

AVALIAÇÃO DA ATRATIVIDADE DE *Ceratitis capitata* (DIPTERA: TEPHRITIDAE) PARA FORMULAÇÕES CONTENDO OS CONSTITUINTES VOLÁTEIS DO FRUTO HOSPEDEIRO CARAMBOLA (*Averrhoa carambola* L.)

Camila P. de L. Chicuta^{1*}, Jéssica de L. Santos², Andreza H. da S. Gonçalves², Nathaly C. de Aquino³, Luana L. Ferreira³, Raphael de F. Tavares³, Ruth R. do Nascimento⁴.

1. Estudante de Mestrado do Instituto de Química e Biotecnologia da UFAL

2. Estudante de IC Instituto de Química e Biotecnologia da UFAL

3. Estudante de doutorado do Instituto de Química e Biotecnologia da UFAL

4. Pesquisadora – Instituto de Química e Biotecnologia da UFAL / Orientador

Resumo:

Ceratitis capitata é uma praga da fruticultura brasileira. Ela usa os compostos voláteis liberados por frutos hospedeiros como pistas para encontrar parceiros e sítios de oviposição. Assim, o uso dessas substâncias em armadilhas constitui uma promissora estratégia para o controle dessa praga. Este estudo objetivou determinar a atração de fêmeas para formulações contendo substâncias voláteis liberadas por carambola. Extratos do fruto foram obtidos por aeração e os compostos presentes foram identificados por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas. Dos compostos identificados, 2-hexanona, cis-ocimeno e 4-octenoato de etila e suas misturas foram formulados em substrato e testados em ensaios de laboratório. As formulações contendo 2-hexanona e cis-ocimeno desencadearam maior atração em fêmeas. Por outro lado, o 4-octenoato de etila como componente das misturas testadas, diminuiu a resposta de atração de fêmeas para as formulações, funcionando como inibidor.

Palavras-chave: Mosca-das-frutas do Mediterrâneo. Cairomônio. Microencapsulamento.

Introdução:

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas e dentre as regiões brasileiras produtoras de frutos para exportação, o Nordeste se destacou contribuindo com 72,2% da produção nacional em 2016 (IBRAF, 2017). Apesar do evidente crescimento da fruticultura brasileira, o Brasil sofre anualmente perdas significativas com o ataque de insetos-pragas. As espécies de moscas-das-frutas pertencentes à família Tephritidae, *Anastrepha fraterculus*, *Anastrepha obliqua* e *Ceratitis capitata*, fazem parte de um grupo de pragas responsáveis por causar grandes prejuízos a produção de frutas (BARBOSA *et al.*, 2001; CUNHA *et al.*, 2000).

A comunicação entre estes insetos ocorre através de semioquímicos, que podem ser usados no controle de pragas, pois não são tóxicos e atuam em quantidades extremamente pequenas (VILELA & MAFRANETO, 2001). No Brasil, o gênero *Ceratitis* é um dos mais importantes economicamente, infestando a maioria das frutas produzidas no país (ZUCCHI, 2000). No Estado de Alagoas, Gonçalves (2006) relatou a ocorrência de *A. obliqua* em manga e carambola, *A. fraterculus* em goiaba e *C. capitata* em goiaba e carambola. A exposição destas moscas ao seu hospedeiro aumenta o seu desempenho sexual em relação as moscas não expostas (NISHIDA *et al.*, 2000; VERA *et al.* 2010). Além disso, Gonçalves (2006) observou similaridade entre a composição química do feromônio sexual de *C. capitata* e do fruto hospedeiro carambola. Três compostos são comuns entre eles: 2-hexanona, cis-ocimeno e 4-octenoato de etila.

Desta forma, o presente estudo objetivou determinar a atratividade exercida por substâncias voláteis liberadas por frutos de carambola, formuladas em um substrato biopolimérico, na atração de fêmeas de *C. capitata*.

Metodologia:

1. Obtenção dos frutos sadios e infestados. As moscas de *C. capitata* foram obtidas de frutos de goiaba, carambola e amêndoa, hospedeiros preferenciais desta praga, coletados em pomares domésticos no município de Maceió-AL. As populações foram estabelecidas e mantidas no laboratório de Ecologia Química (IQB/UFAL), com temperatura de 25°C, umidade relativa de 60% e fotoperíodo de 14 horas (14h dia/10h noite). Após a emergência, os insetos adultos foram transferidos para gaiolas de vidro e mantidos com uma dieta artificial e água mineral.

