>Citrus sinensis</i>	laranja-doce
Sapotaceae	<i>Pouteria caimito</i>	abiu

* Hospedeiros já relatados com infestação em Alagoas.

As moscas-das-frutas estão oficialmente descritas em praticamente todos os estados brasileiros, com exceção dos estados de Sergipe e Tocantins (MALAVASI *et al.*, 2000). Um recente estudo conduzido por THOMAZINI *et al.*, (2003) registra oficialmente pela primeira vez a ocorrência de moscas-das-frutas do gênero *Anastrepha* no estado do Acre.

Em toda Região Nordeste enfrenta-se sérios problemas com espécies do gênero *Anastrepha* principalmente estados que têm sua produção de frutas voltada ao mercado internacional. Os estados do Rio Grande do Norte, Pernambuco e Bahia, tidos como os maiores produtores de frutas destinadas à exportação desenvolvem trabalhos de levantamento populacional visando-se monitorar as espécies de moscas bem como os frutos hospedeiros aos quais estão associadas (ARAÚJO *et al.*, 2000; HAJI & MIRANDA, 2000; NASCIMENTO & CARVALHO, 2000).

No estado de Alagoas, um recente estudo conduzido por GONÇALVES *et al.*, 2005 (aceito para publicação), relata a ocorrência de *C. capitata* no município de Maceió e de três espécies de *Anastrepha*: *A. fraterculus*, *A. obliqua* e *A. sororcula*, as quais foram encontradas nos municípios de Maceió, Rio Largo (povoado de Utinga Leão), Paripueira, Coruripe, União dos Palmares e Arapiraca. A espécie *A. fraterculus* foi encontrada em todos os municípios citados, enquanto que *A. sororcula* foi somente descrita para Maceió e Coruripe.

3.2. Frutos hospedeiros em estudo.

Grande parte das espécies de moscas-das-frutas foi encontrada infestando mais de uma espécie de fruto. Essa característica de polifagia é mais evidenciada em *C. capitata* como abordado anteriormente. Entretanto, alguns aspectos como: a aceitação e a preferência a alguns frutos, a diversidade de hospedeiros atacados, o grau de infestação pelas larvas e a viabilidade das mesmas nesses frutos têm chamado a atenção dos pesquisadores envolvidos em pesquisas com tefritídeos (JOACHIM-BRAVO & SILVA-NETO, 2004). Esses fatores podem variar consideravelmente de fruto a fruto, sendo que alguns hospedeiros são mais susceptíveis que outros e desta forma propiciam melhores condições ao desenvolvimento das larvas. Um recente estudo conduzido por SALVATORE *et al.* (2004), demonstrou que alguns compostos presentes na pele dos frutos de limão têm efeito tóxico sobre as larvas de *C. capitata*, embora várias espécies de citros sejam qualificadas como alguns de seus hospedeiros preferidos (SOUZA-FILHO, 1999 citado por ZUCCHI, 2000c)

Os frutos que se mostram mais atacados são considerados primários ou preferenciais; os demais são chamados de secundários ou alternativos. No Estado de Alagoas, tem-se observado a presença de tefritídeos com maior frequência em frutos

de goiaba (*Psidium guajava* L.), carambola (*Averrhoa carambola* L.), jambo (*Jambosia* sp) e manga (*Mangifera indica* L.) (GONÇALVES *et al.*, 2005). Há também o relato da ocorrência de moscas-das-frutas em pitanga (*Eugenia uniflora* L.) e castanhola (*Terminalia catappa* L.) (AMORIM & LIMA, 2005). Já para os frutos de mamão, em Alagoas, não tem sido relatada a presença de larvas de tefritídeos, embora este fruto tenha sido descrito como hospedeiro em outras áreas (ver **tabela 1**). Assim, goiaba, carambola, manga e jambo podem ser qualificados em Alagoas, como frutos hospedeiros preferenciais, enquanto que o mamão seria um hospedeiro alternativo.

3.2.1. Fruto hospedeiro preferencial: Carambola - *Averrhoa carambola* L.

A caramboleira é uma planta da família Oxalidaceae, originária do sudeste asiático – provavelmente da região compreendida entre a Malásia e Indonésia - e que teve um de seus primeiros registros na América, em Pernambuco, no início do século XIX. Caracteriza-se como uma árvore tropical de crescimento lento, com tamanho médio, podendo atingir 15 metros de altura e diâmetro de copa em torno de 6 a 7 metros, cujo tempo de vida útil varia de 25 a 30 anos. Os frutos (**figura 5**) são do tipo baga carnosa, com cinco gomos e forma elipsoidal ou ovóide, apresentando coloração amarela quando completamente maduros e peso comercial em torno de 100 gramas (www.todafruta.com.br). A carambola pode ser consumida *in natura* ou na forma de geléias, sucos, doces, compotas, sorvetes e como ingrediente para coquetéis. É bastante rica em sais minerais (cálcio, fósforo e ferro), contendo ainda vitaminas A, C e algumas do complexo B, é também fonte natural de ácido oxálico (www.bibvirt.futuro.usp.br/especiais/frutasnobrasil/carambola.html).



Figura 5. Frutos de carambola no estágio maduro.

Poucos países têm sido mencionados como produtores comerciais de carambola, principalmente quando se refere à produção voltada para o mercado externo. Taiwan, em 1989, ocupava o primeiro lugar na produção comercial mundial, com uma área cultivada de 2.875 hectares, seguido pela Malásia cuja área representava 896 hectares sendo a Europa e outros países asiáticos os maiores consumidores. Nas Américas, a Guiana, o estado da Flórida nos Estados Unidos e alguns estados das regiões Nordeste e Sudeste do Brasil são considerados os maiores produtores da fruta (www.todafruta.com.br).

O mercado brasileiro tem apresentado expressivo crescimento na comercialização de carambola. Somente a Central de Abastecimento do Estado de São Paulo registrou, em 1999, a venda de mais de 2.200 toneladas da fruta, totalizando uma receita de cerca de US\$ 320 mil.

3.2.2. Fruto hospedeiro alternativo: Mamão - *Carica papaya* L.

Vulgarmente conhecida como mamoeiro, esta planta pertencente à família Caricaceae é nativa do México e de áreas vizinhas da América Central. O mamoeiro é uma planta herbácea, altura entre 2 e 10m, podendo viver até os 20 anos. O fruto (**figuras 6 e 7**) é uma baga que nasce a partir do caule, possuindo forma elipsóide, arredondada, cilíndrica ou periforme com coloração amarela ou alaranjada quando maduro; polpa de consistência suave e sucosa, cor salmão, vermelha e até amarela

com até mil sementes escuras que se inserem na cavidade interna do fruto (www.bahia.ba.gov.br/seagri/Mamao.htm). O fruto pode ser consumido *in natura* - maneira mais apreciada - ou sob a forma de doces, sucos e coquetéis. Além do uso na alimentação, o mamão possui uma enzima, a papaína, com diversas propriedades farmacêuticas e que tem sido bastante estudada para uso em diversos segmentos, principalmente cosméticos.



Figura 6. Mamoeiro em pomar comercial



Figura 7. Fruto de mamão - variedade Havaí.

O Brasil é considerado o maior produtor de mamão no mundo, atingindo em 2003 mais de 1,7 milhões de toneladas (www.fao.org; www.agricultura.gov.br). Em 2004 mais de 143 mil toneladas foram exportadas representando uma receita na ordem de US\$ 26 milhões, sendo a quinta maior receita da carteira de exportações de frutas frescas brasileiras, perdendo apenas para a maçã (US\$ 72 milhões), melão (US\$ 63 milhões), manga (US\$ 60 milhões) e uva (US\$ 53 milhões) (www.agricultura.gov.br). Os maiores consumidores do mamão brasileiro são os países da Ásia, Europa e, em particular, os Estados Unidos.

A produção nacional do mamão está baseada em duas variedades: a formosa destinada principalmente ao mercado interno, e a havaí tanto para o mercado interno como para o externo. Os estados da Bahia e do Espírito Santo destacam-se como os maiores produtores nacionais, sendo responsáveis por cerca de 85% da produção (MAMÃO-FRUTISÉRIES, 2000).