2. Obtenção dos extratos de frutos. Foi utilizada a técnica de aeração empregando 250g de frutos de carambola sadios colocados em um dessecador de vidro com fluxo de ar contínuo por um período de 24 horas. Findo este tempo, os compostos aprisionados em adsorvente foram dessorvidos com hexano bidestilado, para obtenção dos extratos, que serviram para utilização nos ensaios de laboratório, como tratamento-testemunha, visto que os compostos presentes nestes odores já foram identificados por Gonçalves (2006).

3. Preparo das soluções dos compostos e formulações. Os compostos sintéticos: 2-hexanona, cis-ocimeno e 4-octenoato de etila obtidos comercialmente, foram diluídos em hexano bidestilado para obtenção de soluções com as seguintes concentrações 0,2; 0,02 e 0,002 µL/mL. E posteriormente foram preparadas misturas binárias e ternárias desses compostos nestas mesmas concentrações. Os compostos individuais e as misturas em diferentes concentrações foram impregnados em 10 mg do substrato, preparado no Laboratório de Eletroquímica e Microsistemas de Análise (LEMAN) sob supervisão da Profa. Dra. Fabiane Caxico de Abreu Galdino. A

impregnação foi realizada através de adsorção por contato por 24h a 25°C, injetando 50 µL das soluções, para a obtenção de formulações com as seguintes doses: 10 ng, 1 ng e 0,1 ng.

4. Testes de laboratório com as formulações. Para analisar a atratividade de fêmeas de *Ceratitis capitata* para formulações contendo: extrato do fruto, compostos individuais e as misturas, as formulações foram testadas em fêmeas acasaladas de 09-15 dias. Para tanto, as formulações foram colocadas em um tubo tipo eppendorf e, este, foi colocado no topo central de uma arena de vidro. Em seguida, 3 fêmeas foram expostas às formulações e os dois comportamentos exibidos pelas fêmeas, a saber: voo direcionado e toque na fonte de odor, foram observados e registrados durante 20 minutos. Os bioensaios foram realizados das 09:00 às 11:00, sendo 6 repetições para cada tratamento.

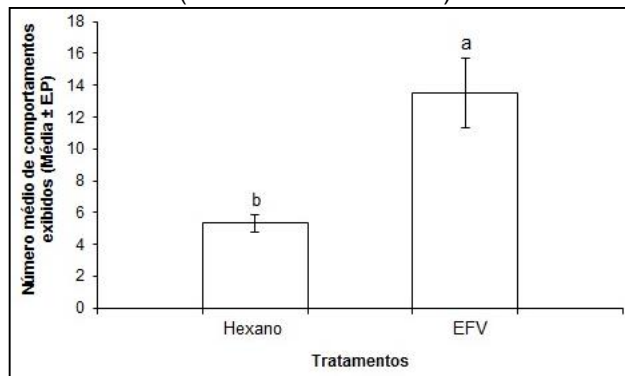
5. Estatística. Os dados obtidos foram analisados primeiramente com a finalidade de verificar os pressupostos paramétricos de normalidade e homogeneidade das variâncias dos resíduos. Uma vez que os parâmetros de normalidade não foram atendidos o teste não-paramétrico do qui-quadrado foi aplicado a fim de verificar quais tratamentos influenciaram no comportamento de atração.

Resultados e Discussão:

1. Atratividade de fêmeas acasaladas de *C. capitata* para formulações contendo o tratamento controle (hexano) e tratamento testemunha (Extrato do fruto verde)

Os resultados ilustrados na figura 1 demonstram que as fêmeas de *C. capitata* são mais atraídas para o tratamento-testemunha (extrato do fruto verde) do que para o tratamento-controle (hexano), os quais apresentam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Tukey (HSD) ($p < 0.05$).

Figura 1: Resposta atrativa de fêmeas acasaladas de *C. capitata* para formulações contendo o tratamento controle (hexano) e tratamento testemunha (Extrato do fruto verde)

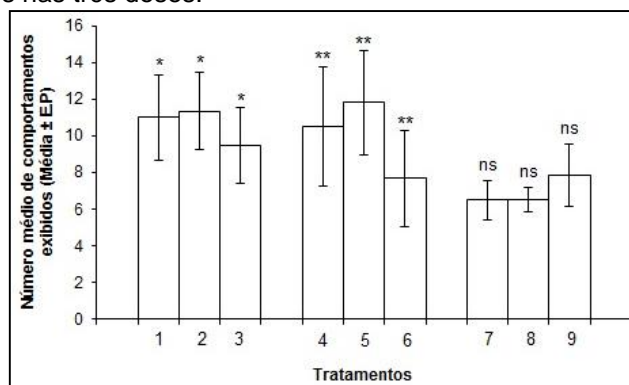


Letras diferentes sobre as colunas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey (HSD) ($p < 0.05$)

2. Atratividade de fêmeas acasaladas de *C. capitata* para formulações contendo as soluções dos compostos sintéticos individuais nas três doses.

Nos ensaios de laboratório empregando as formulações contendo os compostos sintéticos testados, em três diferentes doses, foi demonstrado que as fêmeas foram mais atraídas para os compostos 2-hexanona e o *cis*-ocimeno nas três doses testadas (figura 2). O composto 2-hexanona não foi identificado por outros pesquisadores na mistura feromonal de *C. capitata*. Vanicková e colaboradores (2012) mencionaram, que o ambiente de origem das populações, uma vez que as condições de temperatura, umidade relativa e fotoperíodo não são compatíveis entre as regiões, também pode estar associada a genética peculiar de cada população, gerando diferenciação na composição feromonal de cada uma delas. Outras cetonas como os isômeros 2-octanona e 3-octanona foram identificadas por Vanicková e colaboradores (2012) como presentes na composição feromonal de três populações diferentes de *C. capitata*. Light e colaboradores (1988) e Baker e colaboradores (1995) identificaram os isômeros do β -ocimeno como presente na composição feromonal de *C. capitata*, porém esses autores não demonstraram a atratividade desta espécie para esses compostos.

Figura 2: Resposta atrativa de fêmeas de *C. capitata* para formulações contendo as soluções dos compostos sintéticos individuais testados nas três doses.



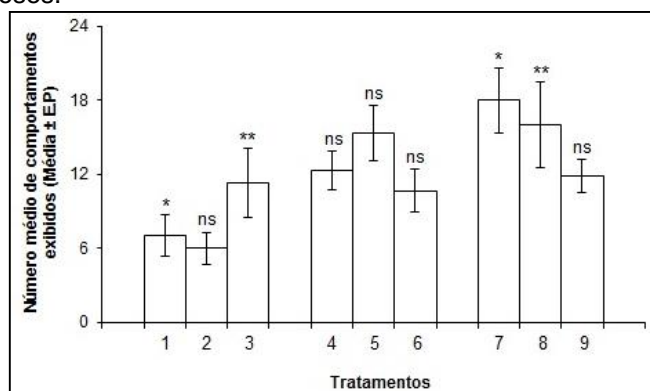
As colunas numeradas como 1, 2 e 3 representam o composto, 2-hexanona nas doses de 10 ng, 1,0 ng e 0,1 ng respectivamente. As numeradas como: 4, 5 e 6 são o composto *cis*-ocimeno nas doses de 10 ng, 1,0 ng e 0,1 ng respectivamente, e as numeradas como: 7, 8 e 9 são o composto 4-octenoato de etila nas doses de 10 ng, 1,0

ng e 0,1 ng respectivamente. As barras com ** indica resultado significativo ao nível de 99,9% de confiança ($p < 0.01$); * significativo ao nível de 99,5% de confiança ($0.01 = < p < 0.05$) e ns indica resultado não significativo ($p \geq 0.05$).

3. Atratividade de fêmeas acasaladas de *C. capitata* para formulações contendo as soluções das três misturas binárias nas três doses.