3.3. Compostos químicos como mediadores de sinais.

A química de produtos naturais tem obtido expressivo avanço nas últimas décadas através do desenvolvimento de novas técnicas e do aprimoramento de técnicas já existentes. Pesquisas visando a elucidação do papel de moléculas que apresentam atividade biológica, principalmente medicamentos e defensivos agrícolas, constituem uma parcela significativa dos investimentos anuais de empresas do segmento químico. Parte dessas moléculas ou de seus precursores podem ter origem a partir de vegetais ou animais, dos quais se obtém extratos ou frações posteriormente utilizados em testes para a avaliação da atividade observada, levando-se em conta também os prós e contras nos indivíduos ou ambientes alvos do ensaio (LANDOLT & PHILLIPS, 1997).

A agricultura é uma das grandes beneficiárias desses avanços. A descoberta de novos defensivos, aliada a modernas técnicas de manejo e mecanização tem promovido crescentes aumentos na produção dos mais diversos tipos de culturas. Estimativas da FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS revelam que os gastos anuais com pesticidas sintéticos (inseticidas, fungicidas e herbicidas) oscilem em torno de US\$ 25 a 30 bilhões de dólares (www.fao.org/ag/agp/agpp/ipm/issues.htm).

Entretanto, como abordado anteriormente, os mercados consumidores de todo o mundo estão evitando adquirir alimentos que tenham seu processo produtivo sustentado pelo uso de defensivos químicos como inseticidas. Portanto, fica evidente a necessidade da busca de novas alternativas que auxiliem no combate às pragas agrícolas, sem que essas venham tornar-se novas barreiras ao comércio entre países produtores e consumidores.

Dentre as várias técnicas empregadas como alternativas para o controle de tefritídeos, uma tem sido bastante divulgada entre os produtores e os órgãos governamentais ligados à agricultura: a Técnica do Inseto Estéril. Esta técnica consiste na liberação em larga escala de moscas previamente esterilizadas no ambiente. É bastante onerosa e necessita de condições geográficas favoráveis (como áreas isoladas) para que apresente resultados positivos (NASCIMENTO & CARVALHO, 2001). Os insetos estéreis, geralmente machos, irão competir com os insetos selvagens para as atividades reprodutivas, o que em longo prazo, refletirá na redução da população no campo.

Outra técnica empregada baseia-se no uso de atraentes químicos para armadilhas que têm função de monitoramento ou para redução populacional. Isso é decorrente do fato de que, embora os insetos normalmente utilizem sinais acústicos, visuais e tácteis no processo de comunicação com outros indivíduos ou com o ambiente à sua volta, os sinais químicos são tidos como o mais importante mecanismo de comunicação na maioria das espécies (CORRÊA & SANT'ANA, 2001). Alguns dos odores presentes no ambiente possuem função primordial no transporte de informações, sendo essas informações transmitidas por meio dos compostos químicos voláteis que compõem estes odores (PALLINI *et al.*, 2001).

A percepção desses compostos ocorre através de sítios quimiorreceptores presentes em diversas partes do corpo, como nas antenas dos insetos, que podem ser classificados como generalistas, quando respondem a uma grande variedade de odores, normalmente substâncias produzidas por plantas, ou especialistas, quando respondem a uma ou poucas substâncias liberadas e detectadas por indivíduos da mesma espécie (CORRÊA & SANT'ANA, 2001). Os sinais captados estimulam determinados centros do cérebro dos mesmos e desencadeiam uma resposta que pode ser comportamental ou fisiológica (LIMA & DELLA LUCIA, 2001), sendo recebidos a curta e/ou longas distâncias, independente do horário do dia e do tipo de *habitat*. A qualidade de recepção destes sinais, no entanto, dependerá de vários fatores, tais como, a quantidade e a volatilidade das substâncias liberadas a partir da fonte, da velocidade e turbulência do vento e da interferência da vegetação e outras barreiras físicas (CORRÊA & SANT'ANA, 2001).

As substâncias químicas envolvidas na comunicação entre organismos são denominadas semioquímicos - que significa sinais químicos, mas esse termo não é utilizado somente para os compostos que transmitem informações, ele abrange também aqueles que causam efeitos físicos diretos, como as toxinas, hormônios e os nutrientes (PICKETT *et al.*, 1997; VILELA & DELLA LUCIA, 2001). Aqueles compostos responsáveis pelas informações numa interação entre dois indivíduos e que provocam no receptor um comportamento ou resposta fisiológica são ditos infoquímicos (DICKE & SABELIS, 1988; VILELA & DELLA LUCIA, 2001) podendo ser classificados como aleloquímicos, se a interação for interespecífica ou como feromônios, quando a interação mediada é intraespecífica (WILSON & BOSSERT, 1963; NORDLUND & LEWIS, 1981).

Os aleloquímicos são subdivididos de acordo com o organismo que está sendo beneficiado na comunicação, sendo listadas três classes de aleloquímicos: os alomônios, que favorecem apenas ao emissor dos sinais químicos; os cairomônios, que quando liberados beneficiam somente ao agente receptor e os sinomônios, que beneficiam tanto o agente emissor como o receptor dos sinais (WHITMAN, 1988; DICKE & SABELIS, 1992; HOWSE, 1998; CORRÊA & SANT'ANA, 2001). O esquema representado pela **figura 8** sintetiza como os compostos podem ser classificados sob o ponto de vista da comunicação entre os insetos.

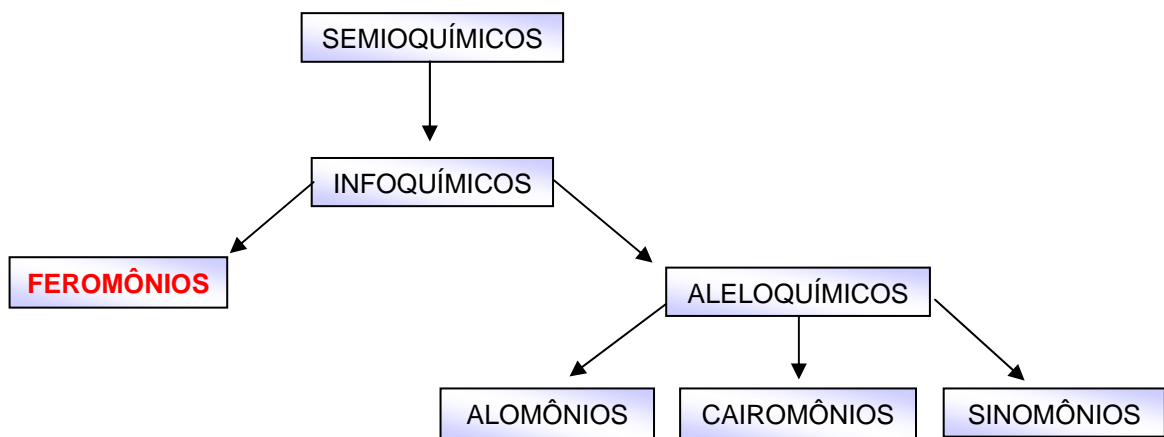


Figura 8. Esquema da classificação dos compostos químicos envolvidos na comunicação entre os insetos.

Muitos exemplos de aleloquímicos são observados em interações nas quais os dois organismos envolvidos são insetos, sendo bastante comuns também as interações envolvendo um inseto e uma planta. Nessa relação, os compostos voláteis liberados pelo vegetal atuam como pistas químicas, podendo atrair tanto insetos herbívoros como inimigos naturais destes. Nas interações entre um inseto fitófago e sua planta hospedeira os aleloquímicos que atuam na mediação dos sinais são os cairomônios, cujo principal papel é favorecer o receptor na localização do emissor (BROWN *et al.*, 1970; LANDOLT, 1997; CORRÊA & SANT'ANA, 2001; VILELA & DELLA LUCIA, 2001).

Já os feromônios são mediadores de interações entre organismos de uma mesma espécie, os quais induzem uma resposta comportamental ou fisiológica favorável ao emissor, ao receptor ou a ambos envolvidos na interação. Cada espécie possui o seu próprio “código” de comunicação, baseado nas diferenças estruturais dos

compostos e nas proporções que estes se apresentam na mistura. A maior parte dos feromônios é predominantemente composta de substâncias voláteis e segundo GULLAN & CRANSTON (1994) eles são produzidos por glândulas exócrinas derivadas de células epidermais.

Dependendo do seu modo de ação, os feromônios podem ser qualificados como preparadores - quando agem na fisiologia do organismo receptor, exercendo efeito mais lento e prolongado, ou desencadeadores – quando estes provocam uma mudança instantânea no comportamento do receptor (VILELA & DELLA LUCIA, 2001).

Os feromônios desencadeadores são classificados de acordo com o tipo de comportamento que provocam, podendo agir como atraentes sexuais, marcadores de trilhas, propiciar comportamentos de agregação, alarme, dispersão, entre outros (CORRÊA & SANT'ANA, 2001). Os feromônios mais utilizados no controle de pragas são os sexuais e os de agregação (LANDOLT, 1997). O feromônio sexual é utilizado pelos insetos de uma espécie com o intuito de atrair parceiros para reprodução. Quando este feromônio atrai não só o parceiro para cópula, mas também outros indivíduos do mesmo sexo que o do emissor ele é considerado feromônio de agregação. Os feromônios de agregação estão associados a pistas de sítios adequados para alimentação e/ou oviposição (LANDOLT, 1997; LIMA & DELLA LUCIA, 2001; VILELA & DELLA LUCIA, 2001).

3.4. Extração, isolamento e identificação de feromônios de insetos.

Desde a primeira identificação de feromônio de um inseto, o bombicol - liberado por machos do Bicho-da-seda, *Bombyx mori*, durante a década de 1950 até hoje, um expressivo número de pesquisadores tem contribuído para a elucidação de estruturas de compostos presentes no feromônio das mais diversas espécies de insetos. Atualmente, a grande maioria dos feromônios conhecidos foi identificada em estudos com mariposas e borboletas (LIMA & DELLA LUCIA, 2001). No Brasil, a primeira tentativa de identificação química de um feromônio ocorreu durante a década de 1980 com *Cadra cautella*, uma espécie de lepidóptero praga de cacau armazenado (ABREU & WILLIAMS, 1980 *in* BENTO *et al.*, 2001).

As pesquisas relacionadas à identificação de feromônios exigem conhecimentos interdisciplinares e a participação de profissionais de diversas áreas da ciência

(ZARBIN, 2001). A integração dos profissionais, aliada aos recursos tecnológicos disponíveis e que vêm sendo aprimorados ao longo do tempo, possibilita a identificação de compostos presentes em pequenas quantidades em uma determinada amostra ou extrato. De certo que não apenas o processo de identificação é importante na pesquisa de feromônios. A escolha de técnicas adequadas para a obtenção dos extratos a serem analisados é um fator crucial no desenvolvimento dos trabalhos. Isto é essencial uma vez que grande parte dos feromônios é uma mistura de constituintes químicos liberados em quantidades muito pequenas, variando entre 10^{-9} a 10^{-12} gramas (JONES e OLDFHAM, 1999). Geralmente, o feromônio é constituído de dois a sete compostos químicos, podendo chegar a uma composição acima de 30 compostos, sendo que um deles ou mais, é caracterizado como componente principal (LIMA e DELLA LUCIA, 2001).

As principais técnicas empregadas na extração de compostos voláteis liberados por insetos são a extração por solvente e a extração por aeração (ZARBIN, 2001), ambas bastante eficientes e empregadas em situações distintas.

A extração por solvente é amplamente empregada na obtenção de extratos de glândulas ou de partes do corpo do inseto. No primeiro caso, é necessário que a glândula da qual se deseja obter o extrato seja extirpada do corpo do inseto e posteriormente transferida para um recipiente contendo o solvente, geralmente de baixa polaridade como hexano ou diclorometano. Vários autores fizeram uso dessa técnica, principalmente em estudos com himenópteros (NASCIMENTO, 1999; MENDONÇA, 2004;), lepidópteros (REBOUÇAS *et al.* 1999; GULLAB *et al.*, 2001), e dípteros (LIMA *et al.*, 2001; GONÇALVES, 2005). A extração a partir de seções do corpo do inseto é mais empregada quando o inseto em questão possui tamanho reduzido, e neste caso, outros compostos que não façam parte do elenco da secreção presente na glândula exócrina podem ser detectados no momento da identificação de seus constituintes.

A extração por aeração consiste no aprisionamento dos voláteis emitidos pelos insetos em materiais adsorventes como carvão ativo, sílica e polímeros porosos (Tenax® e Porapak®) (NASCIMENTO & SANT'ANA, 2001; ZARBIN, 2001), estes últimos mais indicados devido ao seu maior poder de adsorção. Segundo HOWSE (1998), a maior vantagem da aeração se deve ao fato da mesma fornecer uma amostra real dos compostos voláteis emitidos pelos insetos e ainda, por que a extração destes

voláteis ocorre com os insetos vivos, podendo o processo de coleta se estender por mais tempo. Isso é de certa forma útil quando o número de insetos disponível é limitado ou a quantidade de feromônio presente por inseto é muito baixa, fato que ocorre na maioria das vezes.

A partir da coleta (aprisionamento), deve-se utilizar um solvente com alto grau de pureza e alta volatilidade, tais como hexano, diclorometano – mencionados anteriormente, e éter etílico (ZARBIN, 2001).

Os sistemas de aeração utilizados são geralmente de vidro e são compostos por uma câmara com entrada e saída para o fluxo de ar, onde são colocados os insetos, tubos de vidro nos quais são colocados os materiais adsorventes, e um sistema para produção de uma corrente de ar (por ação do vácuo ou por injeção do ar). Num sistema com funcionamento a vácuo, quando em atividade, ocorre a entrada de ar previamente filtrado cujo fluxo promove o arrasto dos constituintes voláteis liberados pelos insetos presentes no interior da câmara. Estes por sua vez são retidos no material adsorvente que posteriormente é lavado com o solvente, obtendo-se assim o extrato.

Para o isolamento e a identificação dos compostos presentes no extrato, a técnica mais indicada é a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas CG-EM.

A cromatografia é um método muito eficiente de separação de compostos principalmente para análise de amostras cujas quantidades são na ordem de 10^{-9} gramas de compostos voláteis (DO NASCIMENTO & SANTANA, 2001). Por meio desta análise, podem-se obter informações sobre o número de componentes da amostra, suas concentrações relativas, seus pesos moleculares e graus de polaridade.

A cromatografia gasosa desenvolveu-se a partir da cromatografia líquida em meados da década de 1960, produzindo importantes mudanças na química analítica e em muitas áreas de pesquisa e desenvolvimento. Subseqüentemente, com o surgimento das colunas capilares, conseguiu-se um aumento na capacidade de separação de compostos complexos, como perfumes, resíduos ambientais, etc (LANÇAS, 1993).

Um aparelho de cromatografia gasosa é composto basicamente por quatro partes conforme descrito no esquema da **figura 8**. O injetor, por onde é introduzida a

amostra, sendo também responsável pela vaporização do extrato; a coluna – localizada no interior de um forno, cuja função é separar os constituintes do extrato; o detector, responsável pela captação de cada composto separado pela coluna; e um registrador que condensa os sinais emitidos pelo detector e os converte na forma de gráfico. O gráfico obtido é denominado cromatograma, e cada pico registrado, geralmente, corresponde a um composto, ou a uma mistura isômeros racêmicos.

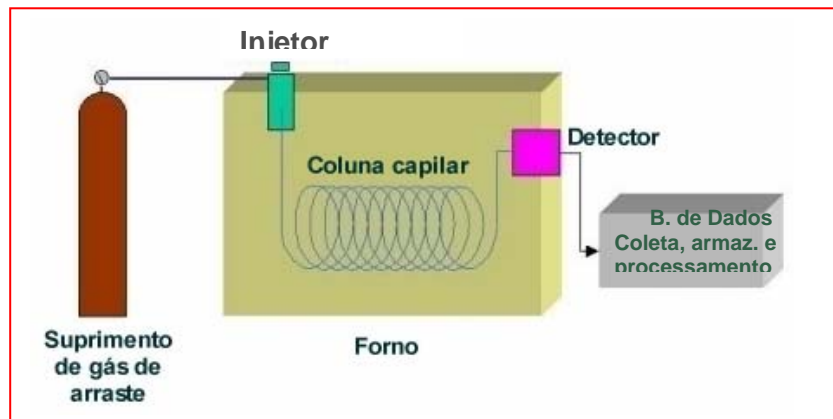


Figura 9. Representação esquemática de um cromatógrafo gasoso.

Um bom processo de separação está associado à escolha adequada do tipo de coluna a ser empregada no cromatógrafo. Isto porque a coluna é um capilar revestido internamente por um polímero o qual atuará como fase estacionária. Na superfície da fase estacionária ocorrem interações eletrostáticas com os compostos presentes na amostra, os quais são separados da mistura que corresponde à fase móvel (LANÇAS, 1993). O aquecimento provocado pelo forno enfraquece as interações entre as duas fases e os compostos eluem através da coluna carregados por um gás de arraste (gás inerte) à medida que o tempo passa. Fases estacionárias apolares compostas por 100% de polidimetilsiloxano ou 95% de polidimetilsiloxano com 5% polifenilmetilsiloxano são as mais empregadas nas análises de feromônios (JONES & OLDHAM, 1999).

A identificação dos compostos ocorre por comparação dos tempos de retenção dos compostos e comparação com resultados descritos na literatura e pela espectrometria de massas, a qual consiste na ionização/fragmentação dos compostos que foram previamente separados pelo cromatógrafo. Os fragmentos são gerados através de ionização química (**CI - Chemical Ionization**) ou de ionização eletrônica (**EI - Electronic ionization**) (ZARBIN, 2001) a depender do tipo do aparelho, e

posteriormente são captados por um detector. Os sinais obtidos pelo detector são levados a um banco de dados onde, por comparação das massas, é feita a identificação.

3.5. Feromônios na família Tephritidae

O início dos trabalhos relacionados com feromônios de moscas-das-frutas se deu a partir da constatação por FERON (1959) de que os machos de *C. capitata* produziam e liberavam compostos voláteis que eram atrativos para as fêmeas da mesma espécie. Essa constatação é extensiva a todas as espécies da família Tephritidae estudadas até o momento (VILELA & KOVALESKI, 2000), com exceção de *Bactrocera oleae* cujas fêmeas são responsáveis pela produção do feromônio (LIMA, 2001). Os primeiros estudos que permitiram a identificação de compostos liberados por tefritídeos foram realizados por JACOBSON *et al.* 1973 onde foram isolados e identificados dois compostos liberados por machos de *C. capitata*.

A liberação de feromônio sexual em moscas-das-frutas é acompanhada de seqüências comportamentais características, sendo o conjunto dessas seqüências denominado “chamamento”. Os machos de moscas-das-frutas sexualmente maduros tal como machos de outras espécies de insetos fitófagos procuram liberar feromônios atrativos às fêmeas a partir de plantas hospedeiras para otimizar as oportunidades de encontro com as parceiras e conseqüentemente as oportunidades de cópulas (LANDOLT, 1997; LANDOLT & PHILLIPS, 1997). Ao chegarem às plantas hospedeiras, os machos procuram a superfície das folhas ou a superfície dos frutos que servem como sítios de oviposição para as fêmeas (SUGAYAMA & MALAVASI, 2000). A contração do abdome e a conseqüente eversão da membrana anal, associada a movimentos alternados e vibração das asas são os sinais mais evidentes do comportamento de cômte em moscas-das-frutas.

A natureza química dos compostos liberados por moscas-das-frutas e que foram estudados até o momento é em sua maioria ésteres, cetonas, álcoois, terpenos e compostos nitrogenados. Já em relação aos insetos, a maioria dos trabalhos está relacionada às espécies *A. suspensa*, *A. ludens*, *A. fraterculus* e *C. capitata* (BATTISTE *et al.* 1983; BAKER, *et al.*, 1985; ROBACKER & HART 1985; CHUMAN *et al.*, 1988;

JANG *et al.* 1989; ROCCA *et al.*, 1992; LIMA *et al.* 2001; SANTOS, 2003; GONÇALVES, 2001; GONÇALVES, 2005).

Como citado anteriormente, JACOBSON *et al.* (1973) que identificaram alguns dos primeiros compostos relatados para *C. capitata*: o (*E*)-6-nonen-1-ol e o acetato de (*E*)-6-nonenila (**figura 10**). Mais tarde, em 1985, BAKER *et al.* identificaram nove compostos distintos daqueles encontrados inicialmente, a saber: acetato de etila, ácido *trans*-2-hexenóico, diidro-3-metilfuran-2-ona, 2-etil-3,5-dimetilpirazina, linalol, pirrol, (*E,E*)- α - farneseno, (*E*)-3-octenoato de etila e acetato de geranila. As proporções relativas dos quatro últimos figuram como as maiores na mistura.

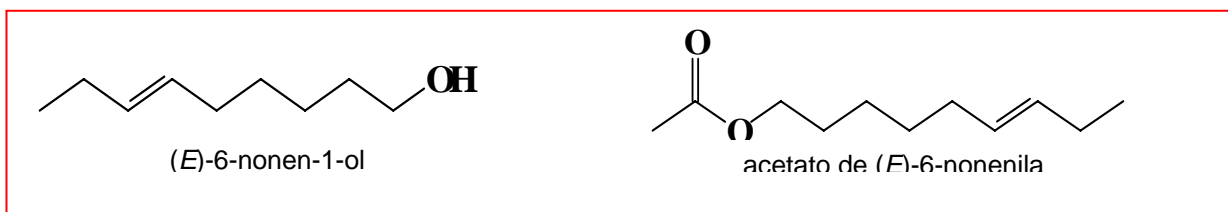


Figura 10. Compostos voláteis liberados por machos de *C. capitata* e identificados por JACOBSON *et al.* (1973)

Um trabalho realizado em 1989 por JANG *et al.* se constitui no estudo com o maior número de compostos identificados para *C. capitata*, totalizando 59 compostos, dentre os quais nove eram coincidentes com os identificados por BAKER *et al.* (1985). Além destes, (*E*)-3-hexenoato de etila, mirceno e os isômeros do β -ocimeno, também figuraram como componentes importantes da mistura.

Dentre os compostos identificados pelos colaboradores de JANG e BAKER merecem destaque: os isômeros do β -ocimeno, o 3-octenoato de etila, o (*E,E*)- α -farneseno, linalol, hexanoato de etila e o acetato de geranila (**figura 11**), uma vez que foram relatados em grande parte dos trabalhos realizados com voláteis de *C. capitata*.

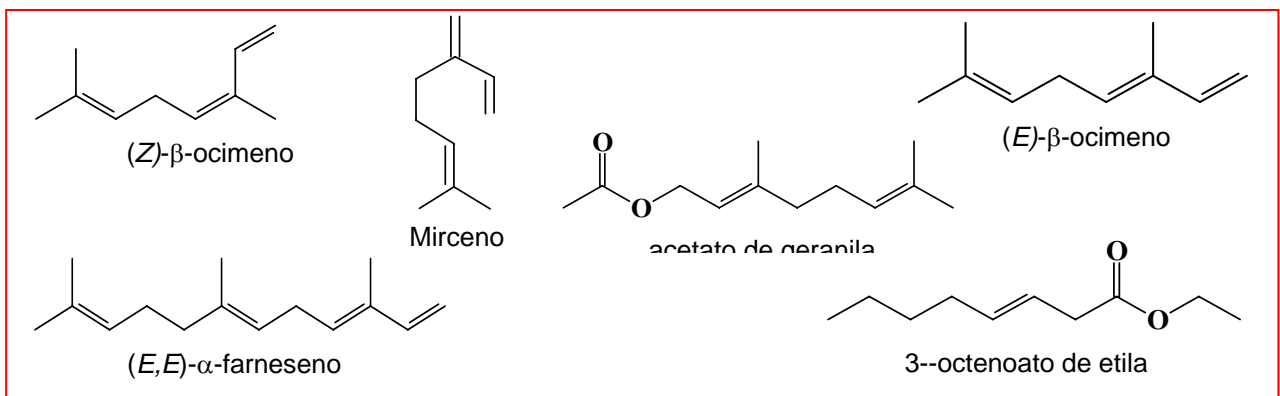


Figura 11. Compostos voláteis liberados por machos de *C. capitata* que apresentam proporção majoritária.

No gênero *Anastrepha* a maior parte dos trabalhos foram realizados com as espécies: *A. ludens*, *A. suspensa* e *A. fraterculus* - cujos trabalhos sobre feromônios se iniciaram com NATION, (1975). Dentre os compostos identificados como constituintes do feromônio sexual encontram-se álcoois, cetonas, terpenos, entre outros.

A mistura feromonal emitida por machos de *A. ludens* possui estrutura similar à que é produzida por machos de *A. suspensa*. Três compostos isolados a partir de extratos do abdome de machos de *A. ludens* demonstraram possuir atividade frente às fêmeas em bioensaios de laboratório, são eles: (*Z*)-3-nonenol, (*Z,Z*)-3,6-nonadienol e a γ -lactona (*S,S*)-(-)-epianastrefina (ROBACKER & HART, 1985) (**figura 12**). Outro composto, um macrolídeo - (*3E,8E*)-suspensolídeo, isômero das lactonas, foi identificado em extratos de voláteis liberados por machos de *A. suspensa* (BATTISTE *et al.*, 1983; CHUMAN *et al.*, 1988). Os dois álcoois citados e as duas lactonas que demonstraram atividade comportamental, anastrefina e epianastrefina, foram isolados a partir de extratos obtidos da lavagem do corpo de machos e das câmaras de aeração nas quais os insetos estavam sendo submetidos aos ensaios (NATION, 1983).

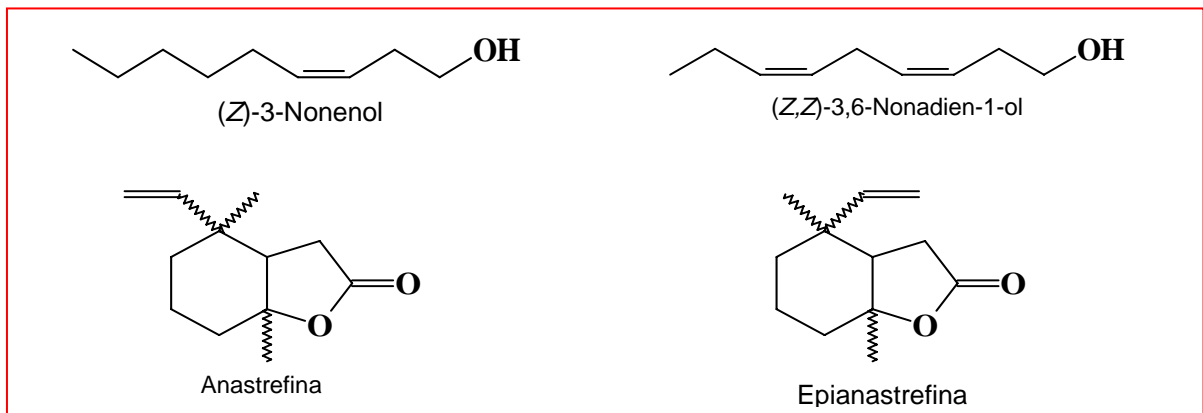


Figura 12. Compostos identificados em extratos obtidos a partir de machos do gênero *Anastrepha*.

Um macrolídeo de 11 membros, isômero da anastrefina e da epianastrefina, foi isolado, identificado e confirmado (CHUMAN *et al.* (1988) BATTISTE *et al.*, 1983) estruturalmente a partir dos constituintes voláteis liberados por machos de *A. suspensa* como (*3E,8E*)-suspensolídeo [(*E,E*)-4,8-dimetil-3,8-decadien-10-olídeo].

LIMA *et al.* (2001) citaram que em extratos de glândulas salivares de machos de *A. fraterculus* também foi encontrado o (*3E,8E*)-suspensolídeo anteriormente relatado

para a espécie *A. suspensa*. Além deste composto, com a análise química das amostras sólidas destas glândulas detectou-se também a presença de quatro compostos nitrogenados, as pirazinas: 2,5-dimetilpirazina, 2,3,5-trimetilpirazina, 3-etil-2,5-dimetilpirazina e 3-butil-2,5-dimetilpirazina (**figura 13**).

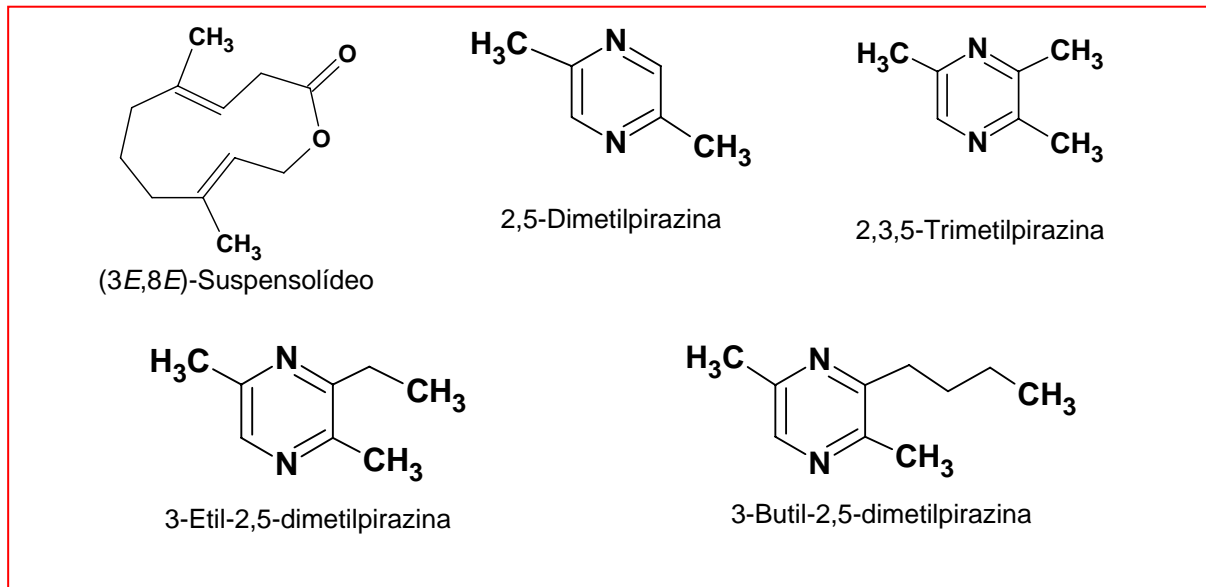


Figura 13. Compostos voláteis presentes em extratos de glândulas salivares e liberados por machos de *A. fraterculus* em chamamento.

Ainda em *A. fraterculus*, foram encontrados os terpenos isoméricos (*E,Z*)- α -farneseno e (*Z,E*)- α -farneseno (**figura 14**) em amostras das glândulas salivares de machos desta espécie; ao passo que, os monoterpenos, limoneno e *cis*- β -ocimeno foram identificados nos extratos obtidos por aeração de machos em chamamento.

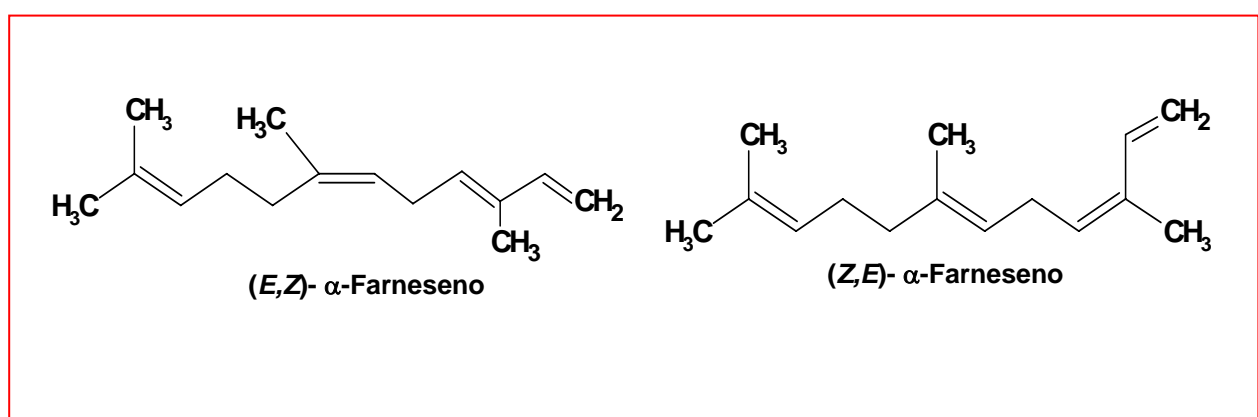


Figura 14. Isômeros do farneseno

Alguns terpenos também foram encontrados nas três espécies. Em *A. ludens* e *A. suspensa* cinco terpenos foram identificados, dos quais dois são monoterpenos, o (*Z*)- β -ocimeno, que foi encontrado em *A. suspensa* e o limoneno em *A. ludens*; os três restantes são os sesquiterpenos α -farneseno, β -bisaboleno e o α -*trans*-bergamoteno (**figura 15**) encontrado em ambas as espécies (ROCCA *et al.*, 1992).

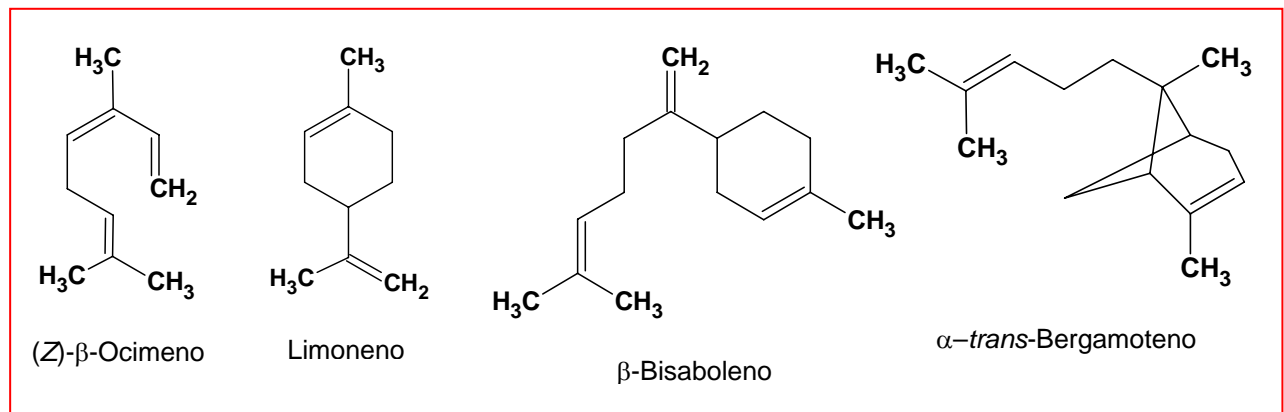


Figura 15. Mono- e sesquiterpenos encontrados em *A. suspensa* e *A. ludens*.

3.6. Extração, Isolamento e Identificação de Voláteis de Frutos.

A pesquisa sobre os voláteis liberados por vegetais tem chamado a atenção de diversos pesquisadores no mundo inteiro. Setores como a indústria de alimentos e de cosméticos, buscam constantemente elucidar a composição da mistura liberada por folhas e frutos com o intuito de que, futuramente, possam servir como base para a fabricação de aromatizantes e essências. No mercado relacionado a produtos derivados do café, por exemplo, o aroma é um importante atributo para definir a aceitação desses produtos por parte do consumidor (DE MARIA *et al.*, 1995). Outros estudos buscaram relacionar os voláteis liberados pelos frutos, com o estágio de maturação dos mesmos visando estabelecer um padrão de maturação que seria o adequado para o consumo humano (ALMORA *et al.*, 2004) ou para servir como sítio ideal ao desenvolvimento de insetos fitófagos (FLATH *et al.*, 1990).

Tal como na pesquisa com insetos, o uso de técnicas cada vez mais eficazes, tem fornecido informações valiosas sobre os aspectos citados acima. São várias as técnicas analíticas e de separação disponíveis hoje em dia, no entanto a microextração por fase sólida (SPME) a aeração e a destilação, estão entre as mais empregadas (RUBERTO *et al.*, 1999; MIYAZAWA & OSMAN, 2000).

O processo utilizado para os frutos e folhas na extração de voláteis por aeração é idêntico ao utilizado para os insetos, salvo em algumas alterações quanto à natureza do adsorvente e do solvente. Para as análises dos extratos, a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) e a cromatografia líquida de alta eficiência têm sido ferramentas muito eficazes na determinação da composição dos voláteis de plantas cujos resultados de vários estudos comprovam a eficácia da técnica (DE MARIA *et al.*, 1995; RUBERTO *et al.*, 1999; MIYAZAWA & OSMAN, 2000; VERBENE, *et al.*, 2002; SANTOS, 2003).

Alguns dos frutos hospedeiros de moscas-das-frutas estudados até o momento apresentam, em sua maioria, misturas de constituintes voláteis compostas por ésteres, cetonas, terpenos e álcoois (GONÇALVES, 2001; SANTOS, 2003; GONÇALVES, 2005).

Dentre os constituintes químicos voláteis encontrados em frutos de carambola, é relatada a presença predominante de ésteres metílicos e etílicos destacando-se entre eles o 4-metilpentanoato de etila, 2-octenoato de etila, o butanoato de etila e o hexanoato de metila (**figura 16**), que juntos detêm 83,94% da mistura liberada por frutos de carambola maduros (GONÇALVES, 2005).

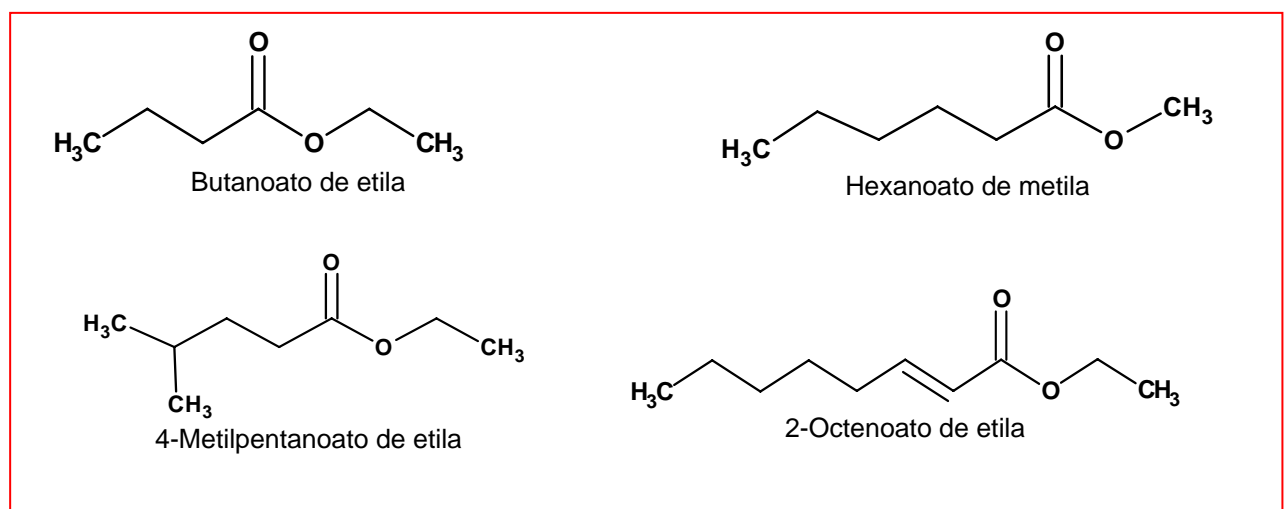


Figura 16. Compostos maioritários identificados em extratos de frutos de carambola.

Já em frutos de mamão, foi constatado por FLATH *et al.* (1990) que o linalol e as formas isoméricas de seus respectivos óxidos, além do acetato de etila (**figura 17**), apresentaram as maiores abundâncias relativas dentre os compostos químicos voláteis emanados a partir de frutos da variedade havaí.

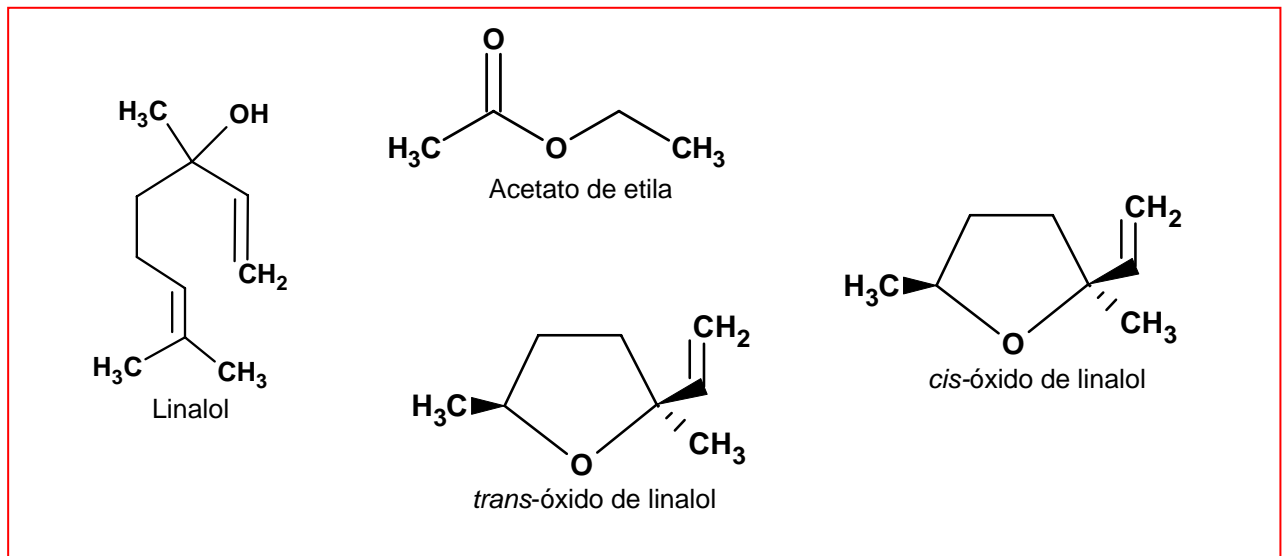


Figura 17. Compostos majoritários identificados em extratos de frutos de mamão.

4. MATERIAL E MÉTODOS



O presente estudo foi desenvolvido no Laboratório de Química Entomológica, vinculado ao Departamento de Química / CCEN da Universidade Federal de Alagoas - UFAL.

4.1. Obtenção de Material Biológico.

4.1.1. Insetos.

Os insetos utilizados nesse estudo são qualificados sob dois aspectos: insetos selvagens e insetos de laboratório. Os insetos selvagens destinados aos bioensaios foram obtidos a partir de frutos de carambola infestados (**Figura 18**) provenientes das localidades: Santa Amélia (município de Maceió) e Utinga (município de Rio Largo).



Figura 18. Frutos infestados coletados para obtenção de larvas.

As larvas contidas no interior dos frutos (**figura 19**) foram retiradas dos mesmos com o auxílio de pinças e facas, sendo posteriormente transferidas para caixas de isopor (44cm x 35cm x 25cm), contendo uma camada de 3 cm de areia lavada e vermiculita, na proporção 1:1 com a finalidade de servir como substrato para empupação. O substrato foi diariamente pulverizado com água a fim de que fosse mantida a umidade necessária ao desenvolvimento das pupas.

Os insetos de laboratório foram obtidos a partir da população selvagem, quando casais desta população foram submetidos ao acasalamento e posteriormente à presença de frutos, como descrito adiante



Figura 19. Larva de *C. capitata* no interior do fruto.

4.1.2. Frutos para bioensaios, reprodução dos insetos e aerações.

Os frutos de mamão que serviram de substrato para oviposição para *C. capitata* e *A. obliqua* foram obtidos em supermercados e levados ao laboratório, onde foram lavados, enxutos com secador e posteriormente empregados nos bioensaios. Tanto os frutos utilizados para bioensaios de oviposição quanto para os destinados à reprodução dos insetos estavam no estágio maduro e não apresentavam danos mecânicos.

4.2. Manutenção dos insetos em laboratório.

Após a emergência, os insetos adultos recém emergidos, oriundos de frutos de carambola e de mamão, foram separados por sexo, transferidos para gaiolas de vidro (30cm x 20,5cm x 16cm) (**Figura 20**), e mantidos com uma dieta artificial composta por uma mistura de levedura de cerveja e açúcar mascavo na proporção de 2:1, além de água mineral servida em recipiente separado. A temperatura do insetário esteve entre 26 ± 2 °C, com uma umidade relativa de $60 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 14 horas.

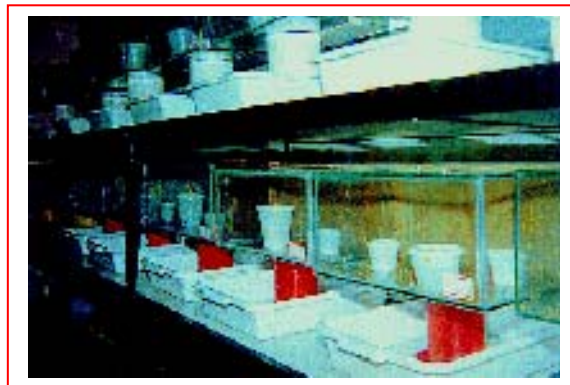


Figura 20. Gaiolas de vidro nas quais foram mantidos os insetos adultos.

4.3. Bioensaios de preferência de fêmeas de *C. capitata* por frutos.

Visando-se verificar o comportamento de fêmeas de *C. capitata* acasaladas em laboratório em relação a diferentes tipos de frutos simultaneamente ofertados foram conduzidos bioensaios em condições de laboratório.

Vinte fêmeas de *C. capitata* acasaladas e com idades entre 15 e 20 dias foram postas em arena de vidro (40 x 30 x 20cm), em cujo interior encontravam-se frutos de carambola (hospedeiro preferencial) e de mamão (hospedeiro alternativo) os quais foram dispostos aleatoriamente no espaço interno da arena. Os insetos foram observados por um período de 1 hora ininterrupta, sendo contabilizadas quantas vezes cada tipo de fruto era visitado pelas fêmeas. O experimento foi delineado de maneira inteiramente casualizada com 4 repetições e as médias obtidas foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de probabilidade de 5%. A temperatura ambiente durante a realização dos testes foi de 23 ± 1 °C.

4.4. Obtenção dos extratos.

4.4.1. Obtenção dos extratos de frutos.

Os extratos de frutos de mamão das variedades formosa e havaí, em estágio maduro, foram obtidos utilizando-se dois tipos de material adsorvente; inicialmente carvão ativo e posteriormente Tenax®.

Uma vez limpos, 500 gramas de frutos em estágio maduro foram colocados em um dessecador de vidro modificado com dupla saída (**Figura 21**), com 200 mm de diâmetro e 180 mm de altura, ao qual foram adaptados um filtro de carvão ativo, para purificar o ar inserido na câmara onde estavam contidos os frutos, e um tubo coletor de voláteis, cuja função era adsorver os voláteis destes frutos, à medida que eles eram arrastados pelo vácuo provocado pela sucção de uma trompa d'água conectada ao tubo. Este tubo continha 100 mg de carvão ativo ou Tenax® como material adsorvente. Cada aeração de frutos teve uma duração de 24 horas, com fluxo constante de ar de 0,5 L / min.

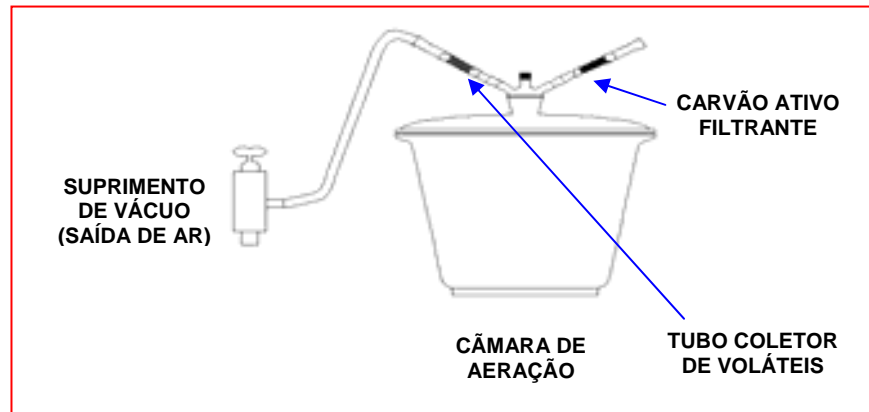
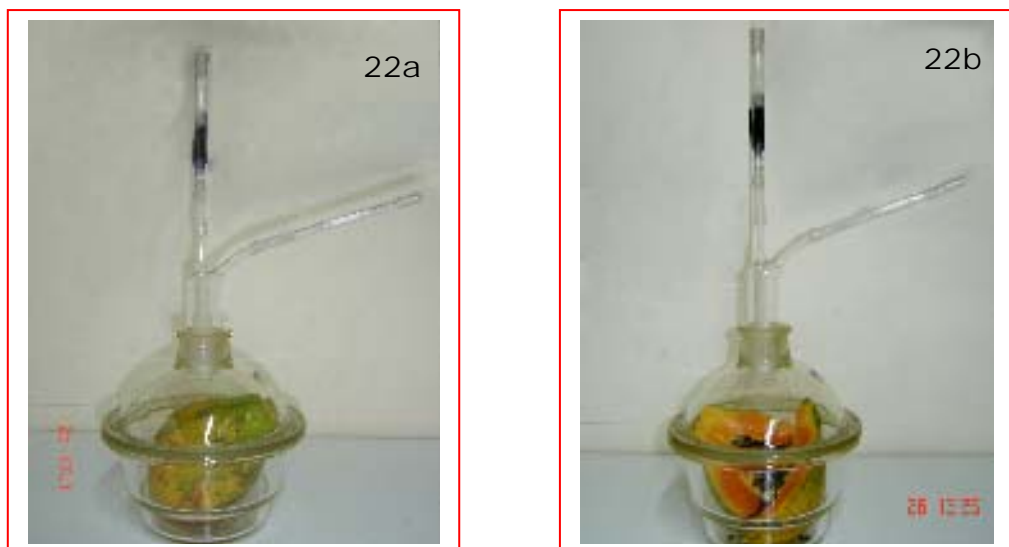


Figura 21. Esquema do sistema utilizado para aeração de frutos.

Foram efetuadas duas seqüências de extração: inicialmente com frutos intactos (**figura 22a**) e outra (**figura 22b**) com frutos danificados mecanicamente (corte). O corte foi feito visando-se determinar se havia diferenças entre os extratos obtidos a partir de frutos intactos, para posteriores comparações com os extratos oriundos dos insetos.



Figuras 22a e 22b. Sistemas de aeração utilizados na extração dos compostos voláteis liberados pelos frutos de mamão.

Os constituintes voláteis foram dessorvidos com 3 mL de hexano (grau HPLC) para obtenção dos extratos. Posteriormente, os extratos obtidos foram divididos em três partes iguais e acondicionados em ampolas de vidro com capacidade para 2 mL

que foram posteriormente seladas e conservadas em freezer (-10 °C) até que fossem feitas as análises químicas.

4.4.2. Obtenção dos extratos de insetos.

Os extratos dos constituintes voláteis liberados por machos de *C. capitata* e *A. obliqua* foram obtidos em dois experimentos: No primeiro experimento, foram obtidos os extratos dos voláteis liberados por machos selvagens de *C. capitata* em chamamento, em diferentes períodos da fotofase, cujas larvas infestavam frutos de carambola coletados no campo. No outro experimento, foram obtidos os extratos dos voláteis liberados por machos de *C. capitata* e *A. obliqua* em chamamento cujas larvas infestavam frutos de mamão após oviposição em laboratório, conforme descrição a seguir.

Primeiro experimento - grupos com 20 machos de *C. capitata* sexualmente maduros foram segregados em uma câmara de aeração. Cada grupo foi submetido à aeração por 3 períodos de 3 horas cada – iniciando-se às 06:00 e encerrando-se às 15:00, perfazendo um total de 9 horas. Utilizou-se como sistema de aeração uma câmara cilíndrica de 220mm de comprimento por 40mm de diâmetro (**Figura 23**), com um filtro de carvão ativo adaptado à entrada de ar e um outro tubo coletor de voláteis contendo 100 mg de Tenax® acoplado à saída. Ao final de cada período, os tubos com material adsorvente foram substituídos e o processo reiniciado.

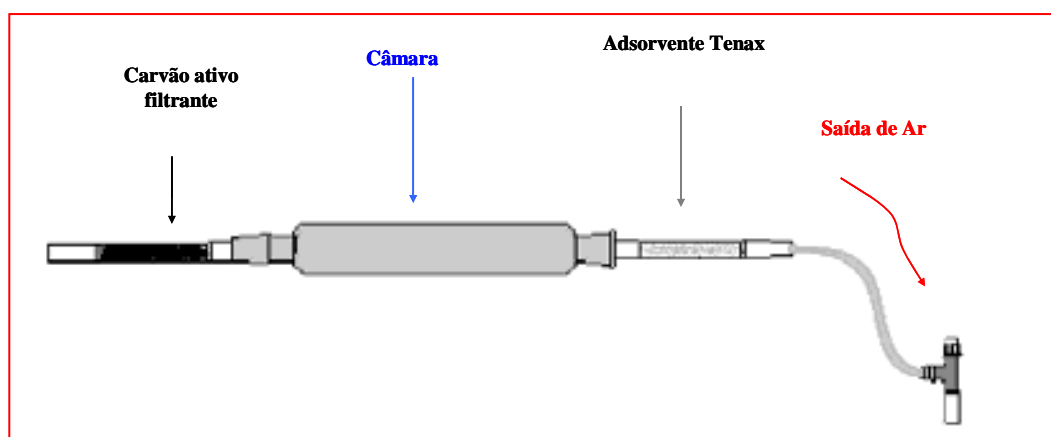


Figura 23. Diagrama esquemático do sistema de aeração empregado na coleta dos compostos voláteis liberados por machos em chamamento de *C. capitata* e *A. obliqua*.

Segundo experimento - foram também utilizados para as aerações, sob as mesmas condições, grupos de 20 machos maduros sexualmente, obtidos em laboratório a partir de frutos de mamão. Entretanto, esses grupos foram submetidos ao processo de extração por períodos de 24 horas. O processo de dessorção e armazenamento dos extratos de aeração dos insetos foi semelhante ao realizado no isolamento dos constituintes voláteis dos frutos. A velocidade do fluxo de ar foi de 0,5 L /min para ambos os experimentos.

Os extratos de aeração de machos de *A.obliqua* reproduzidos em laboratório a partir de frutos infestados de mamão foram obtidos empregando-se a mesma metodologia descrita na segunda etapa para *C. capitata*.

4.5. Identificação dos constituintes voláteis presentes nos extratos.

4.5.1. Identificação dos constituintes voláteis de frutos.

As análises químicas dos extratos de aeração de frutos de mamão foram efetuadas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), utilizando um cromatógrafo gasoso da Shimadzu Corporation - modelo 17A, acoplado a um detector seletivo de massas QP5050A, ambos controlados por computador Pentium 200 MHz.

Os componentes químicos presentes nos extratos foram separados em coluna capilar com fase estacionária apolar (polidimetilsiloxano). As zonas de aquecimento do cromatógrafo gasoso foram programadas para operar nas seguintes temperaturas: injetor 200 °C, forno 30 °C - com velocidade de aquecimento de 8 °C/min até atingir a temperatura de 250 °C - e detector 270 °C. O modo de injeção para os extratos obtidos dos frutos foi o "split" em uma razão de 30:1. O gás de arraste utilizado foi o hélio (1mL/min) e a energia de ionização foi de 70 eV.

Os compostos voláteis liberados pelos frutos foram identificados por comparação dos espectros com aqueles registrados na literatura (MCLAFFERTY & STAUFFER, 1988; ROCCA *et al.*, 1992) e na biblioteca do instrumento (Wiley – 275 database), e

também por comparação dos tempos de retenção e espectros de massas com os de padrões sintéticos.

4.5.2. Identificação dos constituintes voláteis liberados pelos insetos.

As análises químicas dos extratos obtidos por aeração de machos de *C. capitata* e *A. obliqua* oriundos do campo e de laboratório foram realizadas também por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Foram utilizados os mesmos equipamentos e as mesmas condições de análise para a identificação dos constituintes voláteis presentes nos frutos, exceto no que se refere ao modo de injeção da amostra dos extratos, que no caso foi o “splitless”, ou seja, sem divisão da amostra.