Os resultados dos ensaios empregando as formulações contendo as misturas binárias dos compostos individuais testados demonstraram que as misturas dos compostos 2-hexanona + *cis*-ocimeno e 2-hexanona + 4-octenoato de etila, ambas na dose de 10 ng, apresentaram resultado estatístico significativo. De maneira análoga, as misturas, 2-hexanona + *cis*-ocimeno, na dose de 0,1 ng e 2-hexanona + 4-octenoato de etila, na dose de 1,0 ng, também apresentaram resposta estatística significativa. Os demais tratamentos não apresentaram resultados estatísticos significativos (figura 3). Observou-se ainda que o composto 4-octenoato de etila pode funcionar como inibidor das respostas das fêmeas para as misturas das quais ele é um dos componentes. Oliveira (2010), em seu estudo sobre os compostos que eliciaram melhores respostas eletrofisiológicas para *A. fraterculus*, as mais altas respostas foram obtidas quando as substâncias (*E*)-3-hexen-1-ol e (*Z*)-3-butirato de hexila fizeram parte da mistura desses compostos, em comparação com as dos compostos isolados. O mesmo ainda concluiu que todas as misturas usadas nos testes apresentaram as maiores respostas, comprovando com isso um efeito aditivo das combinações usadas, sendo o tipo de mistura e a proporção entre eles, os fatores que contribuem para a exibição das melhores respostas por parte dos insetos. Esse efeito foi observado neste estudo com as misturas binárias, já que a atratividade das misturas foi maior do que quando testados os compostos individuais, porém um efeito inibidor do composto 4-octenoato foi observado.

Figura 3: Resposta atrativa de fêmeas de *C. capitata* para formulações contendo as soluções das três misturas binárias testados nas três doses.

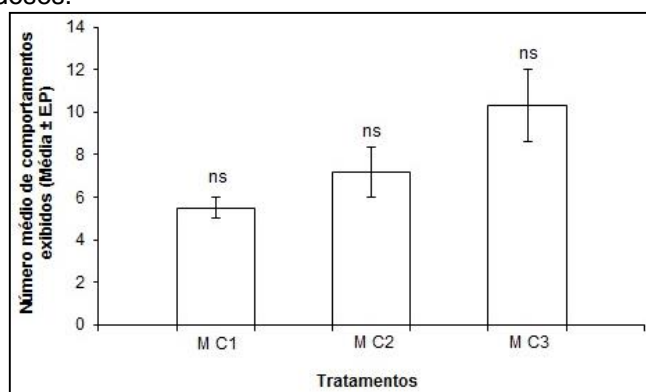


As colunas numeradas como 1, 2 e 3 representam a mistura dos compostos 2-hexanona + *cis*-ocimeno nas doses de 10 ng, 1 ng e 0,1 ng respectivamente. As numeradas como: 4, 5 e 6 são a mistura dos compostos 2-hexanona + 4-octenoato de etila nas doses de 10 ng, 1 ng e 0,1 ng respectivamente, e as numeradas como: 7, 8 e 9 são a mistura dos compostos *cis*-ocimeno + 4-octenoato de etila nas doses de 10 ng, 1 ng e 0,1 ng respectivamente. As barras com ** indica resultado significativo ao nível de 99,9% de confiança ($p < 0.01$); * significativo ao nível de 99,5% de confiança ($0.01 = < p < 0.05$) e ns indica resultado não significativo ($p \geq 0.05$).

4. Atratividade de fêmeas acasaladas de *C. capitata* para formulações contendo as soluções das três misturas ternárias nas três doses.

Diante das formulações contendo as misturas ternárias testadas em três diferentes doses, observou-se que as fêmeas foram atraídas para estes tratamentos, porém com resultados não significativos, os quais não diferiram entre si (figura 4).

Figura 4: Resposta atrativa de fêmeas de *C. capitata* para formulações contendo as soluções das três misturas ternárias testados nas três doses.



As colunas MC1, MC2 e MC3 representam a mistura ternária dos compostos 2-hexanona + 4-octenoato de etila + *cis*-ocimeno nas doses 10 ng, 1 ng e 0,1 ng respectivamente. ns indica resultado não significativo ($p \geq 0.05$).

Conclusões:

Este estudo demonstrou que alguns compostos comuns ao fruto hospedeiro carambola e ao feromônio sexual de machos de *C. capitata* em diferentes doses, funcionam como atraentes para fêmeas dessa espécie; Dentre as formulações testadas nos ensaios comportamentais, a 2-hexanona e *cis*-ocimeno nas três doses testadas, foram as que desencadearam maior atração em fêmeas de *Ceratitidis capitata*. Entretanto, as formulações contendo o composto 4-octenoato de etila, como componente das misturas binária e ternária testadas, diminuí o efeito de atração de fêmeas desta espécie para as formulações, funcionando, neste contexto, como inibidor.

Referências bibliográficas

- BARBOSA, F.R.; NASCIMENTO, A.S.; OLIVEIRA, J.V.; ALENCAR, J.A.; HAJI, F.N.P. Pragas. In: BARBOSA, F. R. (Ed.). Goiaba: Fitossanidade. **Frutas do Brasil**. Embrapa Semi-Árido, Petrolina, PE, 29-54p. 2001.
- BAKER, T.C.; COSSÉ, A.A.; TODD, L.J.; MILLAR, J.G. MARTÍNEZ, L. A.; Electroantennographic and coupled gas chromatographic electroantennographic responses of the mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata*, to male-produced volatiles and mango odor. **Journal of Chemical Ecology**. p. 1823–1836. 1995.
- CUNHA, M.M.; SANTOS FILHO, H.P.; NASCIMENTO, A.S. Manga: Fitossanidade. **Frutas do Brasil**. Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA, 104p. 2000.
- GONÇALVES, G.B. **Identificação de constituintes voláteis das glândulas salivares de machos de *Ceratitidis capitata* e *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae) e de seu hospedeiro *Averrhoa carambola* L.** Tese de Doutorado em Química. Instituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió. 2006.
- IBRAF. 2017. **Instituto Brasileiro de Frutas**. Disponível em http://www.ibraf.org.br/estatisticas/est_frutas.asp. Acesso em: 05 de janeiro de 2018.
- JANSSON-CHARRIER, GUIBAL, M.E., ROUSSY, J., DELANGHE, B.E, LE CLOIREC, P. 1996. **Vanadium (IV) sorption by chitosan: kinetics and equilibrium**. *Water Research* 30, pp. 465–475.
- LIGHT, D. M.; JANG, E.B. e DICKENS, J. C. Electroantennogram Response of the Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitidis capitata*, to a Spectrum of Plant Volatiles. **Journal of chemical Ecology** v.14. p. 159-180. 1998.
- NISHIDA, R., SHELLY, T.E., HANESHIRO, K.Y., TAN, K.H. Roles of semiochemicals in mating systems: a comparison between oriental fruit fly and medfly. In: Area wide control of fruit flies and other insect pests. Ed. by Tan, K.H. **Penerbit University Sains Malaysia**. Penang, Malaysia, 631-637. 2000.
- OLIVEIRA, R. B. **Sensilas antenais de *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) e respostas a voláteis de frutíferas, substâncias sintéticas e a produtos fitossanitários utilizados na produção orgânica**. Tese de Doutorado. Ricardo Bissoto de Oliveira. – Porto Alegre: R. B. de Oliveira, 2010.
- VERA, M.T., RUIZ, M.J., OVIEDO, A., ABRAHAM, S., MENDOZA, M., SEGURA, D., KOULOSSIS, N.A. & WILLINK, E. 2010. **Fruit compounds affect male sexual success in the South American fruit fly, *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae)**. *J. Appl. Entomol.* (early view). DOI:10.1111/j1439.0418.2010.01516.
- VILELA, E.F. & MAFRA-NETO, A. Registro de feromônios comerciais e legislação. In: Vilela, E.F. & Della Lucia, T.M.C. (Eds). **Feromônios de Insetos**. 2ª Ed. Holos, Ribeirão Preto, SP. p.151-159. 2001.
- VANICKOVÁ, L. **Chemical ecology of fruit flies genera *Ceratitidis* and *Anastrepha***. PhD Thesis. Institute of Chemical Technology, Faculty of Food and Biochemical Technology, Department of Chemistry of Natural Compounds, Praga, República Theca, 2012.
- ZUCCHI, R.A. Espécies de *Anastrepha*, Sinonímias, Plantas hospedeiras e Parasitoides. In: MALAVASI, A. & ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Moscas das frutas de importância econômica no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos.