

UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE ARARAQUARA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Micro-extração em fase sólida (SPME) *in situ* e comparação de compostos voláteis em variedades de manga (*Mangifera indica* L.) resistentes e suscetíveis à mosca-das-frutas *Anastrepha obliqua* (Macquart) (Diptera: Tephritidae)

CHRISTIANN DAVIS TOSTA

Tese de doutorado
2014

Instituto de Química

CHRISTIANN DAVIS TOSTA

Micro-extração em fase sólida (SPME) *in situ* e comparação de compostos voláteis em variedades de manga (*Mangifera indica* L.) resistentes e suscetíveis à mosca-das-frutas *Anastrepha obliqua* (Macquart) (Diptera: Tephritidae)

Tese apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, no âmbito do Programa DINTER - CAPES com o Instituto Federal do Mato Grosso, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Química

Orientador: Prof. Dr. Alberto José Cavalheiro

Araraquara
2014

FICHA CATALOGRÁFICA

T716m	<p>Tosta, Christiann Davis</p> <p>Micro-extração em fase sólida (SPME) <i>in situ</i> e comparação de compostos voláteis em variedades de manga (<i>Mangifera indica</i> L.) resistentes e suscetíveis à mosca-das-frutas <i>Anastrepha obliqua</i> (Macquart) (Diptera: Tephritidae) / Christiann Davis Tosta. – Araraquara : [s.n.], 2014 128 f. : il.</p> <p>Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química Orientador: Alberto José Cavalheiro</p> <p>1. Ecologia química. 2. Compostos orgânicos voláteis. 3. Manga. 4. Mosca. 5. <i>Anastrepha</i>. I. Título.</p>
-------	---


Elaboração: Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação do Instituto de Química de Araraquara
Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação

CHRISTIANN DAVIS TOSTA

Tese apresentada ao Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista, como parte
dos requisitos para obtenção do título de
Doutor em Química.


Araraquara, 18 de dezembro de 2014.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Alberto José Cavalcheiro (Orientador)
Instituto de Química – UNESP, Araraquara

Cíntia Milagre
Profª Drª Cíntia Duarte de Freitas Milagre
Instituto de Química – UNESP, Araraquara



Profª Drª Mara Cristina Pinto
Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP, Araraquara

R. O. Alves de Brito
Prof. Dr. Reinaldo Otávio Alvarenga Alves de Brito
Universidade Federal de São Carlos – UFSCAR, São Carlos



Dr. Miguel Francisco de Souza Filho
Instituto Biológico da Secretaria de Agricultura e Abastecimento - APTA, Campinas

DADOS CURRICULARES

Christiann Davis Tosta

Concluiu a graduação em Engenharia agrônoma pela Universidade Federal de São Carlos em 2001. É mestre em Ciência e Tecnologia de alimentos pela Universidade de São Paulo-USP desde 2002, terminando o doutorado em química em 2014 junto ao Instituto de Química da Unesp Araraquara. Foi professor do Instituto Federal de Mato Grosso - IFMT, ocupando o cargo de vice-diretor do campus São Vicente por 3 anos, respondendo também pelo Departamento de Pesquisa. Atualmente é professor do Instituto Federal de São Paulo - IFSP *campus* Matão. Atua na área de tecnologia de alimentos, especialmente com inovação tecnológica, sub-áreas de processamento de frutas, laticínios e análise sensorial. Os termos abundantes em seu currículo são: agregação de valor, manga orgânica, jacaré do pantanal, desidratação de vegetais, *Lactobacillus*, *Saccharomyces cerevisiae*, biotipagem de leveduras, doenças de plantas, fermentação, leveduras killer, identificação de leveduras, leite e derivados e moscas-das-frutas.

e-mail para contato : cdtosta@yahoo.com.br

Formação acadêmica/titulação

2014 Doutorado em Química.

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, São Paulo, Brasil

Título: SPME *in situ* e comparação de compostos voláteis em variedades de manga (*Mangifera indica* L.) resistentes e suscetíveis à mosca-das-frutas (*Anastrepha obliqua* Macquart, Diptera: Tephritidae)

Orientador: Alberto José Cavalheiro

Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

2002 - 2004 Mestrado em Ciências: Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, Brasil

Título: Biotipagem de leveduras industriais através do sistema Killer, Ano de obtenção: 2004

Orientador: Sandra Regina Ceccato Antonini

Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

1996 - 2001 Graduação em Engenharia Agrônoma.

Universidade Federal de São Carlos, UFSCAR, São Carlos, Brasil

Título: Potencial fermentativo de leveduras killer e ação das toxinas durante o processo

Orientador: Sandra Regina Ceccato Antonini

Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

Atuação profissional

1. Instituto Federal de São Paulo – IFSP *campus* Matão

2014 - **Atual** Docente efetivo em Dedicção exclusiva. Disciplinas ministradas:

- Qualidade da matéria-prima
- Ecofisiologia de plantas para produção de etanol
- Produção de cana-de-açúcar
- Sucos e Bebidas
- Análise Sensorial
- Leite e derivados

2. Instituto Federal de Mato Grosso – IFMT (antigo CEFET Cuiabá)

2008 - 2014 Docente efetivo em Dedicção exclusiva

08/2009 - 07/2012 *Vice-Diretor do Campus São Vicente*

02/2008 - 08/2009 *Chefe do Departamento de Pesquisa*

12/2007 - 02/2008 *Chefe do Departamento de Ensino*

08/2006 a 03/2014 Disciplinas ministradas:

- Análise sensorial
- Microbiologia geral e dos alimentos
- Bioquímica
- Qualidade no processamento de alimentos de origem animal ,
- Qualidade da matéria-prima
- Tecnologia de alimentos a base de soja
- Microbiologia de alimentos ,
- Metodologia do Trabalho Científico
- Processamento de vegetais
- Tecnologia de leite
- Leite e derivados
- Processamento de derivados de leite

3. Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso - FAPEMAT

2007 - 2010 Membro do Conselho Curador

5. Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios - APTA

2005 - 2006 Servidor público: Pesquisador Científico

6. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA

11/2004 - 08/2005 Pesquisador Científico, Bolsista DTI-CNPQ

Bio-solubilização de potássio em solos incubados com matérias orgânicas

7. Universidade Federal de São Carlos - UFSCAR

2005 - 2008 Vínculo: Colaborador , Pesquisador Científico , Carga horária: 6,

2004 - 2004 Vínculo: Professor colaborador , Carga horária: 16,

1998 - 2001 Vínculo: Estagiário ,

10/2004 - 10/2004 Graduação, Engenharia agrônoma. *Sequenciamento genético na disciplina de Biotecnologia agroindustrial*

03/2004 - 06/2004 Graduação, Engenharia agrônoma, *Disciplinas ministradas: Botânica Sistemática*

03/1998 - 03/2001 Pesquisa e Desenvolvimento: *Biotecnologia da fermentação etanólica*

02/1998 - 02/2001 Estágio: *Microbiologia de leveduras, atividade killer e manutenção de banco de leveduras*

Áreas de atuação

1. Tecnologias de Processamento de Alimentos
2. Química orgânica e ecologia química
3. Melhoramento de plantas
4. Microbiologia
5. Agregação de Valor
6. Fermentação

Prêmios e títulos

2009 Melhor projeto de iniciação científica e tecnológica de Mato Grosso, Instituto Euvaldo Lodi-IEL e CNPq (orientador)

2008 Melhor projeto Científico - II Mostra Estadual de Ciências, Governo do Estado de Mato Grosso – Secretaria de Estado de Ciências de MT

Artigos completos publicados em periódicos

1. Ceccato-Antonini, Sandra Regina, TOSTA, Christiann Davis, SANINO, Adriana, ARAÚJO, Juliana C. The Killer Yeasts and the alcoholic fermentation. Brazilian Journal of Food Technology (Online). , v.1, p.40 - 47, 2005.

2. Ceccato-Antonini, Sandra Regina, TOSTA, Christiann Davis, SILVA, Ana Claudia da Determination of Yeast Killer Activity in Fermenting Sugarcane Juice Using Selected Ethanol-making Strains. Brazilian Archives of Biology and Technology. , v.47, p.13 - 23, 2004.

Livro publicado

1. TOSTA, Christiann Davis, Cordeiro, Madison Willi, Paiva, Gilmar Borges, Mesquita, Jefferson Junqueira, Pavani, Maísa, Girardi, Wilson, Coletânea BITEC 2008 - 2010. Brasília : IEL/NC, 2010, v.1. p.397.

Trabalhos publicados em anais de eventos (completo)

1. FRANCISCO, Fabio José, COSTA, Aluizio Alves da, TOSTA, Christiann Davis, SILVA, J. L. da, LEITE, Franciane Bastos da Silva ESTUDO DA QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA DE DIFERENTES MARCAS DE CHARQUES COMERCIALIZADOS EM CUIABÁ-MT In: IV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE CARNES, 2007, Campinas. IV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE CARNES. , 2007.

2. SILVA, J. L. da, Costa, Aluizio Alves da, TOSTA, Christiann Davis, STADNIK, Priscila, LEITE, Franciane Bastos da Silva. ESTUDO DA QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA DE DIFERENTES MARCAS DE JERDEK BEEF COMERCIALIZADOS EM CUIABÁ-MT In: IV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE CARNES, 2007
IV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE CARNES. , 2007.

3. TOSTA, Christiann Davis. Elaboração de produtos lácteos In: I Jornada da Produção Científica da Educação Profissional e Tecnológica da Região Centro-Oeste, 2006, Cáceres-MT. I Jornada da Produção Científica da Educação Profissional e Tecnológica da Região Centro- Oeste. , 2006. v.01.

4. TOSTA, Christiann Davis, Ceccato-Antonini, Sandra Regina, Eficiência de Meios Seletivos no Monitoramento de Leveduras na Fermentação Alcoólica Atestada por PCR. In: XV Simposio Nacional de Bioprocessos - SINAFERM, 2005, Recife. XV Simposio Nacional de Bioprocessos - SINAFERM. , 2005.

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1. TOSTA, Christiann Davis, SILVA, A. A., CAVALHEIRO, A. J. Latex volatile compounds from nine mango varieties In: 4th BRAZILIAN CONFERENCE ON NATURAL PRODUCTS (BCNP) and the XXX ANNUAL MEETING ON MICROMOLECULAR EVOLUTION, SYSTEMATICS AND ECOLOGY (RESEM), 2013, Natal-RN. 4th Brazilian Conference on Natural Products. , 2013. v.1.

2. TOSTA, Christiann Davis, SILVA, A. A., CAVALHEIRO, A. J., Micro Extração em Fase Sólida (SPME) de compostos voláteis de látex de manga (Mangifera indica) In: Congresso Latino-Americano de Cromatografia e Técnicas Relacionadas, 2012, Florianópolis-SC. Colacro XIV. Florianópolis: COLACRO, 2012. v.1.

3. LEITE, Franciane Bastos da Silva, TOSTA, Christiann Davis, Nuhara Cristina Amaral, BARROS, A. B. Caracterização físico-química de bebida láctea com polpa de milho verde (Zea mays) In: II Congresso Latino Americano de Analistas de Alimentos - ENAAL, 2011, Cuiabá. II Congresso Latino Americano de Analistas de Alimentos - ENAAL. , 2011.

4. TOSTA, Christiann Davis, Mesquita, Aleksandro Tosta, ROSSETTO, C. J., Charles de Araujo, SIQUEIRA, Janiele Braga de, DIAS, A. C., STACKE, V. M., Rufino, Edicássio, Comportamento de 25 variedades de manga implantadas em mato grosso In: III Jornada Científica do IFMT campus São Vicente, 2009, Cuiabá. III Jornada Científica do IFMT campus São Vicente. Cuiabá: IFMT campus São Vicente, 2009. v.1.

5. Silva, Fadilene Ribeiro da, TOSTA, Christiann Davis, Santos, Magda Santos dos, Sampaio, Ludikele Soares, Silva, Sâmea Pereira Borges da, Avaliação sensorial de "requeijão" de soja com orégano In: III Jornada Científica do IFMT campus São Vicente, 2009, Cuiabá. III Jornada Científica do IFMT campus São Vicente. Cuiabá: IFMT campus São Vicente, 2009. v.1.

6. TOSTA, Christiann Davis, SOUSA, W., Mesquita, Jefferson Junqueira, Avaliação sensorial de três formulações de licor de jenipapo In: III Jornada Científica do IFMT campus São Vicente, Cuiabá. III Jornada Científica do IFMT campus São Vicente. Cuiabá: IFMT campus São Vicente, 2009. v.1.
7. Sampaio, Ludikele Soares, TOSTA, Christiann Davis, Santos, Magda Santos dos, Silva, Fadilene Ribeiro da, Nova, Janayna Soarea Brandão, Silva, Sâmea Pereira Borges da, Desenvolvimento de mistura em pó para sorvete com extrato de soja e polpa de manga In: III Jornada Científica do IFMT campus São Vicente, 2009, Cuiabá. III Jornada Científica do IFMT campus São Vicente. Santo Antônio do Leverger: , 2009. v.1.
8. TOSTA, Christiann Davis, FLORENTINO, D. F. P., Mesquita, Jefferson Junqueira, SOUSA, W., Cordeiro, Madison Willi, Elaboração e avaliação sensorial de paçoca de soja com babaçu In: III Jornada Científica do IFMT campus São Vicente, 2009, Cuiabá. III Jornada Científica do IFMT campus São Vicente. Cuiabá: IFMT campus São Vicente, 2009. v.1.
9. TOSTA, Christiann Davis, Mesquita, Jefferson Junqueira, Araújo, Marleide Guimarães de, Silva, Jorge Luiz da, Nascimento, Elaine Silva, Paiva, Gilmar Borges, Cordeiro, Madison Willi, BERGAMO, A. S., Girardi, Wilson, Levantamento de Salmonella sp. em cortes de jacaré do pantanal In: III Jornada Científica do IFMT campus São Vicente, 2009, Cuiabá. III Jornada Científica do IFMT campus São Vicente. Cuiabá: IFMT campus São Vicente, 2009. v.1.
10. Nova, Janayna Soarea Brandão, TOSTA, Christiann Davis, Silva, Fadilene Ribeiro da, Sampaio, Ludikele Soares, Silva, Sâmea Pereira Borges da, Tofu com goiabada: agregação de valor a soja In: III Jornada Científica do IFMT campus São Vicente, 2009, Cuiabá. III Jornada Científica do IFMT campus São Vicente. Cuiabá: IFMT campus São Vicente, 2009. v.1.
11. TOSTA, Christiann Davis, Araújo, Carlos A., Costa Barros, Edinéia, Vieira de Souza, Liergi Lindete, Aceitação sensorial dos alimentos inovadores apresentados na IV feira de tecnologia em alimentos do CEFET Cuiabá In: I Jornada Científica do CEFET Cuiabá, 2007, Santo Antonio do Leverger. I Jornada Científica do CEFET Cuiabá. Santo Antonio do Leverger: CEFET Cuiabá, 2007. v.1.
12. TOSTA, Christiann Davis, Araújo, Carlos A., Costa Barros, Edinéia, Vieira de Souza, Liergi Lindete Avaliação sensorial da substituição parcial da farinha de trigo pela de soja na fabricação de pão caseiro In: I Jornada Científica do CEFET Cuiabá, 2007, Santo Antônio do Leverger. I Jornada Científica do CEFET Cuiabá. Santo Antônio do Leverger: CEFET Cuiabá, 2007. v.1.
13. TOSTA, christiann Davis, Araújo, Carlos A., Costa Barros, Edinéia, Vieira de Souza, Liergi Lindete, Avaliação sensorial de suco misto de beterraba pré-desidratada em sacarose com suco integral de abacaxi In: I Jornada Científica do CEFET Cuiabá, 2007, Santo Antônio do Leverger. I Jornada Científica do CEFET Cuiabá. Santo Antônio do Leverger: CEFET Cuiabá, 2007. v.1.
14. TOSTA, Christiann Davis, Araújo, Carlos A., Costa Barros, Edinéia, Vieira de Souza, Liergi Lindete Avaliação sensorial de suco misto de cenoura pré-desidratada em sacarose com suco integral de maracujá In: I Jornada Científica do CEFET Cuiabá, 2007, Santo Antônio do Leverger. I Jornada Científica do CEFET Cuiabá. Santo Antônio do Leverger: , 2007. v.1.
15. TOSTA, Christiann Davis, Charles de Araujo, Pimenta, Alex Caetano, Paiva, Gilmar Borges, Oliveira, Niltomar, Implantação de coleção de variedades de manga no mato grosso In: I Jornada Científica do CEFET Cuiabá, 2007, Santo Antônio do Leverger. I Jornada Científica do CEFET Cuiabá. Santo Antônio do Leverger: , 2007. v.1.
16. TOSTA, Christiann Davis, ROSSETTO, C. J., Carvalho, C. R. L. de, FREITAS, R. S., GARCIA, F., MOREIRA, R. C. Seleção de variedades de manga para produção orgânica In: XIX Congresso Brasileiro de Fruticultura, 2006, Cabo Frio - RJ. XIX Congresso Brasileiro de Fruticultura. Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2006.
17. TOSTA, Christiann Davis, URASHIMA, Alfredo Seiiti, GALBIERI, Rafael, ARRUDA, Mauricio A, Análise da estrutura genética de populações de Magnaporthe grisea em trigo através de dna

fingerprinting In: xxviii congresso paulista de fitopatologia, 2005, São Paulo. xxviii congresso paulista de fitopatologia. Sociedade Paulista de Fitopatologia, 2005.

18. TOSTA, Christiann Davis, LAVORENTI, Norberto, MARCHETTI, Tiago, Ceccato-Antonini, Sandra Regina, Avaliação do efeito da inoculação de leveduras selecionadas na produção de vinho tinto seco a partir de variedades de uvas IAC 138-22 Maximo e Niagara In: Congresso Brasileiro de Microbiologia, 2005, Santos. Congresso Brasileiro de Microbiologia. São Paulo: Sociedade Brasileira de Microbiologia, 2005.

19. TOSTA, Christiann Davis, Biossolubilização de Potássio de Rocha Ultramáfica por *Aspergillus niger* In: Congresso Brasileiro de Microbiologia, 2005, Santos.

20. TOSTA, Christiann Davis, Ceccato-Antonini, Sandra Regina, SANINO, Adriana, ARAÚJO, Juliana C, The killer yeasts and the alcoholic fermentation In: 5º SIPAL: 5º Simposio Internacional De Producción De Alcoholes Y Levadura, 2005, Campos do Jordão. 5º Simposio Internacional De Producción De Alcoholes Y Levadura. Lorena-SP:FAENQUIL, 2005. v.1. p.3 – 4

21. ALCARDE, André Ricardo, ROSSI, Pamela, IEMMA, Juliana, TOSTA, Christiann Davis, Redução da viabilidade celular de levedura pela ação de bactérias In: VIII Encontro científico dos pós-graduandos no CENA-USP, 2002, Piracicaba. VIII Encontro científico dos pós-graduandos no CENA-USP. , 2002.

22. TOSTA, Christiann Davis, Potencial fermentativo de leveduras killer e ação das toxinas durante o processo In: Congresso de Iniciação Científica, 1999, São Carlos, 1999.

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo expandido)

1. TOSTA, Christiann Davis, Oliveira, Niltomar, GOUVEA, J. C., Sangiogo, Leonel, Lindner, Leslie, Avaliação sensorial de paçoca de babaçú (*Orbignya phalerata*) In: I Jornada Científica do CEFET Cuiabá, 2007, Santo Antônio do Leverger. I Jornada Científica do CEFET Cuiabá. Santo Antônio do Leverger: CEFET Cuiabá, 2007. v.1.

2. TOSTA, Christiann Davis, Araújo, Carlos A., Costa Barros, Edinéia, Vieira de Souza, Liergi Lindete, Produção de álcool a partir da fermentação do soro de queijo In: I Jornada Científica do CEFET Cuiabá, 2007, Santo Antônio do Leverger. I Jornada Científica do CEFET Cuiabá. Santo Antônio do Leverger: , 2007. v.1.

Artigos em jornal de notícias

1. TOSTA, Christiann Davis et al, Avaliação de compactação em citros. Citronews. Araras/SP, v.03, p.6 - 7, 1998.

Bancas e orientação de iniciação científica e trabalhos de conclusão – Graduação

1. TOSTA, Christiann Davis, Araújo, Marleide Guimarães de, Piaia, Ivane Ines, Participação em banca de Suellem Silva Nascimento. Cappuccino com pó de guaraná, 2011 (Tecnologia em Alimentos) Instituto Federal de Mato Grosso

2. Araújo, Marleide Guimarães de, Silva, Jorge Luiz da, TOSTA, Christiann Davis Participação em banca de Elaine Nascimento. Hamburguer de jacaré, 2011 (Tecnologia em Alimentos) Instituto Federal de Mato Grosso

3. Sampaio, Ludikele Soares, TOSTA, Christiann Davis. Participação em banca de Ludikele Soares Sampaio. Desenvolvimento de sorvete em pó a base de leite de soja com polpa natural de manga, 2010 (Tecnologia em Alimentos) Instituto Federal de Mato Grosso.

4. Silva, Fadilene Ribeiro da, TOSTA, Christiann Davis. Participação em banca de Fadilene Ribeiro da Silva. Avaliação sensorial de “requeijão” de soja com orégano, 2009 (Tecnologia em Alimentos) Instituto Federal de Mato Grosso

5. Longuin, Adriano Rosa, TOSTA, Christiann Davis. Participação em banca de Adriano Rosa Longuin. Caracterização microbiológica de iogurte de leite de vaca com rapadura, 2009 (Tecnologia em Alimentos) Instituto Federal de Mato Grosso
6. Silva, Claudiane Lopes da, TOSTA, Christiann Davis. Participação em banca de Claudiane Lopes da Silva. Comparação de aditivo natural e artificial para bebida láctea fermentada sabor abacaxi: análise microbiológica e sensorial., 2009 (Tecnologia em Alimentos) Instituto Federal de Mato Grosso
7. STADNIK, Priscila, TOSTA, Christiann Davis Participação em banca de Priscila Stadnik. Elaboração de suco de manga em pó enriquecido com levedura, 2009 (Tecnologia em Alimentos) Instituto Federal de Mato Grosso
8. Nova, Janayna Soarea Brandão, TOSTA, Christiann Davis, Participação em banca de Janayna Soares Brandão NOVA. Tofu com goiabada: agregação de valor a soja, 2009 (Tecnologia em Alimentos) Instituto Federal de Mato Grosso
9. Pinheiro, Leandro, TOSTA, Christiann Davis Participação em banca de Leandro Pinheiro. Doce de leite com mastruz e hortelã: alimento nutracêutico com ação fitoterápica, 2008 (Tecnologia em Alimentos) Instituto Federal de Mato Grosso
10. Cordeiro, Madison Willi, Yamada, Eunice Akemy, TOSTA, Christiann Davis, Participação em banca de MADISON WILLY SILVA CORDEIRO. Elaboração de produto embutido fermentado cozido, 2008 (Tecnologia em Alimentos) Instituto Federal de Mato Grosso
11. Paiva, Gilmar Borges, TOSTA, Christiann Davis. Participação em banca de Gilmar Borges de Paiva. Elaboração e Análise Sensorial de Lingüiça Frescal e Defumada de Jacaré do Pantanal (Caimam crocodilus yacare), 2008 (Tecnologia em Alimentos) Instituto Federal de Mato Grosso
12. LEITE, Franciane Bastos da Silva, TOSTA, Christiann Davis, Participação em banca de Franciane Bastos da Silva Leite. Elaboração e avaliação sensorial de bebida láctea com polpa de milho verde (Zea mays), 2008 (Tecnologia em Alimentos) Instituto Federal de Mato Grosso.
13. Babilônia, José Libêncio, TOSTA, Christiann Davis, Costa, Aluizio Alves da, Participação em banca de Andreza Krindges. Avaliação do Processo de Injeção e Cozimento no Rendimento na Qualidade Sensorial e Físico-Química de Cortes Bovinos, 2007 (Tecnologia Em Alimentos) Centro Federal de Educação Tecnológica de Cuiabá
14. TOSTA, Christiann Davis, Charles de Araujo, Souza, Xisto Rodrigues, Participação em banca de Edinéia Costa Barros. Avaliação sensorial de suco misto de cenoura pré-desidratada em sacarose com suco integral de maracujá, 2007 (Tecnologia em Alimentos) Instituto Federal de Mato Grosso
15. TOSTA, Christiann Davis, Souza, Xisto Rodrigues Participação em banca de LIERGI LINDETE VIEIRA DE SOUZA. Manual de boas práticas de fabricação para indústria de ovo líquido congelado, 2007 (Tecnologia em Alimentos) Instituto Federal de Mato Grosso.
16. TOSTA, Christiann Davis, Costa, Aluizio Alves da, Covari, Leone, Participação em banca de Jonil Queiroz. Produção de Banana-passa, 2007 (Tecnologia em Alimentos) Instituto Federal de Mato Grosso
17. TOSTA, Christiann Davis, Covari, Leone Participação em banca de Beatriz Haralampidou. Avaliação físico-química e sensorial de chipa grega, 2006 (Tecnologia em Alimentos) Instituto Federal de Mato Grosso
18. TOSTA, Christiann Davis, Marconatto, Moacir Antônio, Costa, Aluizio Alves da Participação em banca de ÁDNA LEIDIER J. DE OLIVEIRA. Desenvolvimento de empada de Jau (Paulicea lutkeni) semi-pronta congelada, 2006 (Tecnologia em Alimentos) Instituto Federal de Mato Grosso.

Participação em banca de comissões julgadoras

1. Concurso público para provimento de cargo de Professor Federal - CEFET Cuiabá, 2007 Instituto Federal de Mato Grosso

*“E ainda que tivesse o dom de profecia,
conhecesse todos os mistérios, toda a ciência,
ainda que tivesse toda a fé, de maneira tal que transportasse os montes,
se não tivesse amor, nada seria.”*

Bíblia Sagrada, 1 Coríntios 13:2

Agradecimentos

À Deus, pela vida eterna e por realizar os desejos do meu coração;

Ao orientador prof. Dr. Alberto José Cavalheiro, pela coragem em aceitar o projeto, por ser amigo, simples, apoiador e compreensivo;

Ao meu núcleo familiar. Sem o apoio de vocês não teria sido possível. Minha amada Rita de Cássia Pereira Tosta e meus filhotes Christiann D. T. Filho e Samuel Pereira Tosta;

À minha família que sempre me apoiou na escalada: mamãe Maria Ighes do Carmo, papai João Garcia Tosta (*in memoriam*), manos Giceli do Carmo Tosta, Gislainni do C. T. Wieneke, João G. Tosta Junior, Daisy D. Tosta, José Alves Tosta Neto, Sandro Carvalho Tosta, sobrinhos(as) Luiza, Phillip, Lucas, Antonio Paulo; Maria Clara, Ana Carolina e Rafaela, cunhados(as), Sandra Carvalho e Jair Simões;

Ao Dr. Carlos Jorge Rossetto, um dos inspiradores deste projeto. Ideologista, humilde e um grande amigo. Obrigado pelo apoio nas coletas. Amo você Rossetto!

A todos os amigos do Nubbe, companheiros de batalha, pós-graduandos e professores, especialmente Alexander Alves da Silva (meu co-orientador não oficial e parceiro de coletas e análises), Gabriel Mazzi Leme, Cristiano Funari, Paula Bueno, Fernando Passarelli, Isabel Coutinho, Vinicius Ferreira, João Bronzel, Juliana Rodrigues, Vilma Pestana.

Àos irmãos das Igrejas Aliança do Paraíso e Presbiterianas de Campo Verde-MT, Araraquara-SP e Matão-SP, pelo amor e orações tão eficazes;

Ao Instituto de Química-IQ UNESP Araraquara, por abrir suas portas para alunos do Doutorado Inter-Institucional DINTER. Não foi fácil, mas valeu a pena! À Prof^a Dr^a Mary Rosa Rodrigues de Marchi, entusiasta do projeto e sempre disponível no apoio e sugestões. Ao prof. Dr. Wagner Vilegas pelo apoio ao DINTER e profa. Dra. Vanderlan Bolzani, pelo apoio a este projeto;

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas UNESP Araraquara, nas pessoas da Dra. Mara Cristina Pinto, pela disponibilização e orientações no túnel de vento e Dr. Luis Vitor Silva do Sacramento e Maria Angélica Lima Barretto, pelo apoio imprescindível para realização das análises físicas de casca;

À Universidade de São Paulo-USP Ribeirão Preto nas pessoas do Prof. Dr. Norberto Peporine Lopes e Izabel Cristina Casanova Turatti, pela disponibilização do Cromatógrafo com Espectrômetro de massas e orientações nas análises;

Aos Instituto Federal de Mato Grosso (IFMT) *campi* São Vicente e Bela Vista, nas pessoas do Prof. Dr. Marcos Pantoja, Prof. Dr. Wander Miguel de Barros e Profa. Dra. Valéria, que se empenharam para que o DINTER ocorresse e Instituto Federal de São Paulo (IFSP) campus Matão, pelo apoio institucional;

À Ogata citros, nas pessoas do Sr. Ademar Ogata e Meyre Regina Yamada, que disponibilizaram área e amostras para a realização deste trabalho. Sem vocês este trabalho não seria possível.

À Universidade Federal de São Carlos-UFSCar, nas pessoas da Dra. Arlene G. Corrêa e Karla da Silva Malaquias, que disponibilizaram e me orientaram no uso da aparelhagem de eletroantenografia. Especialmente também ao Dr. Reinaldo Alves de Brito e Samira Chahad Ehlers, que coletaram, identificaram e cederam diversas vezes as moscas para testes.

À APTA-Instituto Biológico, nas pessoas do Dr. Miguel Francisco de Souza Filho e Dr. Adalton Raga, pelas orientações e apoio e à APTA Regional Pindorama, na pessoa da Dra. Juliana A. Galli, por ceder amostras de manga para análises;

À seção de pós-graduação do IQ, Wennia Limonte, Sandra Pavanelli, sempre prestativos e buscadores de soluções;

À CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela aprovação e apoio ao DINTER Química IFMT-IQ UNESP Araraquara;

São tantos nomes que tenho o doutorado não como meu e sim nosso!

Resumo

As variedades de manga (*Mangifera indica* L.) mais produzidas comercialmente são suscetíveis às pragas comumente denominadas moscas-das-frutas, principalmente a espécie *Anastrepha obliqua*, o que leva a necessidade de emprego de defensivos químicos, onerando a produção e gerando problemas ambientais com resíduos químicos. Algumas variedades de manga são totalmente resistentes às moscas-das-frutas e, portanto, possuem fatores que a diferenciam das suscetíveis. O objetivo deste trabalho foi executar prospecção de compostos e características na busca da identificação dos referidos fatores químicos e/ou físico-químicos de resistência e/ou atração. Para tanto foram analisadas características de cascas, látex e comparados os compostos identificados e obtidos por micro-extração em fase sólida (SPME) *in situ* em frutos de variedades resistentes e suscetíveis. Identificados os compostos voláteis, realizaram-se testes eletroantegráficos e testes de atração em túnel de vento com *blends* sintéticos baseados na proporção dos principais compostos emitidos pelos frutos. Os resultados revelaram maior densidade de dutos lactíferos em variedade resistente e diferenças nos perfis de compostos voláteis de látex e de frutos, assim como nos diferentes estágios de maturação. Frutos verdes não apresentaram ésteres, que por sua vez passaram a integrar os principais compostos na fase madura, principalmente octanoato de etila e octanoato de metila. Os principais compostos encontrados em maior quantidade na condição de resistência foram limoneno, α -pineno, mirceno e humuleno, enquanto os que marcaram a condição de suscetibilidade foram octanoato de etila, octanoato de metila, δ -3-careno e aloaromadendreno. Os compostos α -copaeno, α -gurjuneno e β -selineno aparentam possível papel na repelência nos frutos ainda verdes, inclusive possivelmente funcionando como marcadores deste estágio de maturação, uma vez que seus teores caem com a maturação enquanto os ésteres tem seus teores aumentados. O *blend* sintético baseado nos nove principais compostos da variedade 'Palmer' mostrou-se atrativo à *Anastrepha obliqua* em túnel de vento, enquanto o *blend* da variedade 'Alfa' resistente não atraiu esta espécie.

Abstract

Solid Phase Micro-Extraction (SPME) *in situ* and comparison of volatile compounds in mango varieties (*Mangifera indica* L.) resistant and susceptible to fruit fly *Anastrepha obliqua* (Macquart) (Diptera: Tephritidae)

Many commercial varieties of mango (*Mangifera indica* L.) are susceptible to pests called fruit flies, as *Anastrepha obliqua*, an important specie. This leads to the need of the use of chemical pesticides, burdening the production and generating environmental problems. Some mango varieties are resistant to fruit flies and therefore having factors that differentiate it when comparing to the susceptible. The objective of this study was to perform exploration of compounds and to identify factors of resistance and/or attraction. Peel characteristics were analyzed and volatile compounds obtained by solid phase micro extraction (SPME) *in situ* were identified and compared in the latex (sap) and fruits from resistant and susceptible varieties. This technique is useful to reveal the compounds really liberated on orchard, avoiding artefacts formation and the losing of compounds. Electroantenographic and wind tunnel attraction tests were performed using the proportion of the major compounds emitted by mango fruits. The results showed higher density of lactiferous ducts in the resistant variety and differences of latex and fruit volatile compounds profiles, as well as in different stages of ripening. Green fruits showed no esters, which became part of the main compounds in the total ripe stage, mainly ethyl octanoate and methyl octanoate. The α -copaene, α -gurjunene and β -selinene compounds seem possible role in repellency in unripe fruits, including possibly functioning as green stage markers, since their levels fall with maturation while its esters have increased. The compounds found in greater quantity in the condition of resistance were limonene, α -pinene, myrcene and humulene, while the condition of susceptibility were marked by ethyl octanoate, methyl octanoate, δ -3-carene and aloaromadendreno. The synthetic blend based on nine main compounds of the variety 'Palmer' proved attractive to *Anastrepha obliqua* in the wind tunnel, while the 'Alfa' blend was not.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
1.1 MANGA.....	15
1.2 MOSCAS-DAS-FRUTAS.....	17
1.3 ECOLOGIA QUÍMICA.....	21
1.4 OBJETIVO GERAL.....	28
1.5 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	28
2. MATERIAL E MÉTODOS	28
2.1 COLETA DE AMOSTRAS DE FRUTOS E LÁTEX.....	28
2.2 ANÁLISES FÍSICAS DE EPICARPO DE FRUTOS DE MANGA.....	31
2.3 MICRO-EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (SPME) DE COMPOSTOS VOLÁTEIS.....	32
2.3.1. Quantidade de amostra, tempo e temperatura de extração.....	32
2.3.3 Seleção de fibras.....	33
2.3.4 Identificação de compostos voláteis.....	34
2.3.5 Extração in situ de voláteis de frutos.....	34
2.4 ELETROANTENOGRRAFIA.....	38
2.5 TESTES DE ATRAÇÃO EM TÚNEL DE VENTO.....	41
2.6 MANUTENÇÃO DE COLÔNIA DE ANASTREPHA OBLIQUA.....	44
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
3.1 ANÁLISES FÍSICAS DE EPICARPO DE FRUTOS DE MANGA.....	47
3.2 MICRO-EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (SPME) DE COMPOSTOS VOLÁTEIS.....	51
3.2.1 Quantidade de amostra, tempo e temperatura de extração.....	51
3.2.2 Seleção de fibras.....	51
3.2.3 Compostos voláteis.....	52
3.3 ELETROANTENOGRRAFIA.....	85
3.4 TESTES DE ATRAÇÃO EM TÚNEL DE VENTO.....	88
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS: APLICAÇÕES	95
5. CONCLUSÕES	97
REFERÊNCIAS	98
ANEXOS	110

1. Introdução

O modelo de agricultura mundial vem sofrendo transformações importantes nas últimas décadas, especialmente no chamado período pós-guerra, onde ocorreram importantes modificações nas formas de produção com a incorporação de novas tecnologias, tais como o uso da irrigação, variedades híbridas melhoradas geneticamente e a alta utilização de insumos agrícolas, como os fertilizantes e defensivos químicos. De fato estas inovações resultaram em aumento significativo na produtividade e conseqüentemente na produção. Este conjunto de ações e resultados acabou cunhado como a revolução verde. No entanto, ainda na década de 60, este modelo deixou claro que apresentava problemas. O livro intitulado *Primavera silenciosa* de Carson (1962) alertou para o problema do uso indiscriminado de inseticidas, que vinha dizimando populações inteiras, inclusive levou à proibição do uso do inseticida DDT. Apesar do alerta, ainda hoje o modelo de agricultura mundial é fortemente amparado no uso de grande quantidade de defensivos, incluindo os inseticidas. Desde a década de 60, cerca de 450 espécies de artrópodes foram reportadas como resistentes a inseticidas (HECKEL, 2012).

Por outro lado movimentos alternativos como a chamada agroecologia buscam conciliar atividades agrícolas com menor impacto ambiental, considerando e valorizando as questões de relações ecológicas envolvidas no processo produtivo, enquanto grandes empresas investem fortemente no desenvolvimento de novas moléculas inseticidas (WEZEL et al., 2009).

No Brasil, até 2009 haviam 298 inseticidas registrados na Agência Nacional de Vigilância Sanitária, dos quais somente 12 considerados inseticidas biológicos; estes geralmente com menor impacto ambiental. Na categoria de feromônios havia 28 registros para 19 espécies de pragas, enquanto a demanda era de 550 pragas apenas para as 50 principais culturas (ZARBIN; RODRIGUES, 2009)

Fato é que atualmente temos instrumental científico para avançar mais nas pesquisas de alternativas menos impactantes ambientalmente ou para a saúde dos consumidores. Cabe citar que pesquisas com métodos alternativos, como o de feromônios, já foi laureada com o prêmio Nobel a Adolf Butenandt em 1939 pela descoberta do bombicol, feromônio sexual do bicho-da-seda (*Bombyx mori*).

Na agricultura os alimentos de consumo direto obviamente oferecem maior risco de danos e alguns deles, como o pimentão, chegam ao absurdo de detecção de nível de resíduo acima do permitido pela legislação em 98% das amostras. Dos 18 vegetais onde mais se encontraram amostras contaminadas seis delas eram frutas, em intensidade de contaminação, morango (63,4%), abacaxi (32,8%), mamão (30,4%), laranja (12,2%), maçã (8,9%) e manga (4%), segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2010).

Conceitos e modelos de controle estiveram estagnados por 35 anos até aquele momento e mesmo hoje podemos dizer que poucas mudanças foram realizadas (ALUJA, 1994). O uso de compostos químicos naturais como atrativos, seja no monitoramento de populações ou mesmo para controle de insetos é vantajoso por se tratarem de produtos inofensivos aos humanos e ao ambiente, fatos que dão importância aos trabalhos de pesquisa com este objetivo (IBRAHIM et al., 2001; PETROSKI et al., 2005).

1.1 Manga

Segundo a Food and Agricultural Organization of United Nations (2013) a manga juntamente com goiaba e mangostão, ocupam o quinto lugar como frutas mais importantes no mundo, sendo a produção mundial dessas frutas, de cerca de 38,6 milhões de toneladas, das quais 1,9 milhões colhidas no Brasil. O maior produtor é a Índia, com 16,3 milhões de toneladas, com dados da safra 2010/11 (FOOD..., 2013).

O Brasil é o sexto maior produtor mundial de manga, tendo os estados da Bahia e São Paulo como os maiores, correspondendo a 54% do total produzido no país (KOHAYAKAWA, 2004; PINTO et al., 2011).

A produção de manga (*Mangifera indica*) no Brasil teve aumento de 8,8% entre os anos de 1990 a 1996, atingindo 762 mil toneladas. A partir de 1998 a manga está entre as frutas, juntamente com a maçã, que mais contribuem com as exportações brasileiras de frutas frescas (ASSIS, 2003). Dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística dão conta que em 2010 o Brasil produziu 1.188.911 toneladas de manga, com valor estimado em R\$ 600 milhões. Do total produzido

cerca de nove por cento são exportados, injetando US\$ 90 milhões na economia brasileira (INSTITUTO..., 2010).

Devido ao seu sabor, sua atrativa coloração e seu valor nutritivo, a manga é considerada uma das três mais importantes frutas tropicais em aproximadamente 94 países, após a banana e o abacaxi (MARTIN, 2006).

Há dois principais tipos de manga em função das origens, as da Indochina e as indianas. As da Indochina são caracterizadas por mangas achatadas, reniformes, alongadas, com a casca verde clara a amarelada e pouco ou nenhum tom de vermelho, como a variedade 'Espada', comum no Brasil. Já as indianas são mais arredondadas e com coloração avermelhada, especialmente quando os frutos ficam expostos ao sol. As principais variedades comerciais na América e Europa são advindas de cruzamentos e seleções que ocorreram na Flórida-EUA e possuem mais características típicas das indianas, tais como 'Palmer', 'Haden', 'Tommy Atkins', 'Kent' e 'Keitt'. Trata-se de espécie da família Anacardiaceae, originada na Ásia, suas árvores podem alcançar 30 metros de altura. Além das diferenças já citadas quanto à coloração e formato dos frutos, também o peso varia significativamente desde apenas cinquenta gramas a frutos com mais de um quilograma (Figura 1). A manga é cultivada mundialmente em áreas tropicais e subtropicais, onde o clima favorece seu crescimento (LITZ, 2009). O fruto é muito apreciado devido ao sabor e aroma característicos, sendo ainda rico em carboidratos, fibras, vitaminas e compostos antioxidantes, saudáveis aos consumidores (MARQUES et al., 2010). O aroma de manga é formado principalmente por terpenos, álcoois, lactonas e ésteres. Dentre estes compostos, os ésteres e terpenos voláteis são muito ligados às relações ecológicas da planta/fruto e seus hospedeiros, seja conferindo suscetibilidade ou resistência (HERRERA; PELLMYR, 2002). Chauhan et al., (2010) relatam que o perfil de componentes voláteis em manga são muito variáveis em função de diferentes variedades, localização geográfica, época do ano, maturação e formas de análises.

O último levantamento do número de variedades nos bancos de germoplasma oficiais brasileiros registrou 208 acessos. Tais bancos estão em quatro importantes âmbitos com programas de melhoramento genético de manga (Universidade Federal de Viçosa, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-EMBRAPA, Universidade Estadual de São Paulo-UNESP campus Jaboticabal e Agência Paulista de Tecnologia do Agronegócio-APTA), onde um dos objetivos é o

de selecionar e/ou criar variedades resistentes às moscas-das-frutas. No mundo, os bancos de germoplasma contam com aproximadamente 6 mil acessos, sendo a maior coleção a do Instituto de Pesquisa Hortícola da Índia em Bangalore com 1100 acessos (FERREIRA et al., 1999).

Figura 1. Diferenças de características em frutos de variedades de manga.

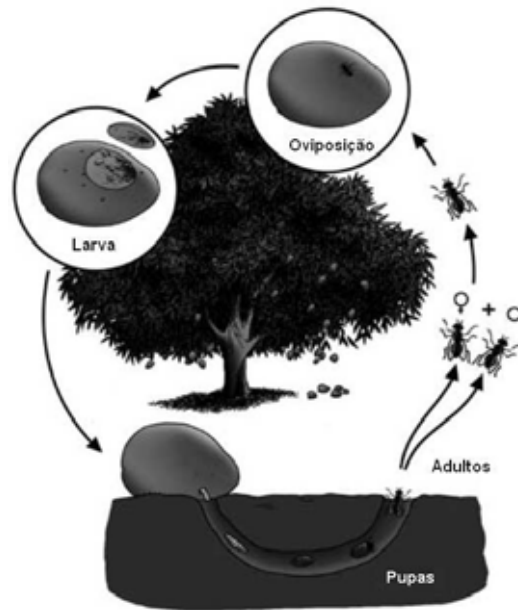


Fonte: Carlos J. Rossetto.

1.2 Moscas-das-frutas

As moscas-das-frutas compreendem diversos gêneros e espécies de insetos da ordem Diptera e família Tephritidae, que causam grandes danos a agricultura mundial, disseminadas em todos os continentes com exceção do Ártico e o Antártico. Alguns insetos da família Lonchaeidae são também considerados moscas-das-frutas, mas os danos econômicos desta família não são comparáveis aos da família Tephritidae. São conhecidas mais de 200 espécies de frutas e hortaliças cultivadas que hospedam as moscas-das-frutas em todo mundo, sendo as mais importantes os cítricos, pêssego, manga e goiaba. A figura 2 ilustra o ciclo reprodutivo das moscas-das-frutas.

Figura 2. Ilustração do ciclo reprodutivo de moscas-das-frutas.



Adaptado de How to control the mango fruit fly (2013)

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, em 2010, dentre os dez principais vegetais com problemas de resíduos de defensivos, seis são frutas e a classe dos inseticidas são, geralmente, as mais tóxicas. Zarkin e Rodrigues (2009) citam as moscas-das-frutas como um das principais pragas da agricultura brasileira.

O gênero *Anastrepha* é o de maior importância no Brasil, com 94 espécies descritas no país, sendo sete as espécies que apresentam importância econômica. *Anastrepha fraterculus*, conhecida como mosca-das-frutas-sul-americana, é a mais importante para a fruticultura brasileira, pois ataca mais de 6.000 espécies em 15 famílias, especialmente Myrtaceae, sendo a importante praga também em pomares de maçã, pêssigo, ameixa, laranja, mamão, uva e kiwi. (HICKEL; DUCROQUET, 1993, MALAVASI; ZUCHI, 2000; RAGA et al., 2006). *Anastrepha grandis*, mosca-da-abóbora, tem preferência por atacar frutos da família Cucurbitaceae, como abóbora, melancia e melão, sendo importante devido à característica quarentenária em países importadores de frutos do Brasil (BRAGA SOBRINHO et al., 2003). *Anastrepha pseudoparalella* é a principal espécie que ataca o maracujá, *Anastrepha sororcula*, também tem preferência por frutos da família Myrtaceae, mas também é encontrada em manga e café. *Anastrepha striata* ataca principalmente Myrtaceae e maracujá e finalmente *Anastrepha zenildae* também de importância em myrtaceae e outras famílias, especialmente no nordeste brasileiro (MALAVASI; ZUCHI, 2000).

As espécies encontradas com maior frequência causando danos especificamente e em ordem de importância à mangicultura são *Anastrepha obliqua*, *A. fraterculus* e *Ceratitis capitata* (Figura 3). Apesar de *A. obliqua* ser encontrada em 28 espécies de hospedeiros (SOUZA FILHO, 2006), a mesma possui preferência por plantas da família Anacardiaceae, como é o caso da manga e do cajá *Spondias mombim* (ZUCCHI, 2000). Ocorre também com muita expressão em carambola (*Averrhoa carambola*) da família Oxalidaceae. Apesar de carambola não se tratar de fruto com grande valor econômico é importante por propiciar o aumento populacional de *A. obliqua* e assim causar danos importantes em manga (MALAVASI; ZUCCHI, 2000).

Figura 3. Exemplos de *Anastrepha obliqua*, principal espécie de moscas-das-frutas na cultura da manga. Na fêmea, à esquerda, nota-se o detalhe do aparelho ovipositor, ausente no macho à direita.



Foto: Jorge Valdez.

A figura 4 a seguir mostra o momento da oviposição por *A. obliqua* em manga 'Tommy Atkins' e a figura 5 a aparência de danos causados por moscas-das-frutas em manga.

Figura 4. Oviposição de *A. obliqua* em fruto de manga 'Tommy Atkins'.



Foto: Christiann Davis Tosta

Figura 5. Fruto da esquerda, variedade 'Palmer' com lesão externa no local de oviposição e à direita danos internos no fruto.



Foto da esquerda: Christiann Davis Tosta e foto da direita: Dr. Carlos Jorge Rossetto.

Vários trabalhos confirmaram ser *A. obliqua* a mosca mais importante em manga (ALUJA et al., 1996; JIRÓN; HEDSTROM, 1991; CARREJO; GONZÁLEZ, 1994; ROSSETTO et al., 1996; KORYTKOWSKI, 2001; MARTINEZ; SERNA, 2005; ALUJA et al., 2014).

Com relação ao gênero *Ceratitidis*, apesar da ocorrência de apenas uma espécie importante, no caso *C. capitata*, a mosca-do-mediterrâneo, é mais polífaga do que as espécies de *Anastrepha*, ocorrendo em muitas famílias, gêneros e espécies de hospedeiros (MALAVASI; ZUCCHI, 2000; ARTHUR et al., 1993). Há relatos de ocorrência em manga, porém em intensidade muito menor do que *A. obliqua* (OLIVEIRA et al., 2009). Alguns autores citam que registros de *C. capitata* em pomares de manga ocorrem em armadilhas de monitoramento com isca de

proteína hidrolisada e não em frutos e isto se deve provavelmente à população advinda de outras frutas ou mesmo pomares domésticos (SÁ, 2006; ZUCCHI, 2000).

Os prejuízos mundiais causados por moscas-das-frutas foram estimados em cerca de 2 bilhões de dólares (MBARIA, 2011). No Brasil estimam-se prejuízos da ordem de 65 milhões de dólares por incidência de moscas em frutas (BALARIN, 2006). Com isso o país tem investido na solução do problema. Somente entre 2004 e 2006 os Ministérios da Agricultura, da Ciência e Tecnologia e da Integração Nacional, em conjunto com o estado da Bahia, investiram cerca de R\$ 17 milhões para implantação de uma fábrica de machos estéreis de moscas, visando a redução da população e seus danos, especialmente devido a expansão da fruticultura no nordeste brasileiro.

Apesar de importantes variedades comerciais de manga no Brasil (como `Palmer`, `Tommy Atkins`, `Kent`, dentre outras) serem suscetíveis às moscas-das-frutas, existem variedades totalmente resistentes e outras ainda com valores intermediários de resistência (TOSTA et al., 2006; ROSSETTO et al., 2009). Rossetto et al., (2006) observaram que quando larvas de mosca são transferidas para o interior de frutos de variedades resistentes, as mesmas conseguem se desenvolver normalmente, indicando que tal resistência pode ter relação com a casca do fruto ou com compostos voláteis nas interações ecológicas.

A presença de moscas-das-frutas em mangas exportadas é motivo frequente de embargos sanitários, especialmente por parte de grandes importadores do Brasil como os Estados Unidos da América e Comunidade Européia. Tais medidas influenciam sobremaneira negativamente as exportações brasileiras.

1.3 Ecologia química

Ecologia é o estudo do ambiente ou do lugar onde se vive, sendo termo bastante empregado em estudos da área da biologia, especialmente com relação as interações ecológicas entre seres vivos. Ecologia química é o nome dado ao estudo da participação dos compostos químicos nestas relações ecológicas. Insetos realizam suas relações ecológicas principalmente através da chamada comunicação química, ou seja, através da emissão e/ou percepção de compostos químicos com objetivos específicos. Zarbin e Rodrigues (2009) citam que o nome dado a estes compostos é o de semioquímicos, do grego *semeion*, que significa sinal. Nesta

categoria os compostos químicos são ainda nomeados de acordo com a função que exercem no ambiente, quais sejam, marcar uma trilha no caso dos insetos sociais, atrair indivíduo do sexo oposto para cópula ou mesmo localizar fontes de alimentação ou hospedeiros. Cairomônio é o termo utilizado quando o composto gera benefício para receptor, alomônio quando o benefício ocorre para o emissor e sinomônio quando os dois são beneficiados (Figura 6).

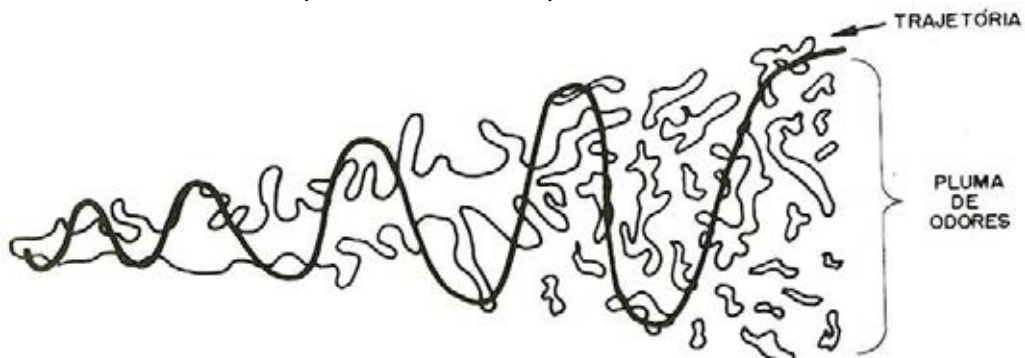
Figura 6. Nomenclatura de semioquímicos de acordo com suas utilidades.



Fonte: Zarbin e Rodrigues (2009)

Os compostos voláteis são muito utilizados na ecologia química, onde insetos conseguem detectar diferentes concentrações traçando rota para seu objetivo, seja alimentar ou reprodutivo. A figura 7 exemplifica possível percepção de voláteis por insetos no que é comumente chamada pluma de odores.

Figura 7. Trajetória hipotética de vôo de insetos em função de diferentes concentrações de compostos voláteis na pluma de odores.



Fonte: Paiva e Pedrosa-Macedo (1985).

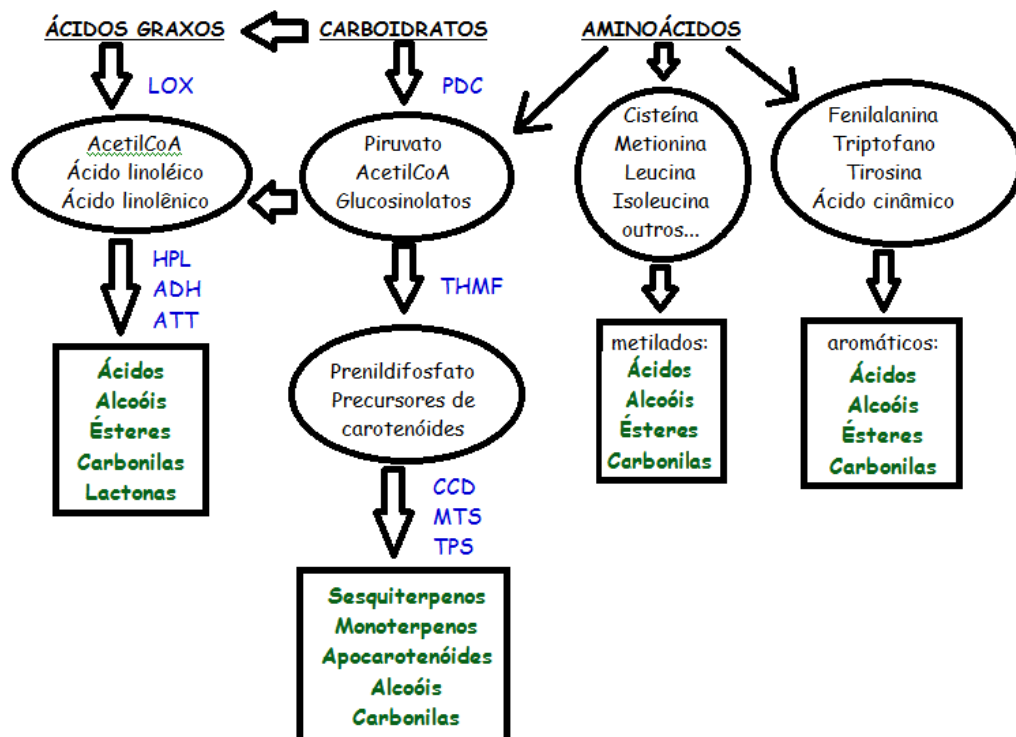
Para que as relações ecológicas aconteçam se fazem necessários sistemas bioquímicos específicos nos seres que participam nestas relações. Estes sistemas existem como efeito direto do arcabouço genético, como a síntese de proteínas, e conseqüentes efeitos em muitas rotas metabólicas. Neste sentido é importante avançar na compreensão do sistema complexo como todo, considerando a base genética, seus produtos e efeitos químicos nos estudos de ecologia, o que pode se dar de várias maneiras, por exemplo, existem esforços para o melhoramento genético de mangueiras através de métodos tradicionais de cruzamento e seleções, porém como manga é planta perene existe uma dificuldade envolvida no processo que é o longo período necessário para obtenção de resultados de produtividade e resistências, sendo necessários vários anos ou mesmo décadas para tal. Alternativamente, projetos de seqüenciamento de DNA de seres de interesse tem chamado muito a atenção tanto do meio científico como da sociedade em geral, porém não basta se conhecer apenas a sequencia de nucleotídeos que compõe o DNA e sim o que tal sequencia produz efetivamente, inclusive por partes do DNA que eram antes aparentemente sem função, os chamados “*junk DNA*”, e que hoje parecem participar na modulação da expressão de genes. Neste sentido tais avanços tem sido realizados através da chamada genômica funcional, relacionando os genes aos seus efeitos e papéis.

A genômica funcional deve empregar outras técnicas de análise além das genéticas, por exemplo, análises de proteínas e metabólitos. Além de proteínas, conforme Leite (2004), plantas produzem grande variedade de compostos químicos, chamados secundários, que, aparentemente, não estão envolvidos diretamente com crescimento e desenvolvimento, funcionando principalmente como substâncias de defesa. Estes compostos possuem três principais categorias, a saber, a dos terpenos, a dos compostos fenólicos e a dos compostos com nitrogênio (TAIZ e ZEIGER, 2004). Estes autores relatam ainda que os terpenos são sintetizados de acetil-CoA via rota do ácido mevalônico, formados por unidades de cinco carbonos, os isoprenos. Terpenos são subdivididos em monoterpenos, com dez carbonos (C₁₀), tais como limoleno, mentol, mirceno, α -pineno e β -pineno); os sesquiterpenos, com quinze carbonos (C₁₅), tais como costunolide e gossipol; os diterpenos, com vinte carbonos (C₂₀), tais como ácido abiético e forbol; os triterpenos, com trinta carbonos (C₃₀), como limonoide, saponina, α -ecdisona e cardenolido; e os politerpenos (C₅)_n. Exemplos de compostos fenólicos, que são

sintetizados primariamente de produtos derivados da rota do ácido chiquímico, são os taninos, lignina e flavonóides. Compostos fenólicos podem ser produzidos pela rota do ácido malônico, entretanto, são pouco importantes em plantas superiores (TAIZ e ZEIGER, 2004). Produtos secundários contendo nitrogênio, como os alcalóides (nicotina, cocaína, cafeína, morfina), glicosídeos cianogênicos, glucosinolatos, aminoácidos não protéicos inibidores de proteinase são sintetizados, principalmente, de aminoácidos comuns (LEITE, 2004). Além dos terpenos, os ésteres são extremamente importantes na conferencia de aromas típicos às frutas, sendo metabolizados a partir de alcoóis e ácidos orgânicos.

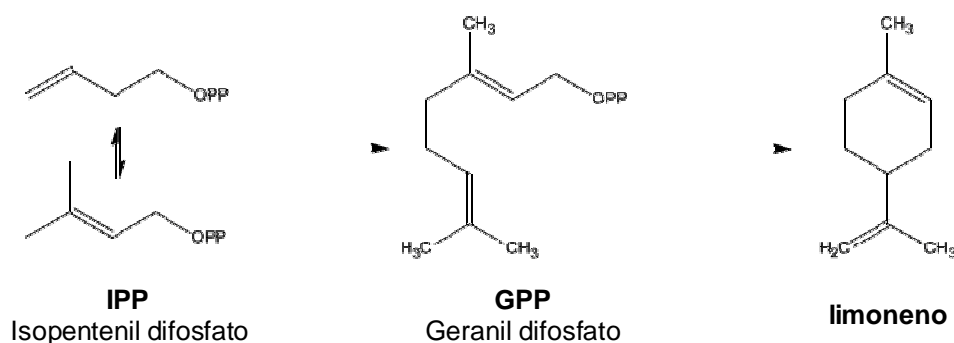
As rotas metabólicas importantes na síntese de voláteis em plantas utilizam tanto aminoácidos como carboidratos e ácidos graxos como precursores, figura 8. Todos os terpenos são sintetizados a partir de IPP – isopentenil difosfato, que por sua vez é derivado das rotas do acetato/mevalonato ou do piruvato/gliceraldeido-3-fosfafo. O IPP participa diretamente na formação do GPP-geranil difosfato, este o precursor dos terpenos, (figura 9) (LICHTENTHALER et al., 1997).

Figura 8. Esquema simplificado de rotas de síntese de compostos voláteis em frutas. Os círculos indicam produtos intermediários, enzimas atuantes no processo em azul (LOX-Lipoxigenase, HPL-Ácido graxo hidroperóxido liase, ADH-Álcool desidrogenase, ATT-Álcool aciltransferase, PDC-Piruvato descarboxilase, THMF-3-cetoacilCoA tiolase, CCD-Carotenoide clivagem desidrogenase, MTS-Monoterpeno sintase, TPS-Terpeno sintase).



Adaptado de Defilippi et al., (2009)

Figura 9. Participação dos IPP-isopentenil difosfato e GPP-geranil difosfato na formação do limoneno.



Adaptado de Burnham (2014)

Especificamente com relação a compostos voláteis em plantas, eles são importantes tanto por participar nas características sensoriais como também nas relações ecológicas na natureza, como repelência e/ou atração de pragas, assim estudos científicos têm sido realizados a fim de identificar compostos voláteis na manga, utilizando metodologia de *headspace* simples (LEBRUN et al., 2008), extração com solvente e destilação (MacLEOD; TROCONIS 1982; MacLEOD; PIERIS, 1984; MacLEOD; SNYDER, 1985; ANDRADE et al., 2000; PINO et al., 2005; QUIJANO et al., 2007; LAOHAPRASIT et al., 2011; KULKARNI et al., 2012), uso de agentes adsorventes tais como o Tenax e Porapak (JANG et al., 1989; MALO et al., 2012; FRANCO et al., 2004; CRUZ-LOPEZ et al., 2006) e, mais recentemente, a micro-extração em fase sólida, do inglês *SPME-Solid Phase Micro Extraction*, (SHANG et al., 2002; BEAULIEU; LEA, 2003; LALEL et al., 2003; MAHATTANATAWEE et al., 2005; CANUTO et al., 2009; GEBARA et al., 2011).

Em análises que empregam *headspace* simples são comuns problemas com baixas concentrações, nas destilações podem ocorrer formação de artefatos e com uso de *headspace* dinâmico e solventes são comuns tanto contaminações como perda de compostos voláteis nas fases de evaporação dos solventes, que acabam “arrastando” especialmente os compostos mais voláteis das amostras.

Todos os trabalhos acima citados utilizaram polpa de manga, sendo encontrado apenas um artigo com SPME de voláteis de fruto de manga, porém com os mesmos colhidos e extrações realizadas em laboratório e não *in situ* (SANDOVAL et al., 2007). Esta técnica é comprovadamente mais rápida e sensível do que a

extração líquido-líquido convencional, destilação e extração simultâneos e *headspace purge and trap* em amostragens de voláteis (SHANG et al., 2002). Outra dificuldade encontrada na amostragem de voláteis de frutas de manga é a sazonalidade da produção, uma vez que são produzidos em período curto e específico do ano.

Um trabalho de revisão relatou a ocorrência de 578 compostos voláteis de manga descritos na literatura, sendo 162 terpenos e terpenóides, 128 ésteres, 86 aromáticos, 61 cetonas e lactonas, 37 aldeídos, 34 alcoóis, 21 ácidos, 21 alcanos e cicloalcanos, 13 norisoprenóides e 15 outros compostos diversos (SINGH, 2011).

Além dos compostos voláteis liberados pelo fruto, outro componente que pode ser importante é o látex, fluido transportado em dutos na casca do fruto, podendo subsidiar reações químicas que gerem os voláteis ou mesmo transportá-los até a liberação. O látex de manga causa danos quando em contato com os frutos, ocasionando queimaduras na casca e depreciando as qualidades de marketing. É comum os produtores deixarem as frutas de cabeça para baixo na grama enquanto o látex é liberado e assim prevenir danos, antes de embalar. Vale ressaltar que existe uma grande demanda por aroma naturais de manga, sendo o látex um produto passível de prospecção por compostos químicos com valor econômico.

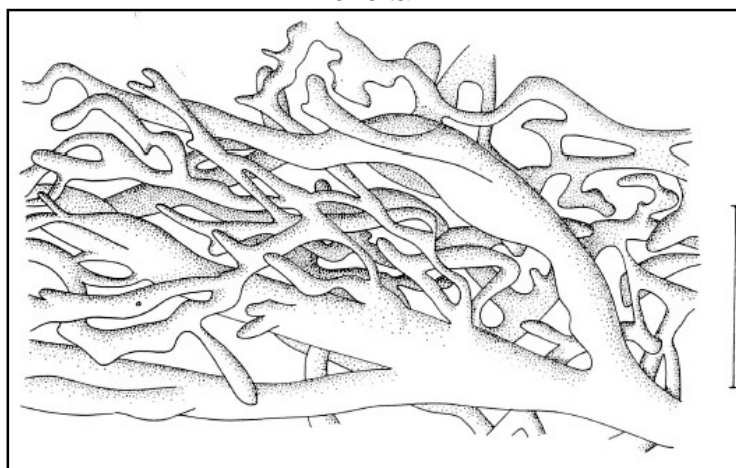
Bruce e Pickett (2011) deixam evidente que a atração ou repelência de insetos por voláteis de plantas é muito mais associada à interação de compostos do que ao efeito deles de forma isolada, conferindo maior importância na busca de *blends* responsáveis pelas interações ecológicas. Também comentam sobre a necessidade do inseto conseguir identificar a presença do eventual *blend* em meio a centenas de compostos liberados pelas plantas e presentes no ambiente. Corroborando ainda mais a complexidade das interações, Isono e Morita (2010) confirmam que a percepção químico-sensorial em insetos também é diferenciada celularmente, existindo neurônios especializados para diferentes tipos de moléculas. Hansson (2002) já havia relatado que a percepção sensorial de blends por insetos é totalmente diferente da percepção dos mesmos compostos isolados, inclusive acionando neurônios distintos e especializados.

O estado da arte sobre as relações ecológicas demonstra que existem várias ferramentas utilizadas pelos insetos para localizar e identificar o hospedeiro. O inseto pode utilizar-se de identificação de compostos voláteis por sensílas, especialmente nas antenas, pode utilizar a visão e confirmar a aptidão do

hospedeiro através do gosto e/ou identificação química ao tocar o hospedeiro através de receptores especializados, localizados no aparelho bucal, nas patas e até nos aparelhos ovipositores (RICE, 1989; ZUCOLOTO, 1993). Finch e Collier (2000) relatam que o sistema de localização é geralmente baseado em três passos, iniciando-se pela identificação dos compostos voláteis, seguida pela localização visual e terminando na confirmação ou não pela identificação de compostos não voláteis. Segundo estes autores, apesar das três fases serem importantes é inegável a crucialidade da fase de identificação dos voláteis.

Além dos fatores químicos, Joel (1980) propõe que as moscas procurem por regiões na casca em que o entrelaçamento dos dutos lactíferos apresente menor espessura e que desta forma, exista correlação da resistência dos frutos com o tamanho desta camada de dutos e a respectiva densidade dos mesmos e não necessariamente com a espessura de casca. De fato existem “janelas” sem a presença de dutos e onde as moscas podem inserir o aparelho ovipositor, vencendo tal barreira (Figura 14)

Figura 14. Esquema ilustrativo de sistema de dutos de látex em casca de manga, variedade Haden, baseado em imagens de foto-microscopia de seções tangenciais. Escala de 1 mm a direita.



Adaptado de Joel (1980).

Em observações de campo ou em experimentos de laboratório verifica-se que as moscas-das-frutas, ao pousar no fruto, passam a procurar por alguma área específica para ovipositar, possivelmente algum local com alguma facilidade de penetração, como é o caso de aberturas naturais que podem ser verificadas microscopicamente (ALUJA et al., 2001).

1.4 Objetivo geral

Este trabalho teve como objetivo geral executar prospecção de compostos químicos voláteis em variedades de manga, para comparar eventuais diferenças entre variedades resistentes e suscetíveis às moscas-das-frutas. Complementarmente objetivou-se também analisar alguns fatores físicos na casca de frutos.

1.5 Objetivos específicos

Coletar amostras de látex, frutos e voláteis de variedades de manga resistentes e suscetíveis às moscas-das-frutas;

Executar análises microscópicas de cascas de frutos de variedades de manga resistentes e suscetíveis às moscas-das-frutas;

Desenvolver ajustes metodológicos e analisar compostos voláteis em látex e frutos de variedades de manga resistentes e suscetíveis às moscas-das-frutas;

Verificar respostas eletroantegráficas da mosca *Anastrepha obliqua* à compostos voláteis de manga;

Verificar atração de *Anastrepha obliqua* à compostos voláteis de manga em túnel de vento;

Tabular e tratar estatisticamente os dados.

2. Material e Métodos

2.1 Coleta de amostras de frutos e látex

Durante a safra 2011/12 foram coletadas variedades de manga em diferentes estados fisiológicos, conforme tabela 1:

Tabela 1. Variedades de manga coletadas durante a safra 2011/12. Mínimo de 3 frutos para cada condição fisiológica.

Variedade / estágio	Local da coleta	Data da coleta	Qtd látex mL
Alfa início de maturação	1	22/12/2011	0
Alfa madura	1	22/12/2011	2
Alfa verde	1	24/12/2011	2,5
Ataulfo início de maturação	2	22/01/2012	0,4
Ataulfo verde	2	26/11/2011	1,5
Azenha início de maturação	4	10/01/2012	2,5
Azenha madura	4	19/12/2011	0,5
Azenha verde	4	19/12/2011	2
Espada ouro madura	5	13/01/2012	0,2
Espada ouro verde	5	13/01/2012	2
Espada Stahl madura	3	02/12/2011	3
Espada Stahl verde	3	26/11/2011	2,8
Espada Vermelha madura	3	26/11/2011	2
Espada Vermelha verde	3	26/11/2011	3,5
Keitt verde	2	26/11/2011	2,8
Kent início de maturação	6	01/02/2012	3
Kent madura	6	01/02/2012	3
Kent verde	6	01/02/2012	3
Palmer início de maturação	6	01/02/2012	3
Palmer madura	6	01/02/2012	3
Palmer verde	3	23/01/2012	2,5
Palmer verde	6	01/02/2012	3
Tommy Atkins início de maturação	3	23/01/2012	2,5
Tommy Atkins madura	3	21/12/2011	0,3
Tommy Atkins verde	3	26/11/2011	2,5

Legenda dos locais de coleta:

1. Bairro Vale Verde, Santo Antônio da Posse-SP
2. Área rural, Paulínia-SP
3. Mário Bruno, sítio Santa Rosa, Bairro Bocaina, Mogi Mirim-SP
4. Dr. Gilberto Azenha, sítio em Valinhos-SP.
5. *Campus* São Vicente do IFMT - BR 364 km 329 MT (coordenadas -15.820631, -55.418585)
6. Ogata citros – São Lourenço do Turvo, Matão-SP (coordenadas -21.503053, -48.504205)

Os frutos e o látex coletados foram identificados, congelados em freezer doméstico e parte das amostras foram transferidas para ultrafreezer (-80°C) com objetivo de paralisar a degradação enzimática (Figura 10). As variedades abordadas neste trabalho apresentam diferentes características de frutos (Figuras 11 a 13)

Figura 10. Coleta de látex de fruto de manga variedade `Palmer`.



Foto: Alexander A. da Silva

Figura 11. Árvore e detalhes da variedade `Palmer`, suscetível às moscas-das-frutas, no local de coleta.



Fotos: Christiann Davis Tosta

Figura 12. Detalhes da variedade `Espada vermelha`, resistente às moscas-das-frutas, no local de coleta à esquerda e dos frutos à direita.



Fotos: Christiann Davis Tosta

Figura 13. Detalhes da variedade `Alfa`, resistente às moscas-das-frutas, no local de coleta à esquerda e do fruto à direita.



Fotos: Christiann Davis Tosta

Os estágios de maturação foram julgados subjetivamente com base nas características visuais, firmeza de frutos ao tato e percepção na liberação de voláteis, uma vez que não existem diferenças significativas entre a composição dos frutos, como teor de açúcar dos grupos suscetíveis ou resistentes às moscas-das-frutas (MEDEIROS-SANTANA; ZUCOLOTO 2009; ALUJA et al., 2014).

2.2 Análises físicas de epicarpo de frutos de manga

Este trabalho envolveu principalmente a busca de compostos químicos que se relacionem com a resistência e/ou atração às moscas-de-frutas, porém a

resistência das variedades de manga pode estar relacionada com outros fatores, a exemplo das características físicas. Assim optou-se por realizar também análises microscópicas do epicarpo dos frutos e avaliar possível relação de resistência com tais características físicas, como a espessura da epiderme, ranhuras ou orifícios e espessura da camada de dutos lactíferos.

Para verificação da densidade e profundidade de dutos lactíferos, efetuaram-se cortes transversais, com secções de cascas da região lateral de três frutos foram inseridas em blocos de isopor com tamanho de 1 cm x 1 cm x 3 cm, de onde se efetuaram cortes manualmente, com auxílio de lâmina. Os cortes foram clarificados com solução comercial de hipoclorito de sódio (aproximadamente 2% de cloro ativo) e lavados com água deionizada, sendo então transferidos para solução corante Sudan III, conforme Evans (2002) e Claudino et al., (2013). Este corante foi utilizado também com vistas a verificar diferenças na espessura da camada de ceras, uma vez que cora especialmente compostos apolares. Para verificação de orifícios na superfície das cascas, realizaram-se também cortes paradérmicos, sem tratamento corante auxiliar. As visualizações foram realizadas em microscópio ótico com aumento de quarenta vezes.

2.3 Micro-extração em fase sólida (SPME) de compostos voláteis

2.3.1. Quantidade de amostra, tempo e temperatura de extração

Para determinar a quantidade de amostra na extração de voláteis, testou-se, além de diferentes tamanhos de frascos, quantidades distintas de amostra de látex da variedade 'Espada Ouro'. Partiu-se de 2 mL de amostra em frasco de 4 mL, ou seja, a metade do volume do recipiente, objetivando rápido e eficiente equilíbrio da amostra com o *headspace*. Este resultado ofereceu subsídio para conhecer a condição de saturação. De posse dessa informação passou-se a testar quantidades menores de amostra em frascos de 2 mL de capacidade, com o acompanhamento da altura e áreas dos picos. Chegou-se ao volume de amostra mínimo para que não ocorra perda na condição de equilíbrio igual a 50 µL em frascos de 2 mL. Este estudo foi importante, pois o volume de amostra de algumas das variedades foi pequeno, mesmo coletando-se número grande de frutos (Tabela 1). Foram testadas, para cromatografia gasosa, diversas condições de temperatura de forno, com

aumentos lineares, a 10 °C/min, 4°C/min e 3°C/min, além de programações segmentadas, na tentativa de resolver picos coeluídos. Por se tratarem de amostras complexas e de diversas variedades chegou-se a melhor condição possível e viável com coluna Phenomenex Zebron ZB-5, com 30 m de comprimento, diâmetro interno de 0,25 mm e espessura de filme de 0,25 µm, forno inicialmente em 50°C por 3 min; aquecimento a 2°C/min até 100°C, mantendo por 1 min, novo aquecimento a 10°C/min até 140°C, 2°C/min até 160°C e 10°C/min até 200°C mantendo por 10 min, gás de arraste N₂ em 1 mL/min, injetor a 200 °C e modos de injeção em *split* 1:25, 1:50, 1:100 e *splitless*. Amostra de látex de manga foi transferida para frasco com septo de silicone e neste recipiente foi inserida a fibra de SPME. Após a extração, a mesma foi inserida no injetor do cromatógrafo por 5 minutos para desorção dos compostos extraídos. Estas condições foram utilizadas em todos os resultados de compostos voláteis demonstrados neste trabalho.

Testaram-se diversas variações no binômio tempo *versus* temperatura de extração com a mesma quantidade de 50 µL de amostra. Foi possível verificar que quanto às áreas total e relativa não houve diferença significativa quando a extração foi realizada durante 12h a 25°C ou 1h a 40°C. Com extração a 25°C por 10 minutos houve redução significativa nas áreas obtidas, comparando-se com tempos de 20 minutos ou mais, enquanto para tempo de extração igual a 40 minutos ou mais não houve diferença significativa tanto na área total, como nas alturas ou áreas relativas de picos. Assim optou-se por acatar como condição viável de tempo e temperatura de extração 40 minutos a 25°C.

2.3.3 Seleção de fibras

Quatro diferentes revestimentos de fibras foram utilizados com o objetivo de avaliar diferentes seletividades e capacidade de extração: PA-Poliacrilato (100 µm de espessura), PDMS-Polidimetilsiloxano (100 µm de espessura), Car/PDMS - Carboxen/Polidimetilsiloxano (75 µm de espessura) e DVB/Car/PDMS-Divinilbenzeno/Carboxen/Polidimetilsiloxano (50/30 µm de espessura), adquiridos do fabricante Supelco. A seleção de fibras foi realizada nas condições anteriores, ou seja, extração em *headspace* de 50 µL de látex em frasco de 1,5 mL, durante 40 min a 25°C. Neste teste utilizaram-se triplicatas de amostras da variedade `Palmer´.

2.3.4 Identificação de compostos voláteis

Para identificação dos compostos voláteis de látex e de frutos obtidos por SPME, realizou-se análise em cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas, modelo Shimadzu GC2010-GCMSQP2010. As condições foram as mesmas utilizadas no cromatógrafo com detector de ionização em chama, citadas anteriormente, adicionando-se a informação da temperatura da fonte de íons e da interface em 250°C e varredura de espectros de 40 a 600 m/z , gerados com 70 eV para impacto de ionização. As propostas de identificação dos compostos foram realizadas através de comparação dos espectros de massas nas bibliotecas NIST 8, NIST 98v101, Willey v229 e FFNSC 1.3 (*Flavor and Fragrance Natural and Synthetic Compounds*) considerando-se similaridade em torno de 95%, além da confirmação com padrões comerciais para os majoritários e utilização auxiliar dos respectivos RI (*Retention index*) ou índices de retenção, estes calculados pela equação:

$$RI = 100n + 100 \times \frac{(trX - trZ)}{tr(Z+1) - trZ} \quad \text{onde,}$$

n é o número de carbonos do n-alcano com o tempo de retenção anterior ao composto analisado;
trX é o tempo de retenção do composto analisado;
trZ é o tempo de retenção do n-alcano imediatamente anterior ao composto analisado;
trZ+1 o tempo de retenção do n-alcano localizado imediatamente após o composto analisado

2.3.5 Extração *in situ* de voláteis de frutos

Para realização das análises de voláteis baseadas em extrações *in situ*, foram efetuadas coletas em pomares da região central do estado de São Paulo. Esta estratégia propiciou análises imediatamente após a extração. A tabela 2 abaixo dispõe dos detalhes de variedades, locais, datas de coleta e análises.

Tabela 2. Variedades de manga coletadas para análise de compostos voláteis durante a safra 2012/13 e 2013/14. Mínimo de 3 frutos para cada condição fisiológica. Locais de coleta: Ogata citros, Matão-SP (coordenadas -21.503053, -48.504205) e APTA regional Pindorama-SP (Coordenadas -21.222971, -48.907128).

Variedade / estágio	Locais de coleta	Data da coleta
Alfa madura	Ogata citros, Matão-SP	23/12/2013
Alfa verde	Ogata citros, Matão-SP	23/12/2013
Alfa madura	Ogata citros, Matão-SP	09/01/2014
Alfa verde	Ogata citros, Matão-SP	09/01/2014
Espada Vermelha madura	APTA regional, Pindorama-SP	13/01/2014
Espada Vermelha verde	APTA regional, Pindorama-SP	13/01/2014
Palmer madura	Ogata citros, Matão-SP	07/02/2013
Palmer verde	Ogata citros, Matão-SP	07/02/2013
Palmer madura	Ogata citros, Matão-SP	15/02/2013
Palmer verde	Ogata citros, Matão-SP	16/02/2013
Palmer madura	Ogata citros, Matão-SP	06/03/2014
Palmer verde	Ogata citros, Matão-SP	06/03/2014
Palmer madura	Ogata citros, Matão-SP	20/02/2014
Palmer verde	Ogata citros, Matão-SP	20/02/2014
Kent madura	Ogata citros, Matão-SP	06/03/2013
Kent verde	Ogata citros, Matão-SP	06/03/2013
Kent madura	Ogata citros, Matão-SP	05/02/2013
Kent verde	Ogata citros, Matão-SP	05/02/2013

Para estas análises foi desenvolvido aparato adaptado para coleta de voláteis dos frutos *in situ*, ou seja com os mesmos ainda na árvore, de forma a identificar com maior fidelidade possível os compostos efetivamente liberados em condição de campo. Para extração, o pedúnculo do fruto foi envolto com parafilm[®] e os voláteis concentrados em frascos com volume de 4 litros, de onde foram extraídos por 3 horas com fibra de SPME (fabricante Supelco) revestida com Divinilbenzeno/Carboxen/Polidimetilsiloxano (DVB/Car/PDMS 50/30 μ m). Os frutos tiveram os pedúnculos cortados 25 cm acima do local envolto com parafilm[®], sendo levados imediatamente para o laboratório ainda nos frascos de extração. As figuras 15, 16, 17 e 18 registram momentos de extração de voláteis em campo assim como a aparência das árvores e frutos. É importante salientar relato de Zhu et al., (2013) que citam não haver na literatura análise de compostos voláteis *in vivo* utilizando SPME em frutas, evidenciando tratar-se de aplicação pioneira. As variedades submetidas a estas análises foram as suscetíveis às moscas-de-frutas, 'Palmer' e

‘Kent’ e as resistentes ‘Alfa’ e ‘Espada vermelha’, tanto em condição verdes como maduras. Para comparação e controle branco, além das análises com frutos em todas as coletas realizou-se extração de voláteis de frasco sem o fruto, apenas com a atmosfera local, seguindo os mesmos parâmetros utilizados com os frutos.

Além da proposta de identificação dos compostos conforme descrito para os voláteis de látex, utilizou-se ainda de biblioteca própria, construída com base nos resultados deste projeto. Para tanto efetuou-se adaptação em planilha elaborada e gentilmente disponibilizada por Lucero et al., (2009). Esta planilha opera em ambiente Microsoft Excel calculando automaticamente o índice de retenção e propondo identificação conforme proximidade dos registrados na biblioteca. A adaptação efetuada foi a substituição dos dados originais desta biblioteca pelos aqui obtidos exclusivamente com manga e alguns de seus respectivos padrões comerciais (SIGMA).

Figura 15. Fotografias de extração *in situ* de compostos voláteis da variedade suscetível `Kent` em condição de campo.



Fotos: Christiann Davis Tosta

Figura 16. Fotografias de extração *in situ* de compostos voláteis da variedade suscetível `Palmer` em condição de campo.



Fotos: Christiann Davis Tosta

Figura 17. Fotografias de extração *in situ* de compostos voláteis da variedade resistente `Alfa` em condição de campo.



Fotos: Christiann Davis Tosta

Figura 18. Fotografias de extração *in situ* de compostos voláteis da variedade resistente 'Espada vermelha' em condição de campo.



Fotos: Christiann Davis Tosta

As análises foram realizadas tanto em cromatógrafo com detector de ionização em chama (Varian CP3800) como com espectrômetro de massas (Shimadzu GC2010-GCMSQP2010). Também se realizou extração de voláteis de fruto maduro da variedade 'Palmer' adquirido em mercado na cidade de Ribeirão Preto, com a finalidade de confirmar diferenças nas extrações *in situ*.

2.4 Eletroantenografia

Muitos compostos voláteis foram identificados nas variedades estudadas, porém nem todas participam necessariamente da comunicação química entre planta e inseto. A eletroantenografia trata-se de análise que mede intensidade de sinais elétricos em antenas de insetos quando em contato com o composto testado. Esta técnica detecta se o inseto percebe sensorialmente o composto, mas não oferece informação se tal percepção corresponde à atração ou repelência. Apesar dessa limitação, é ferramenta extremamente útil na triagem de compostos para técnicas que verifiquem atração e/ou repelência a exemplo de testes em túnel de vento.

O termo eletroantenografia deriva evidentemente da medida de sinal em antenas, porém insetos podem perceber compostos químicos também por outras sensílas localizadas na cabeça ou outras partes do corpo. Kendra et al., (2009), trabalhando com gênero *Anastrepha* evidenciaram eficiência em confirmação de percepção de compostos químicos utilizando a cabeça do inseto. Esta técnica apresenta como vantagem a manipulação facilitada, uma vez que a cabeça é significativamente maior do que somente a antena e também por aumentar o número

de sensílas utilizadas. Aumento no número de sensílas é outra vantagem importante, uma vez que Steinbrecht et al., (1995) confirmaram algumas sensílas serem especializadas para determinados compostos químicos. A figura 19 evidencia numerosas sensílas , além das antenas presentes na cabeça de *Anastrepha* spp.

A metodologia empregada foi adaptada de Kendra et al., (2009), modificando-se basicamente a montagem do sistema em eletrodos de fio de prata com gel condutor (Spectra 360, Parker Laboratories, Fairfield, NJ), enquanto o sistema original foi montado em pipetas Pasteur, Figura 19. As análises foram conduzidas nos equipamentos Autospike IDAC - 2/3 e CS-05 da marca Syntech (Kirchzarten/Alemanha) no Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos-UFSCar. Os resultados foram tratados no software Syntech-GcEad 2012 v.1.2.4 do mesmo fabricante do equipamento.

Figura 19. Na cabeça a esquerda a montagem do aparato é com *Anastrepha fraterculus* em pipetas Pasteur com KCl e a direita o sistema montado com *A. obliqua* em fios de prata e gel condutor. As fotos evidenciam grande número de sensílas que, além das antenas, também participam na percepção sensorial de voláteis.



Foto à esquerda de Kendra et al., (2014) e foto da direita de Christiann Davis Tosta

Para cada teste aplicou-se 5 μ L do composto químico em disco de papel de filtro Whatman n.1 com diâmetro de 6 mm. Aguardou-se 30 segundos para evaporação do solvente, importante especialmente no caso de compostos diluídos, e transferiu-se o disco para pipetas Pasteur, que foram ligadas a bomba de ar do aparelho Syntech CS-05 através de mangueira de silicone para aplicação nas cabeças de moscas testadas. A cabeça do inseto foi submetida a fluxo constante de 40 cm/s de ar umidificado e a duração do pulso de injeção de amostra ajustada para

0,4 segundos. A figura 20 esquematiza a montagem do sistema de eletroantenografia, seguida de exemplo de eletroantenograma com fêmeas de *A. obliqua*.

Figura 20. Esquematização do sistema de eletroantenografia e eletroantenograma com registro de sinais elétricos em torno de 1 mV.

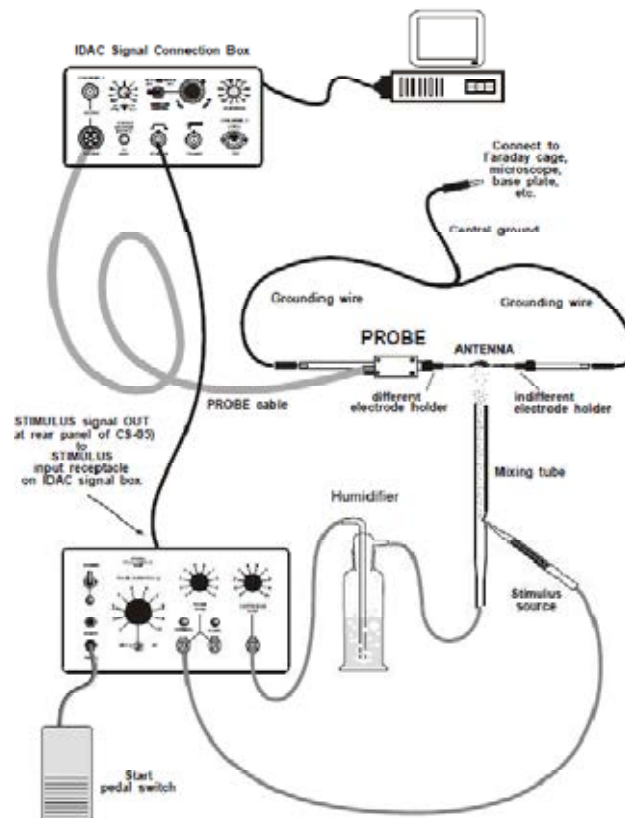
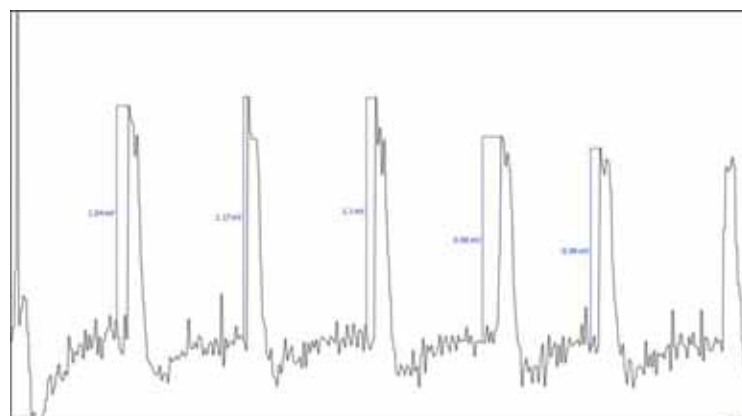


Ilustração de Electroantennography (2004).



As leituras foram realizadas com dez moscas entre 10 e 25 dias de idade, com quintuplicata de registros para cada mosca. Os dados obtidos foram submetidos ao teste de Lilliefors para verificação de normalidade (software BioEstat v.5.3) e

então submetidos à análise de variância e posterior comparação de médias pelo teste de Scott-Knott, $p = 0,05$, utilizando-se o software Estatística-UEPG v.1.

Foram realizados três testes, sendo o primeiro com o objetivo de verificar a funcionalidade do sistema, especialmente a adaptação da cabeça da mosca nos eletrodos e suas respostas (RAMOS, 2006). O segundo teste visou verificar diferenças nas respostas dos compostos majoritários das variedades estudadas e também dos respectivos *blends* sintéticos formulados a partir de padrões comerciais. Finalmente o terceiro teste teve como objetivo verificar diferenças de respostas entre machos e fêmeas com relação ao *blend* sintético.

A eletroantenografia geralmente é iniciada por identificação de algum composto que apresente resposta variável em função da concentração, testes estes denominados EAG (do inglês *Electroantennography*) e tem o objetivo de confirmar a utilização da antena como detector de resposta em função do contato com o composto testado. O δ -3-careno foi um dos compostos que apresentou variação entre as variedades, ocorrendo em visível maior quantidade nas suscetíveis, assim optou-se por verificar a resposta eletroantegráfica com este terpeno nas concentrações de 0,1, 1 e 10 mg/mL, além do composto puro. Verificou-se a resposta aplicando-se apenas ar e somente hexano (Macron chemicals, Phillipsburg, NJ, grau HPLC), uma vez que as diluições foram realizadas com este solvente.

2.5 Testes de atração em túnel de vento

Análises de antenografia permitem verificar se compostos causam algum estímulo em insetos, porém não permite verificar se tal estímulo apresenta efeito de atração ou repelência. Por este motivo testes realizados em túnel de vento são importantes para complementar informações, permitindo melhor correlação com interações ecológicas.

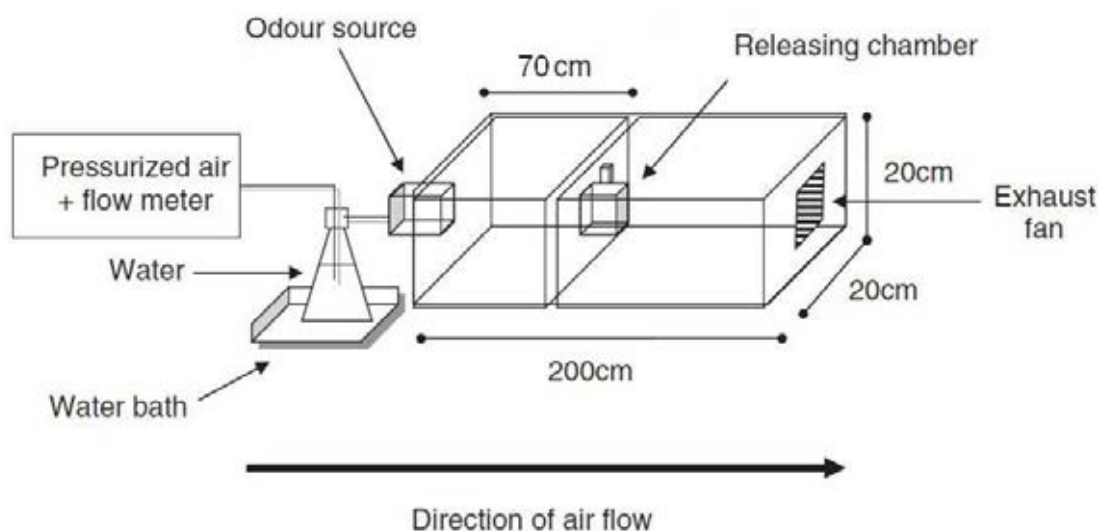
Foram realizados testes de atração com *blends* sintéticos correspondentes aos compostos majoritários na variedade suscetível `Palmer´ e também com a resistente `Alfa`, com duas composições, pois o composto em maior quantidade relativa, no caso o limoneno, pode apresentar distintas isomerias, assim um dos *blends* desta variedade foi formulado com (*R*) (+) limoneno e outro com (*S*) (-) limoneno (Tabela 3).

Tabela 3. Composição de *blends* sintéticos formulados a partir de padrões comerciais (Sigma Aldrich, St. Louis, USA), em função da proporção emitida pelos frutos correspondentes. Compostos majoritários, perfazendo entre 70 e 76% da área total dos cromatogramas.

Compostos	<i>blend</i> `Alfa' madura		<i>blend</i> `Palmer' madura	
	Área (%)	μL	Área (%)	μL
α -Pineno	7.08	20.4	0.26	0.68
β -pinene	0.97	2.80	-	-
Mirceno	2.80	8.0	3.31	8.62
Hexanoato de etila	0.99	2.8	5.59	14.56
δ -3-careno	-	-	27.65	72.02
Limoneno	46.93	135.1	2.31	6.02
β -cis-Ocimeno	0,7	2	-	-
β -trans-Ocimeno	0,7	2	-	-
Terpinoleno	0.21	0.6	1.18	3.07
Hexanoato de butila	0.11	0.3	0.59	1.54
Octanoato de etila	6.33	18.2	34.2	89.09
β -Cariofileno	2.65	7.6	1.69	4.40

Os testes em túnel foram realizados na Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP Araraquara em equipamento gentilmente disponibilizado pela Profa. Dra. Mara Cristina Pinto. As características do túnel encontram-se na figura 21.

Figura 21. Características do túnel de vento utilizado nos testes de atração de voláteis de variedades de manga suscetíveis e resistentes.



Adaptado de Pinto et al., (2012).

Os testes foram realizados no período da tarde, com início às 14 h, porém as moscas foram transferidas para as gaiolas às 10h da manhã e mantidas na mesma

sala do túnel, visando aclimatação das mesmas e minimização de efeito de estresse nos resultados. As condições utilizadas foram de vazão de ar sintético de alta pureza (White Martins 5.0) a 0,5 L/min, temperatura a 25 ± 1 ° C, umidade relativa de 60-70%. Exaustor do túnel (diâmetro de 10 cm) com potência de 15% gerando cerca de 3.500 rotações por minuto. O tempo de monitoramento de cada gaiola foi de 5 minutos, sendo anotados o tempo de saída das moscas da gaiola, comportamento considerado como ativação, a distância do alvo, ou seja, da extremidade do túnel onde o volátil é liberado e o tempo em que a mosca atingiu o alvo. Distância da fonte de composto volátil igual ou inferior a 5 cm foram considerados como alvo atingido e moscas efetivamente atraídas. Foram testadas 10 gaiolas por experimento, sendo 5 gaiolas com 5 fêmeas cada e 5 gaiolas com 5 machos cada, totalizando n=25 para cada sexo e com idade variando entre 15 e 25 dias de idade, conforme período ótimo de oviposição (CARVALHO et al., 1998). Para efeito de controle e comparação, antes dos testes com os compostos voláteis, foi realizado o mesmo procedimento somente com ar sintético.

Em trabalhos utilizando túnel de vento a liberação dos compostos voláteis é efetuada com utilização de pedaços de papel de filtro. Os compostos são depositados no papel e o mesmo é colocado na saída de ar do túnel para liberação. Este sistema funciona bem quando os insetos testados são atraídos em curto período de tempo e o composto testado não é muito volátil. Para compostos mais voláteis a concentração cai ao longo do experimento, chegando ao ponto de não mais atrair os insetos (comunicação pessoal, Dra. Mara Pinto e Vicente Machado, UNESP-Araraquara). Assim executou-se monitoramento da concentração de compostos com auxílio de SPME, nas mesmas condições utilizadas para voláteis de frutos, modificando-se apenas o tempo de extração de 5 minutos, equivalente ao tempo de monitoramento de atração dos insetos. Visando manter a mesma concentração de compostos ao longo do experimento optou-se por utilizar adaptação na forma de liberação, onde frasco de vidro com capacidade para 2 mL contendo 200 uL do *blend* foi colocado em outro frasco de vidro com capacidade de 40 mL. No septo deste frasco maior foram inseridas duas pipetas Pasteur para entrada de ar sintético e saída do *headspace* para o túnel de vento (Figura 22).

Figura 22. Aparato para liberação de compostos voláteis em túnel de vento.

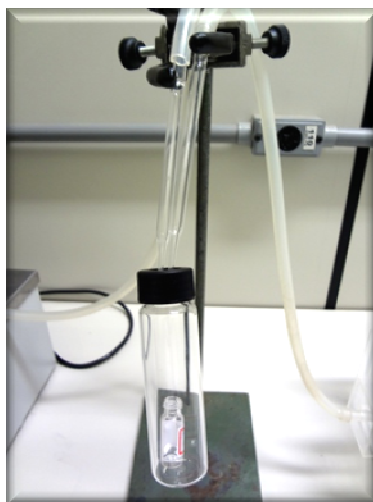


Foto: Christiann Davis Tosta

2.6 Manutenção de colônia de *Anastrepha obliqua*

Os testes de eletroantenografia e de atração em túnel de vento necessitaram de centenas de insetos. Para viabilizar a disponibilidade de *A. obliqua*, foi mantida colônia em sala climatizada (temperatura 24 ± 1 °C e umidade relativa em $65 \pm 5\%$) no laboratório Nubbe 2 do Instituto de Química da UNESP Araraquara. A colônia foi iniciada na UNESP a partir de 20 indivíduos machos e 20 fêmeas, gentilmente cedidas pelo prof. Dr. Reinaldo Otávio Alvarenga Alves de Brito e Dra. Samira Chahad Ehlers, do Departamento de Genética e Evolução da Universidade Federal de São Carlos – UFSCar. A colônia original foi iniciada na UFSCar a partir de coleta de umbú (*Spondias tuberosa* L) no município de Caetité-BA em março de 2013. A partir dos frutos foram coletadas as pupas de moscas-das-frutas e executada triagem conforme identificação da espécie em chave apropriada (disponível em <http://delta-intkey.com/anatox>). Os testes de eletroantenografia e túnel de vento foram realizados entre o nono e o décimo segundo ciclo de reprodução da colônia.

A criação foi mantida em caixas plásticas de polietileno, figura 23, adaptando-se modelo de Machota Junior et al., (2010), que utilizaram mamão para a criação em laboratório de *A. fraterculus* enquanto neste trabalho utilizou-se para a criação de *A. obliqua* manga das variedades ‘Tommy Atkins’ ou ‘Palmer’, conforme disponibilidade no mercado local de Araraquara-SP. Na caixa foram mantidos aproximadamente 75 casais, que receberam alimentação e água *ad libitum*. A água foi oferecida em frasco com algodão hidrófilo e a dieta, conforme composição da

tabela 4, em fitas de papel toalha doméstico (Figura 24). A troca de água e alimentação foi executada semanalmente. Para oviposição, foram mantidos na caixa três ou quatro frutos de manga em placas de Petri com vermiculita ultrafina, figura 25.

Figura 23. Caixa adaptada para criação de *A. obliqua*.

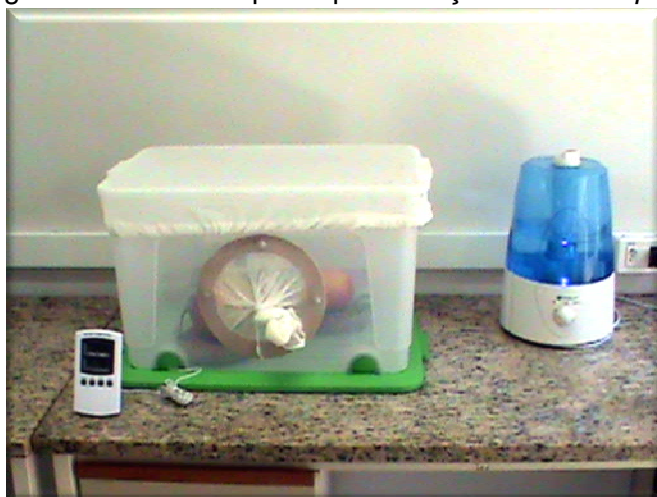


Foto: Christiann Davis Tosta

Figura 24. Fita de papel toalha impregnado com dieta para alimentação de *A. obliqua*.



Foto: Christiann Davis Tosta

Figura 25. Frutos de manga 'Tommy Atkins' em placas de Petri com vermiculita, sendo ovipositados por *A. obliqua*. À esquerda nota-se frasco com água e algodão.



Foto: Christiann Davis Tosta

Tabela 4. Composição de dieta para criação de *A. obliqua*

Ingrediente	Quantidade
Açúcar cristal (sacarose)	270 g
Açúcar mascavo	150 g
Polivitamínico (Nestlé - Sustagen sabor morango)	10 g
Levedura de cerveja	36 g
Mel de abelhas	60 mL
Extrato de leveduras	100 g
Gérmen de trigo	50 g
Nipagin [®] (Metilparabeno)	1 g

Para o preparo da dieta todos os ingredientes acima foram homogeneizados em liquidificador, com adição de pequena porção de água, até obtenção de consistência pastosa. A pasta obtida foi espalhada em papel toalha comum e levada à estufa a 60 °C por 12 h para secagem. Após seca a pasta, foram recortadas fitas com 3 cm de largura por 10 cm de comprimento, que foram armazenadas em congelador doméstico. Tais fitas foram disponibilizadas como dieta para as moscas e substituídas semanalmente.

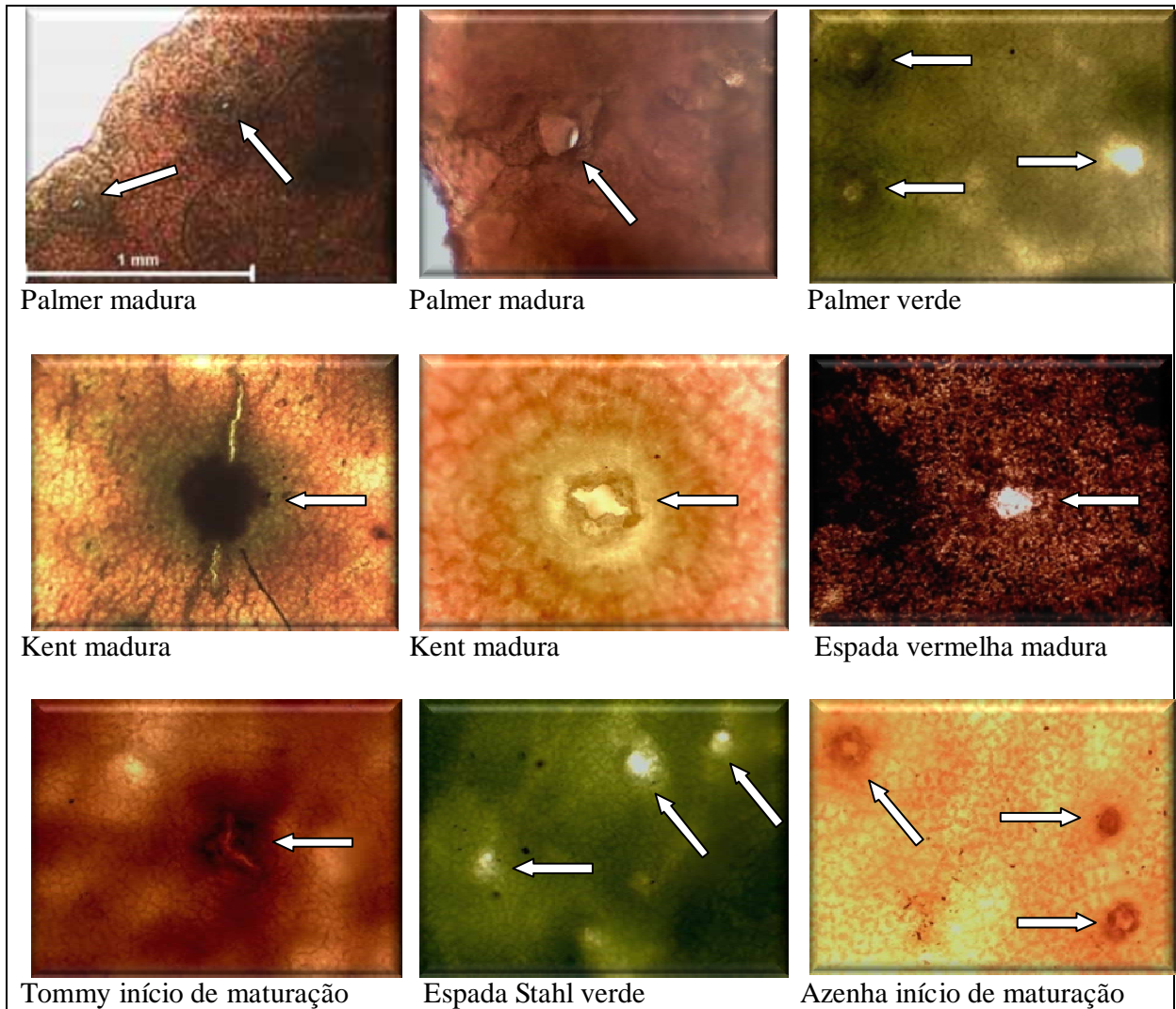
3. Resultados e discussão

3.1 Análises físicas de epicarpo de frutos de manga

Nos cortes paradérmicos examinados foi possível verificar a existência de lenticelas em todas as variedades e estágios de maturação, porém nas variedades `Kent´ e `Tommy Atkins´ maduras, que são suscetíveis às moscas, ficaram também evidentes rachaduras que ocorreram as vezes a partir de lenticelas e as vezes em locais sem relação com aberturas pré-existentes. Papaj et al., (1992) relatam a oviposição por *C. capitata* em orifícios pré-existentes e Du Plooy et al., (2006) citam que a descoloração de lenticelas, que passam a ocorrer com o amadurecimento não afetam a integridade celular, porém levam ao maior acúmulo de compostos fenólicos no entorno das mesmas e este acúmulo tem finalidade de proteção contra doenças e pragas. A figura 26 apresenta algumas fotomicroscopias de cortes paradérmicos de frutos de algumas variedades de manga.

Segundo Araujo e Zucchi (2006), o comprimento do acúleo ovipositor de *A. obliqua* varia entre 1,30-1,65 mm, com penetração no interior dos frutos até aproximadamente 1 mm (Figura 27). Estes números são importantes por permitir comparação tanto com a espessura das cascas das variedades como pela profundidade em que se encontram os dutos lactíferos.

Figura 26. Imagens foto-microscópicas de cortes paradérmicos de epicarpo de frutos de diferentes variedades de manga. Escala de 1 mm apresentada na primeira imagem. Setas indicam as lenticelas



Fotos: Christiann Davis Tosta

Figura 27. Características de fêmea adulta de *A. obliqua*, onde se é possível notar o tamanho do acúleo ovipositor, utilizado para perfuração da casca e inserção de ovos em frutos.

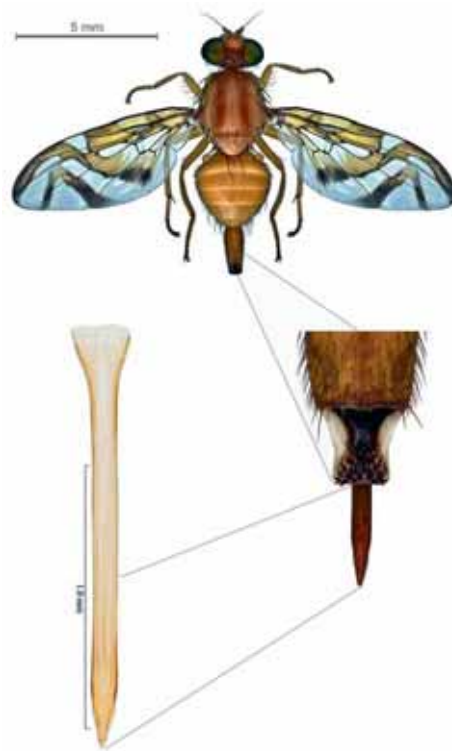
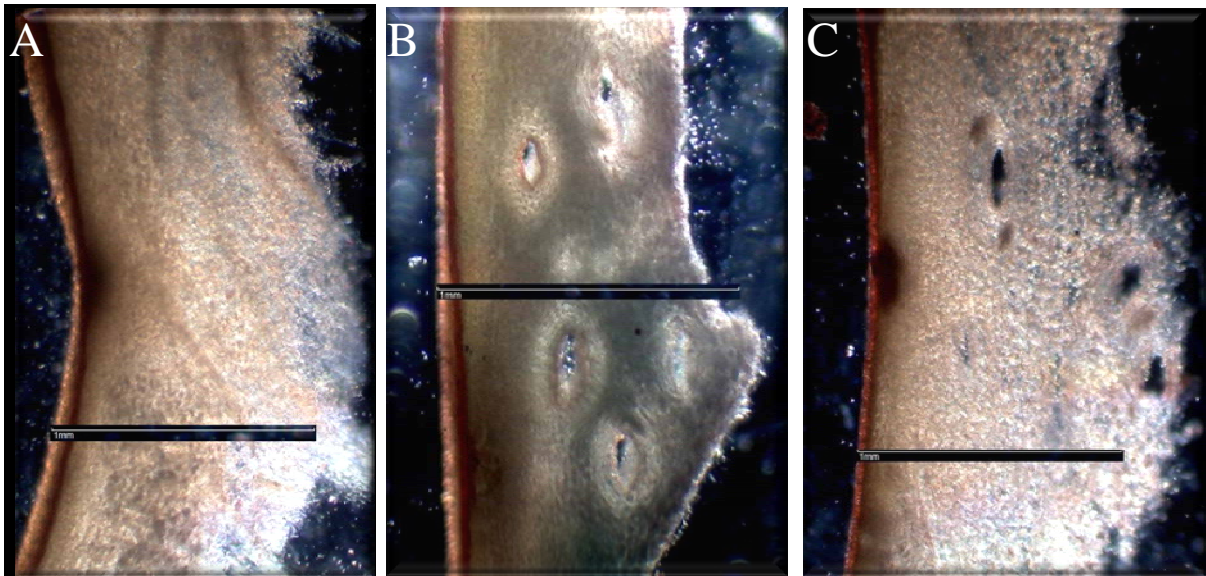


Figura adaptada de Norrbom et al., (2014).

A figura 28 expõe os resultados de cortes transversais obtidos em microscópio ótico, onde fica evidente a diferença existente entre a variedade resistente 'Espada vermelha', com maior densidade de dutos lactíferos, quando comparada com as suscetíveis 'Palmer' e 'Kent', onde as áreas livres de dutos para oviposição são bem maiores, reforçando a proposta de Joel (1980).

Figura 28. Imagens microscópicas de cortes transversais de epicarpis de frutos maduros de variedades de manga. Escalas de 1 mm indicadas nas imagens, correspondem a profundidade possivelmente alcançada pelo acúleo ovipositor de *A. obliqua*. A epiderme dos frutos, com coloração avermelhada está corada com Sudão III. A - variedade suscetível 'Palmer'; B - variedade resistente 'Espada vermelha'; C - variedade suscetível 'Kent'.



Fotos: Christiann Davis Tosta

Diferenças na espessura da camada de dutos lactíferos podem também ter correlação indireta com resistência química, uma vez que o látex dos frutos tem características provavelmente inapropriadas para o contato com ovos e/ou larvas. Esta hipótese advém do trabalho de Rossetto et al., (2009), em que ovos de moscas inseridos em frutos resistentes desenvolveram-se normalmente, indicando possível correlação do fator de resistência com alguma característica da casca, seja física, química ou a combinação delas. Resultados científicos demonstraram que para confirmar local de predação, os insetos pousam algumas vezes no potencial hospedeiro e em cada contato ocorre aumento na percepção sensorial, advindo da maior concentração química em cada prova, sendo que o inseto identifica a planta como hospedeira ao atingir um limite mínimo de concentração química e consequente percepção sensorial (FINCH e COLLIER, 2000). Esta informação é importante pois se relaciona com resultados de Rice (1989) que confirmou a existência de receptores sensoriais gustatórios, mecanorreceptores e higrorreceptores nos acúleos ovipositores de tefritídeos. Mais tarde Aluja (1994) identifica que mesmo após inserir o ovipositor em frutos potencialmente hospedeiros, fêmeas de tefritídeos podem optar por ovipositar ou não. Além das características químicas, as físicas também são avaliadas na decisão para oviposição (DIAZ-

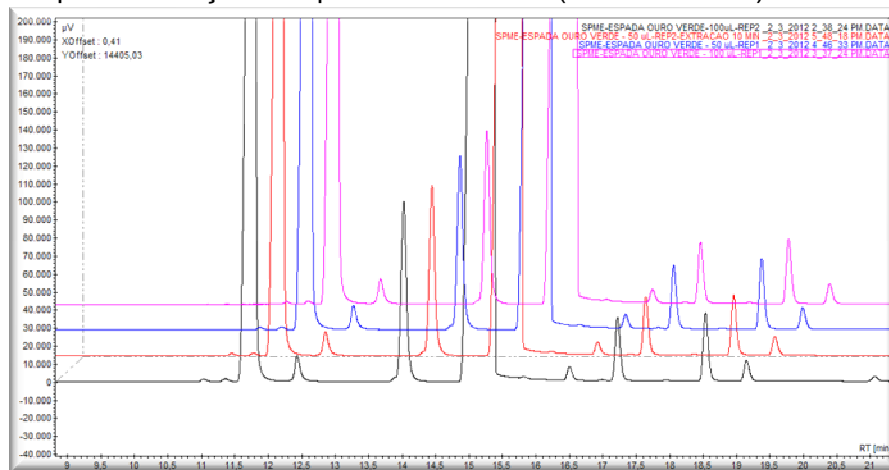
FLEISHER et al., 2000). A resistência da variedade `Ataulfo nino´ é provavelmente relacionada à menor presença de vasos lactíferos (Aluja et al., 2014).

3.2 Micro-extração em fase sólida (SPME) de compostos voláteis

3.2.1 Quantidade de amostra, tempo e temperatura de extração

A figura 29 evidencia os mesmos resultados obtidos com diferentes quantidades de amostra.

Figura 29. Cromatograma evidenciando resultados semelhantes para quantidades de 50 µL (linha azul) e 100 µL (linhas rosa e preta) extraídas por 40 minutos e 50 µL mesmo com tempo de extração de apenas 10 minutos (linha vermelha). GC-FID.



Os resultados de área de picos dos cromatogramas acima foram submetidos a análise de variância e comparação das médias pelo teste de Tukey ($p = 0,05$), onde não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas. Lalel et al., (2003) também não encontraram diferenças em extrações de voláteis de polpa de manga por SPME realizadas durante 30, 60 ou 90 minutos.

3.2.2 Seleção de fibras

Os resultados obtidos nos testes com diferentes revestimentos de fibras, estão apresentados na tabela 5.

Tabela 5. Número de picos e desvio padrão de 3 repetições obtidos com diferentes revestimentos de fibras de SPME. Amostras de látex da variedade Palmer injetados em *splitless*. GC-FID.

Revestimento ¹ e espessura	No de picos e desvio padrão
DVB/Car/PDMS (50/30 µm)	84 ± 4
PDMS (100 µm)	79 ± 2
Car/PDMS (75 µm)	67 ± 2
Poliacrilato (100 µm)	46 ± 3

Apesar da pequena diferença entre número de picos dos revestimentos DVB/Car/PDMS (50/30 µm) e somente PDMS (100 µm), os resultados foram um pouco melhores para o primeiro revestimento, sendo portanto utilizado nos testes de extração de voláteis. Como se tratam de amostras complexas era esperada melhor resposta para o revestimento DVB/Car/PDMS (50/30 µm), uma vez que o mesmo oferece maior amplitude de polaridade e volatilidade de compostos extraídos. Da mesma forma o revestimento Poliacrilato (100 µm) foi o que apresentou menor eficiência, por se tratar de fibra com maior afinidade por compostos mais apolares (PAWLISZYN, 2009).

3.2.3 Compostos voláteis

Voláteis de látex e maturação

Em campo observa-se que moscas geralmente iniciam a oviposição em frutos de manga somente a partir do estágio chamado de maturação fisiológica, ou pouco antes disso. Esse estágio é popularmente conhecido como fruto “de vez” ou em início de maturação, quando apresenta características intermediárias entre verdes e maduras. Por este motivo optou-se por comparar diferentes condições fisiológicas nas variedades estudadas. Cromatogramas da variedade ‘Alfa’ madura e verde, da ‘Ataulfo’ verde e intermediária e da ‘Azenha’ verde, intermediária e madura são apresentados a seguir para comparação dos estágios de maturação (Figuras 30 a 32).

¹ DVB = Divinilbenzeno; Car = Carboxen; PDMS = Polidimetilsiloxano

Figura 30. Comparação dos cromatogramas de voláteis de látex da variedade 'Alfa' madura (linha preta) e verde (linha rosa). TIC/GC-MS

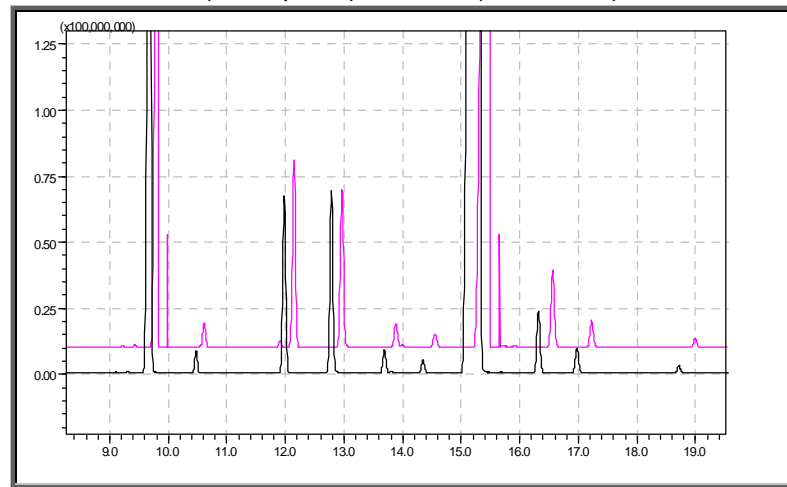


Figura 31. Comparação dos cromatogramas de látex da variedade 'Ataulfo' verde (rosa) e intermediária (preta). GC-MS

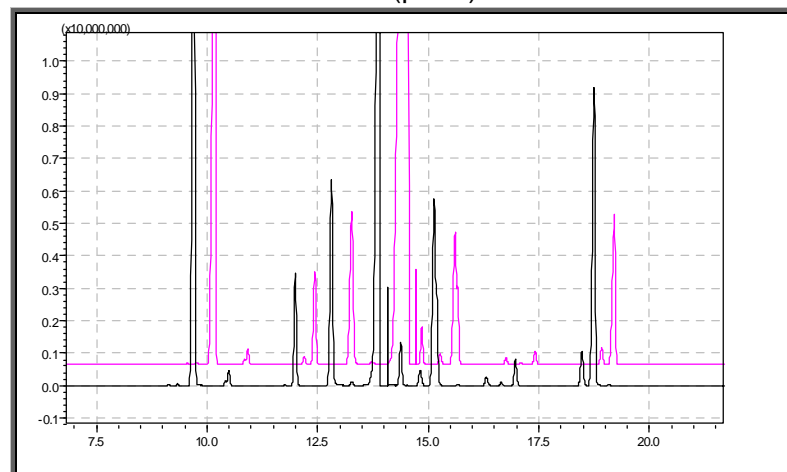
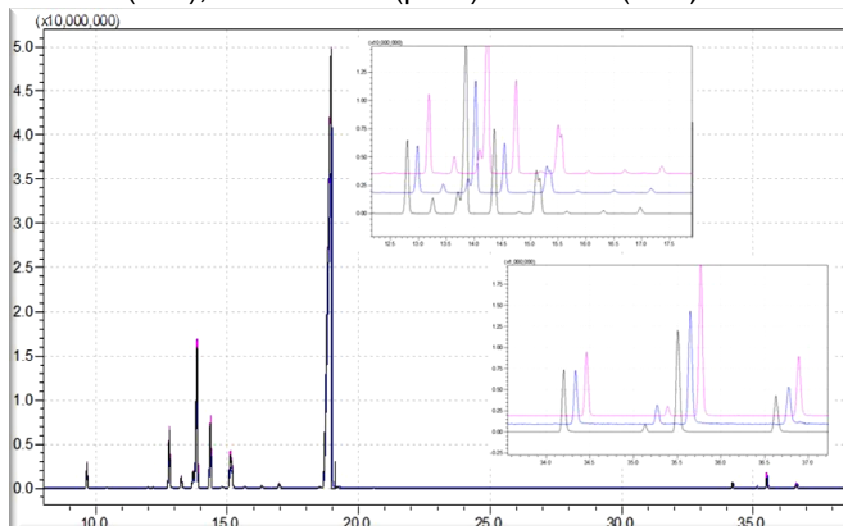


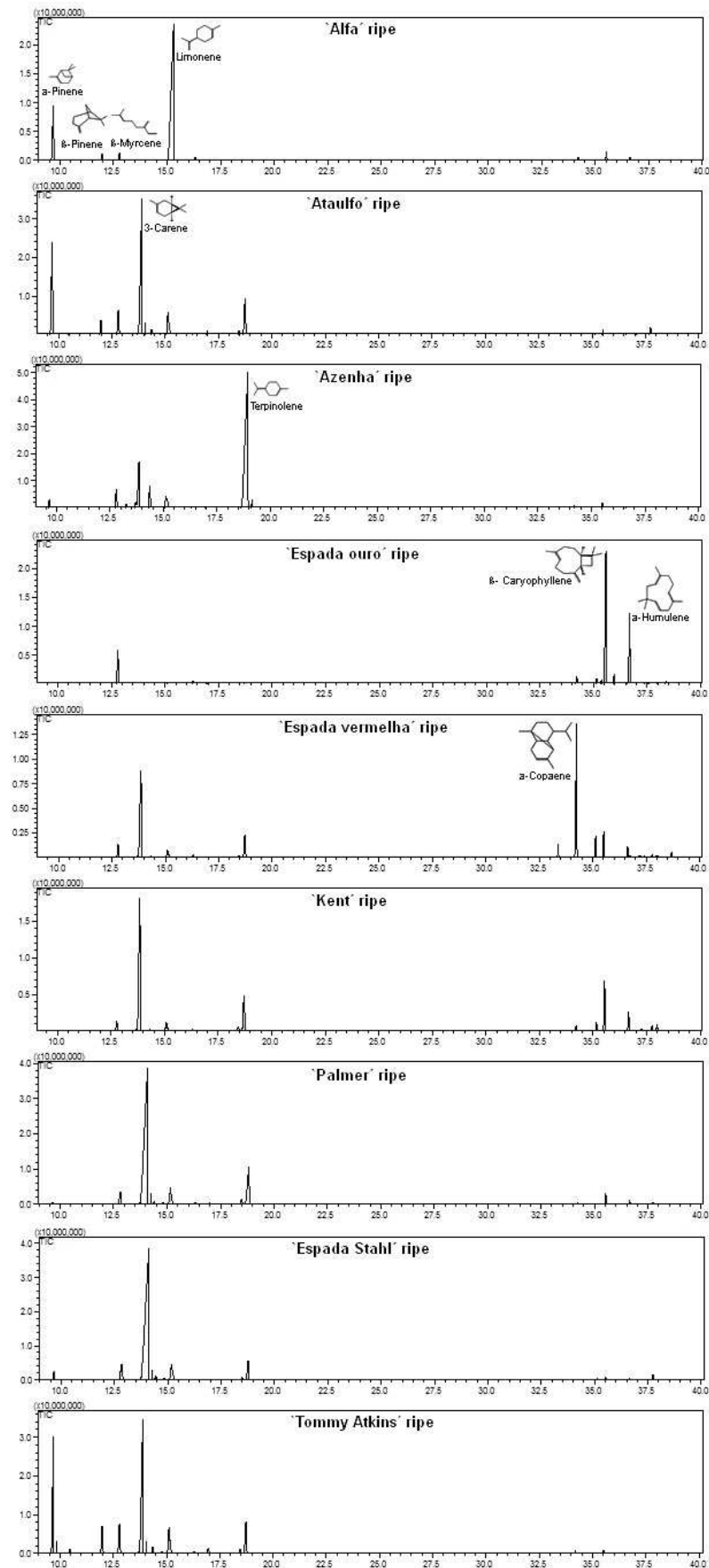
Figura 32. Comparação dos cromatogramas de voláteis de látex da variedade 'Azenha' verde (azul), intermediária (preta) e madura (rosa). GC-MS



Foi possível observar a inexistência de diferenças qualitativas, ou seja, os compostos identificados foram os mesmos, porém a intensidade de alguns poucos picos sofreram variação. Os testes foram realizados com mínimo de triplicatas, não havendo diferenças significativas entre as áreas de picos após análise de variância e comparação de médias por Tukey ($p=0,05$).

Os resultados obtidos com voláteis de látex demonstraram não haver diferenças quantitativas significativas entre estágios maduro e verde, nas mesmas variedades, porém grandes diferenças quali e quantitativas foram notadas comparando-se diferentes variedades, enquanto outras apresentaram perfil semelhante (Figura 33). Os principais compostos encontrados foram δ -3-careno, limoneno, terpinoleno, α -pineno, mirceno, β -cariofileno, α -terpineno, β -felandreno, β -pineno, α -humuleno e α -copaeno (Figura 34).

Figura 33. Cromatogramas (TIC/GC-MS) de compostos voláteis de látex de frutos maduros de variedades de manga. Tempo de retenção em minutos.



A tabela 6 dispõe a identificação de compostos voláteis de látex das variedades `Alfa´ madura e verde, `Ataulfo´ madura e verde, `Azenha´ madura, `Espada ouro´ madura, `Espada Stahl´ madura, `Espada vermelha´ verde e madura, `Kent´ madura, `Palmer´ verde e madura, `Tommy Atkins´ madura. Foram omitidos na tabela alguns compostos reconhecidamente contaminantes e presentes na análise do branco, a exemplo de siloxanos, provavelmente advindos da coluna ou da fibra de extração, piridina e tolueno.

A maioria das repetições de análises neste trabalho foram realizadas em cromatógrafo com detector de ionização em chama, porém identificações contaram com análises em cromatógrafo acoplado a espectrômetro de massas. Ocorreu correspondência entre os resultados obtidos nos dois equipamentos com a variedade `Palmer´ (Figura 34).

Figura 34. Comparação de cromatogramas oriundos de GC-FID (azul, acima) e GC-MS (preto, abaixo) para látex da variedade `Palmer´, *split* 1:25.

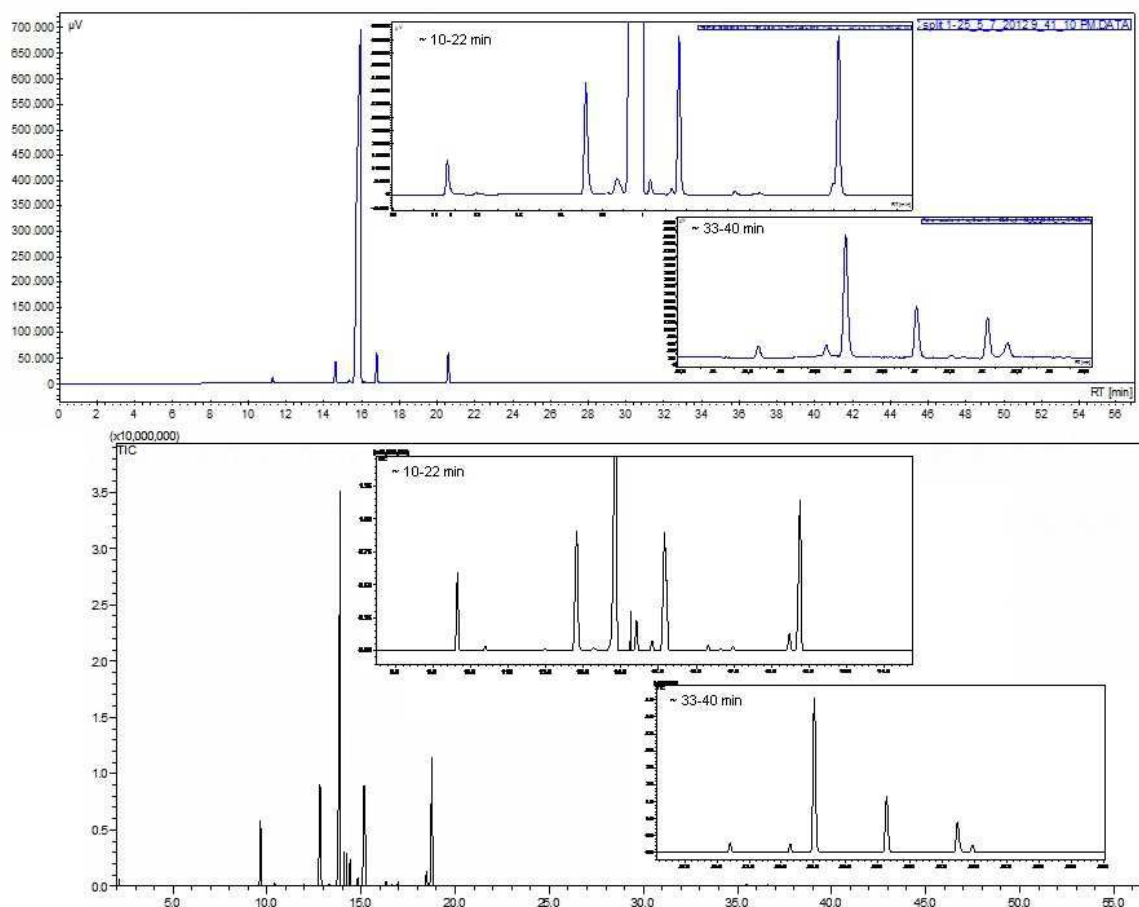


Tabela 6. Identificação de compostos voláteis de 13 amostras de látex de manga. Números indicam área relativa de picos GC-MS/TIC. IR – índice de retenção. Índices de retenção da literatura foram obtidos nas referências do composto na biblioteca Webnist.

* - confirmados com injeção de padrões; - não detectado

Composto	Literatura	IR	Alfa		Ataulfo maduro	Ataulfo verde	Azenha maduro	Espada ouro maduro	Espada Stahl maduro	Espada vermelha maduro	Espada vermelha verde	Kent maduro	Tommy maduro	Palmer verde	Palmer maduro
			maduro	verde											
1	Triclicleno	924	-	0,04	-	-	-	-	-	-	-	-	0,09	-	-
2	α -Tujeno	930	-	0,05	0,03	0,02	-	-	0,05	-	0,04	-	0,14	0,03	-
3	α -Pinen*	934	-	17,6	22,77	17,08	1,48	0,2	5,68	0,11	3,35	0,25	39,01	4,58	3,63
4	Fencheno	949	956	-	0,11	0,09	0,03	-	0,34	-	0,22	-	0,23	0,28	0,20
5	Canfeno*	950	951	0,19	0,52	0,41	0,01	-	-	-	-	-	0,87	0,02	-
6	Sabineno	972	975	-	0,15	-	-	-	-	-	-	-	0,22	-	-
7	β -Pinen*	976	984	1,66	4,27	3,28	0,04	0,1	0,07	-	0,07	-	6,06	0,14	0,14
8	Mirceno*	991	991	1,7	3,69	6,62	3,96	13,7	14,35	3,86	8	3,11	8,38	11,23	10,06
9	α -Felandreno*	1002	1010	0,22	0,59	0,21	1,42	-	-	0,39	-	0,34	2,07	-	-
10	(+)-4-Careno	1005	1004	-	-	0,06	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	δ -2-Careno	1006	1005	-	-	0,12	0,86	-	0,32	-	0,22	-	0,17	0,27	0,25
12	δ -3-Careno*	1011	1014	-	0,05	40,35	11,14	-	42,86	31,18	60,9	51,67	20,18	53,22	53,66
13	<i>m</i> -Menta-6,8-dieno	1018	1027	-	-	0,2	0,12	-	0,8	-	-	0,25	0,48	0,8	0,79
14	α -Terpineno	1021	1025	0,13	0,37	1,23	0,64	4,83	2,2	0,3	1,45	0,34	1,58	1,88	1,65
15	Limonen*	1030	1028	79,14	68,65	6,54	2,86	0,39	11,51	2,27	8,3	2,55	6,51	12,14	11,04
16	β -Felandreno	1038	1031	-	-	0,96	0,9	1,53	3,57	0,69	2,37	1,04	1,88	-	2,56
17	β -Z-Ocimen*	1041	1039	-	-	0,03	0,13	-	-	-	-	-	-	-	-
18	β -E-Ocimen*	1052	1056	0,62	0,03	0,28	0,18	1,24	0,46	0,92	1,53	0,36	0,35	0,41	0,43
19	γ -Terpineno*	1061	1066	0,25	0,67	0,84	-	0,43	0,52	0,07	0,4	0,19	0,85	0,43	0,33
20	Terpinoleno*	1088	1085	0,08	0,23	10,95	69,78	0,25	14,47	8,42	12,26	14,84	8,98	13,81	12,62
21	α -Cubebeno	1345	1345	-	-	-	-	-	-	2,35	0,02	2,12	0,02	-	-
22	α -Copaeno	1373	1384	0,52	0,2	-	0,3	1,77	-	31,86	0,23	1,04	0,51	0,02	0,05
23	β -Elemeno	1386	1388	-	-	-	-	-	-	-	-	0,09	-	-	-
24	α -Gurjuneno	1405	1405	-	-	0,14	0,03	1,57	0,16	4,6	-	-	0,1	-	-
25	α -Z-Bergamoteno	1416	1411	-	-	-	0,03	1,14	-	-	-	-	-	-	-
26	β -Cariofileno*	1424	1428	1,63	0,73	0,96	0,56	49	0,49	5,86	0,05	12,43	0,86	0,5	0,68
27	α -E-Bergamoteno	1432	1441	-	-	-	-	2,85	-	-	-	-	-	-	-
28	Aromadendreno	1436	1436	-	-	-	-	-	-	0,46	-	-	-	-	-
29	α -Humuleno	1454	1465	0,67	0,29	0,32	0,21	24,03	0,17	2,52	-	4,94	0,36	0,17	0,25

Foram identificados 46 compostos voláteis em látex de manga, dos quais 20 são monoterpenos, 23 sesquiterpenos, 1 diterpeno e 2 óxidos de terpenos. A soma das áreas dos 11 principais compostos foi de 96.5% da área total, sendo eles **δ -3-careno** (40.67%), **limoneno** (15.67%), **terpinoleno** (14.54%), **α -pineno** (10%), **mirceno** (6.10%), **β -cariofileno** (2.89%), **α -terpineno** (1.46%), **β -felandreno** (1.39%), **β -pineno** (1.39%), **α -humuleno** (1.28%) e **α -copaeno** (1.14%). Não houve diferença significativa comparando-se frutos maduros ou verdes. Os compostos **triciclono**, **(+)-4-careno**, **β -cis-ocimeno**, **δ -terpineno**, **β -elemeno**, **7-epi-sesquitujeno**, **cadina-3,5-dieno**, **epi- β -santaleno**, **sesquisabineno**, **valenceno**, **cis- α -bisaboleno**, **γ -cadineno**, **7-epi- α -selineno**, **β -sesquiphelandreno**, **óxido de cariofileno**, **epóxido de humuleno II**, **m-canforeno** foram identificados em pequenas quantidades (área relativa < 0,2 %) e portanto foram omitidos nas análises estatísticas (ALUJA et al., 2014). Os principais componentes nas variedades foram **limoneno** (74%) para 'Alfa', **terpinoleno** (69.8%) para 'Azenha', **δ -3-careno** (53%), **α -pineno** (19.5%) e **terpinoleno** (7.3%) em 'Ataulfo', **α -humuleno** (24%) e **mirceno** (13.7%) na 'Espada ouro', **δ -3-careno** (42.9%), **mirceno** (14.3%) e **limoneno** (11.5%) na 'Espada Stahl', **α -copaeno** (31.9%), **δ -3-careno** (31.2%) e **terpinoleno** (8.4%) na 'Espada vermelha', **δ -3-careno** (51.7%), **terpinoleno** (14.8%) e **β -cariofileno** (12.4%) na 'Kent', **δ -3-careno** (48.7%), **terpinoleno** (14.4%), **mirceno** (11.6%) e **limoneno** (11.5%) na 'Palmer' e, finalmente, **α -pineno** (39%), **δ -3-careno** (20.2%), **terpinoleno** (8.9%) e **mirceno** (8.4%) na 'Tommy Atkins'. Complementarmente realizou-se análise de amostras de látex da variedade 'Palmer' advinda de duas localidades e o resultado foi o mesmo para os dois locais.

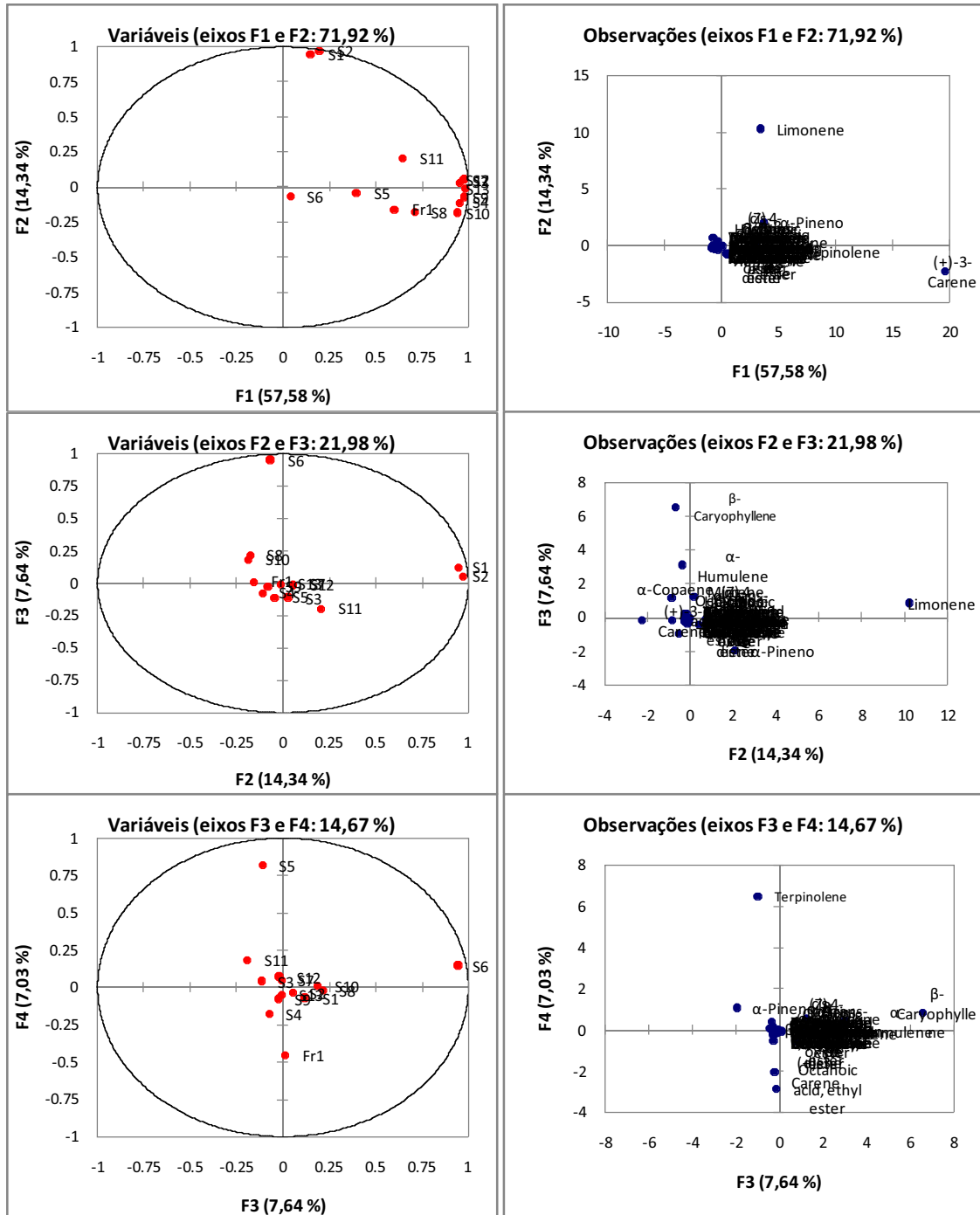
Andrade et al., (2000) analisaram polpa de 15 variedades de mangas brasileiras, identificando 81 compostos voláteis. Os autores propuseram agrupamento com três classes, em função dos compostos majoritários, quais sejam: **1) variedades ricas em α -terpinoleno** ('Cheiro', 'Chana', 'Bacuri', 'Cametá', 'Gojoba', 'Carlota', 'Coquinho' e Comum), **2) variedades ricas em δ -3-careno** ('Tommy Atkins', 'Haden' e 'Keitt', variedades tipicamente norte-americanas) e **3) grupo das ricas em mirceno** ('Cavalo', 'Rosa', 'Espada' e 'Paulista'). Neste sentido é possível ver alguma correlação entre voláteis de látex e de polpa, uma vez que neste trabalho, encontramos os mesmos compostos **δ -3-careno**, **α -terpinoleno**

e **mirreno** como o 1º, 3º e 5º compostos respectivamente mais importantes em quantidade.

A grande quantidade relativa de **limoneno** encontrado na variedade resistente `Alfa` chama atenção para possível papel deste composto na resistência à mosca, uma vez que não são encontrados teores relativos semelhantes (~70%) nas variedades suscetíveis. Por outro lado John et al., (1999) encontraram **limoneno** como majoritário (quantidade relativa de 61%) no látex da variedade `Mallika`, que é suscetível à mosca. Estas informações são importantes mas não conclusivas, pois o referido trabalho não traz análises quantitativas para os compostos estudados e também, como já comentado, o fator de resistência ou repelência é melhor ligado ao efeito de *blends*, do que a compostos isolados.

Os dados da tabela 6 foram também submetidos à análise de componentes principais (PCA-*Principal Component Analysis*) com base no coeficiente de Pearson-*n*, conforme proposto por Van Dam e Poppy, (2008), incluindo-se ainda, para comparação, dados de fruto maduro da variedade `Palmer` (Figura 35).

Figura 35. Análise de componentes principais (Pearson-n) de voláteis de látex de manga à esquerda e *loadings* de compostos à direita. **S1**-Alfa madura; **S2**-Alfa verde; **S3**-Ataulfo madura; **S4**-Ataulfo verde; **S5**-Azenha madura; **S6**-Espada ouro madura; **S7**-Espada Stahl madura; **S8**-Espada vermelha madura; **S9**-Espada vermelha verde; **S10**-Kent madura; **S11**-Tommy madura; **S12**-Palmer verde; **S13**-Palmer madura; **Fr1** é sigla do fruto da variedade 'Palmer' madura.

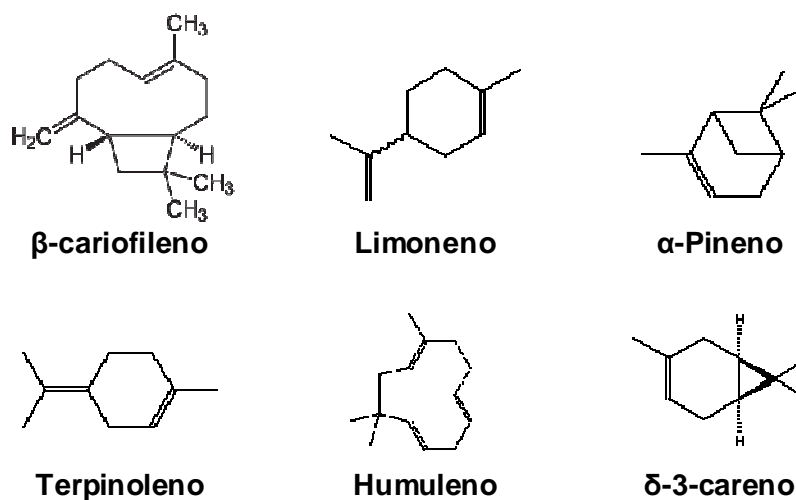


Não ocorreu diferença de agrupamento com relação aos diferentes estágios de maturação para as mesmas variedades. Interessantemente no caso de frutos da 'Tommy Atkins', a mais vendida no Brasil e uma das mais importantes no mundo, Canuto et al., (2009) encontraram algumas diferenças comparando-se frutos em diferentes estágios de maturação, onde tanto em frutos totalmente verdes, "de vez" ou totalmente maduros o composto majoritário foi **δ -3-careno**, porém alguns compostos como **etanol, acetato de etila, butanoato de etila, canfeno, hexanoato de etila** ocorreram somente quando madura, podendo ser considerados como marcadores químicos de estágio maduro. A proporção de **δ -3-careno** foi maior em frutos verdes, sendo a quantidade deste composto também indicadora, mas de estágio verde.

Algumas variedades apresentaram perfil distinto em relação aos principais compostos e estes foram responsáveis por alguma separação do grupo principal. A variedade 'Alfa' verde (S2) e madura (S1) foram claramente agrupadas, devido à maior quantidade de **limoneno** em ambos (PCA - F1 x F2). A variedade 'Azenha' devido ao **terpinoleno** (PCA - F3 x F4), a 'Espada ouro' devido ao **β -cariofileno** e **humuleno** (PCA - F2 x F3), a 'Tommy Atkins' devido ao pineno, enquanto o fruto da 'Palmer' foi separado com a influência de **δ -3-careno** e do octanoato de etila, composto já utilizado como atraente para moscas-das-frutas por Cruz-Lopez et al., (2006), (PCA - F3 x F4), resultado interessante uma vez que esta variedade é suscetível à *A. obliqua*.

A figura 36 mostra a estrutura dos seis compostos voláteis que mais influenciaram separação na análise de componentes principais em látex de manga.

Figura 36. Estruturas dos seis compostos voláteis de látex, que mais influenciaram separação nos agrupamentos de componentes principais. Interessantemente todos são terpenos.



Foram identificados 154 compostos voláteis em polpa das variedades 'Irwin', 'Haden', 'Springfield', 'Yulima', 'Tommy Atkins', 'Van Dyke', 'Manila', 'Vallenato' e 'Hilacha', sendo os quatro mais abundantes também **δ-3-careno**, **α-pineno**, **α-felandreno** e **terpinoleno** (QUIJANO et al., (2007). Para comparar o perfil de voláteis de látex e de frutas, as áreas totais dos picos da variedade 'Palmer' foram submetidas à análise de variância, que demonstrou não haver diferença estatisticamente significativa. No látex da variedade 'Palmer' foi possível detectar apenas 17 compostos, enquanto o seu fruto apresentou 55, dos quais somente 12 ocorreram em ambos. Apesar de alguns compostos apresentarem maior peso na separação de componentes principais é importante considerar que mesmo compostos com pequenas quantidades podem ter efeito em percepções sensoriais, como para localizar alimento ou em relações ecológicas. Em outras palavras, apesar do tratamento estatístico oferecer alguma direção, os dados não devem ser considerados estritamente com base em diferenças estatísticas, uma vez que seus efeitos estão ligados a limites de limiar (*threshold*) muito distintos.

Os resultados apresentados para voláteis deixam clara a diferença no perfil entre variedades e possível relação destas diferenças com fatores de resistência ou suscetibilidade, no entanto é importante citar que outros fatores provavelmente são envolvidos. Aluja et al., (2014) criaram um índice de resistência baseado nos fatores número de larvas por fruto, tempo de desenvolvimento de larvas, formação efetiva

de pupas, peso de pupas, porcentagem de emergência de adultos, sobrevivência de adultos, fecundidade e fertilidade. Com base neste índice criaram um ranque de resistência para 15 variedades comparando às espécies *A. obliqua* e *A. ludens*. As variedades 'Palmer' e 'Kent' aqui estudadas apresentaram índices próximos, o que é interessante pelo resultado semelhante no perfil de voláteis, no entanto a variedade 'Tommy Atkins' apresentou índice diferente das duas citadas, apesar do mesmo perfil de voláteis aqui demonstrados para látex. Neste trabalho também encontraram em 'Tommy Atkins' o composto **α -pineno** como o principal nesta variedade. Malo et al., (2012) também propõem que este composto possui importância no fator de atração de *A. obliqua* por mangas suscetíveis.

Voláteis de frutos

Os resultados de voláteis de frutos estão dispostos de diferentes formas com vistas a facilitar a compreensão de dados complexos e a discussão dos mesmos. Inicialmente serão exibidos os cromatogramas de cada variedade, figuras 37 a 41, seguidos da tabela 7, com resultados de áreas relativas dos picos de compostos.

Apesar da não realização de curvas de calibração para análises quantitativas, optou-se por apresentar gráficos com áreas de picos dos principais compostos, figuras 42 e 43, pois tais compostos apresentam similaridade química, a exemplo de ponto de ebulição e polaridade, o que levam a respostas próximas na detecção. Este fato permite considerar a comparação destas áreas com alguma segurança (IOFI WORKING GROUP ON METHODS OF ANALYSIS, 2011). Finalmente a figura 44 apresenta o somatório de áreas por categoria de compostos.

Figura 37. Cromatogramas de voláteis de fruto da variedade suscetível às moscas-das-frutas `Kent` madura (em laranja) e verde (em verde) – SPME DVB/Car/PDMS (50/30 μ m), extração 3h a 25°C *splitless*, tempo de retenção em minutos, GC-MS/TIC.

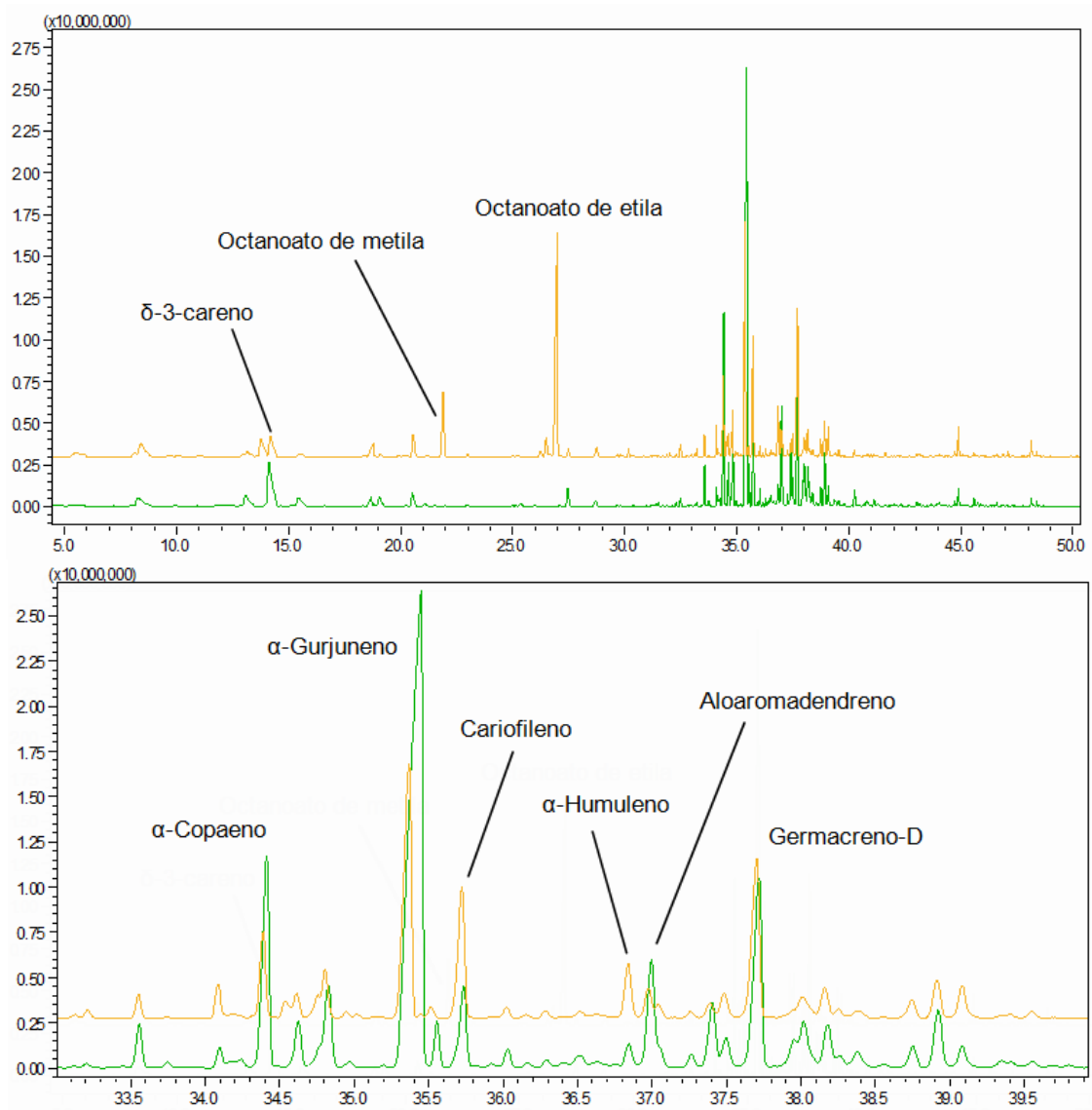


Figura 38. Cromatogramas de voláteis de fruto da variedade suscetível à moscas-das-frutas 'Palmer' madura (em laranja) e verde (em verde) – SPME DVB/Car/PDMS (50/30 μm), extração 3h a 25°C *splitless*, tempo de retenção em minutos, GC-MS/TIC.

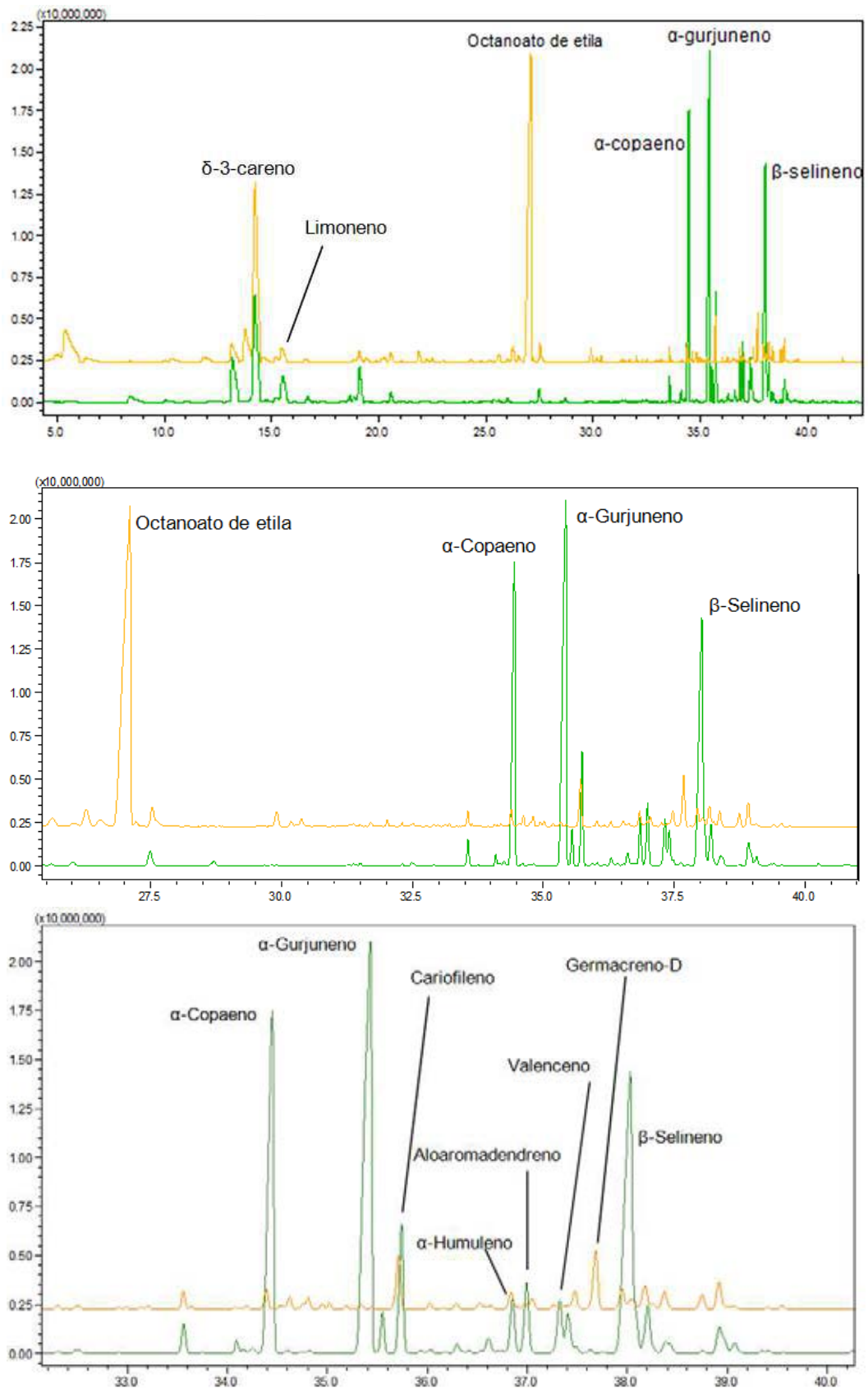


Figura 39. Cromatogramas de voláteis de fruto da variedade resistente à moscas-das-frutas `Alfa´ madura (em laranja) e verde (em verde) – SPME DVB/Car/PDMS (50/30 μ m), extração 3h a 25°C *splitless*, tempo de retenção em minutos, GC-MS/TIC.

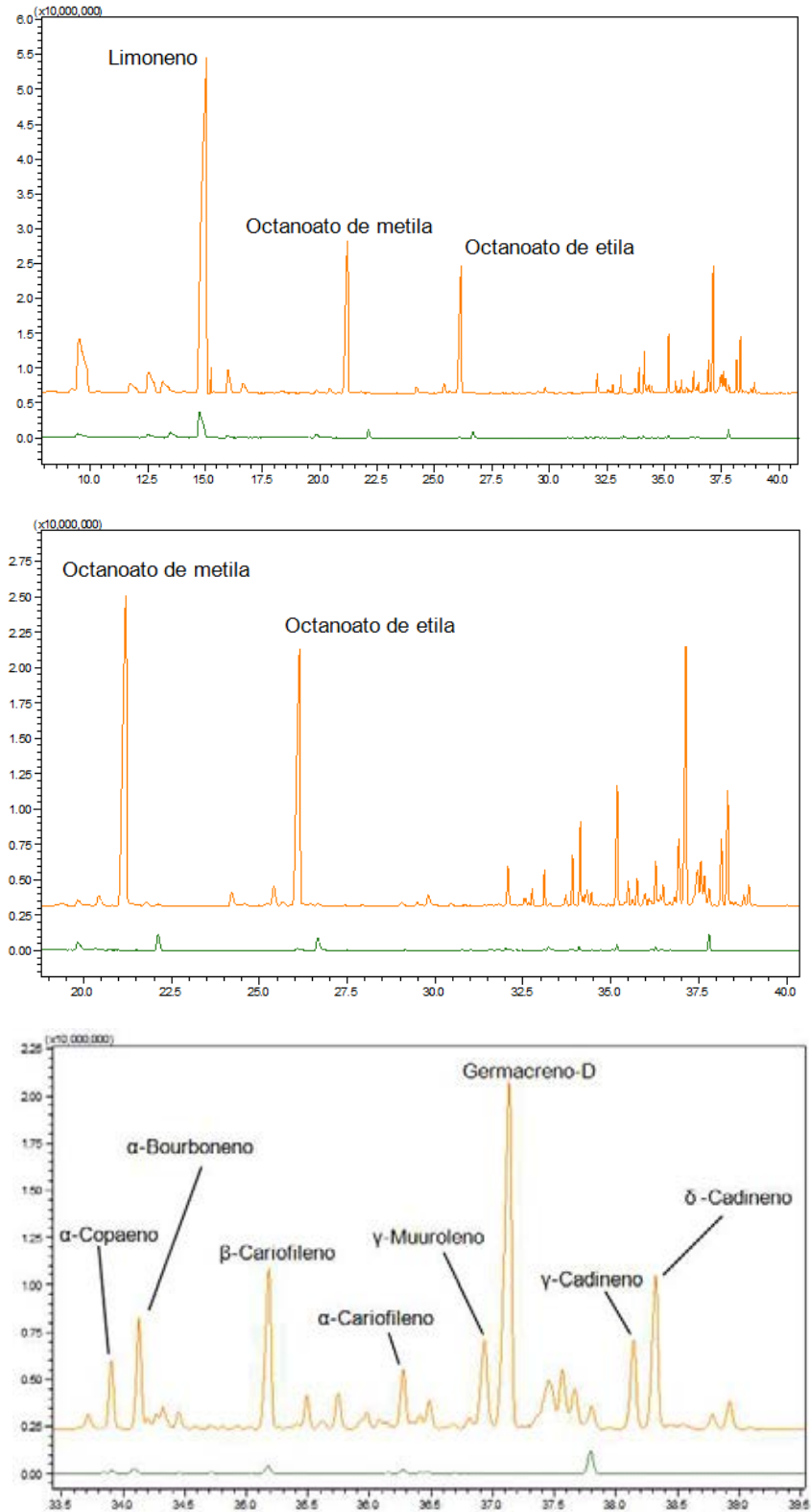


Figura 40. Comparação dos cromatogramas de voláteis de fruto da variedade resistente à moscas-das-frutas `Espada vermelha` madura (em laranja) e verde (em verde) – SPME DVB/Car/PDMS (50/30 μ m), extração 3h a 25°C *split* 1:20, tempo de retenção em minutos, GC-MS.

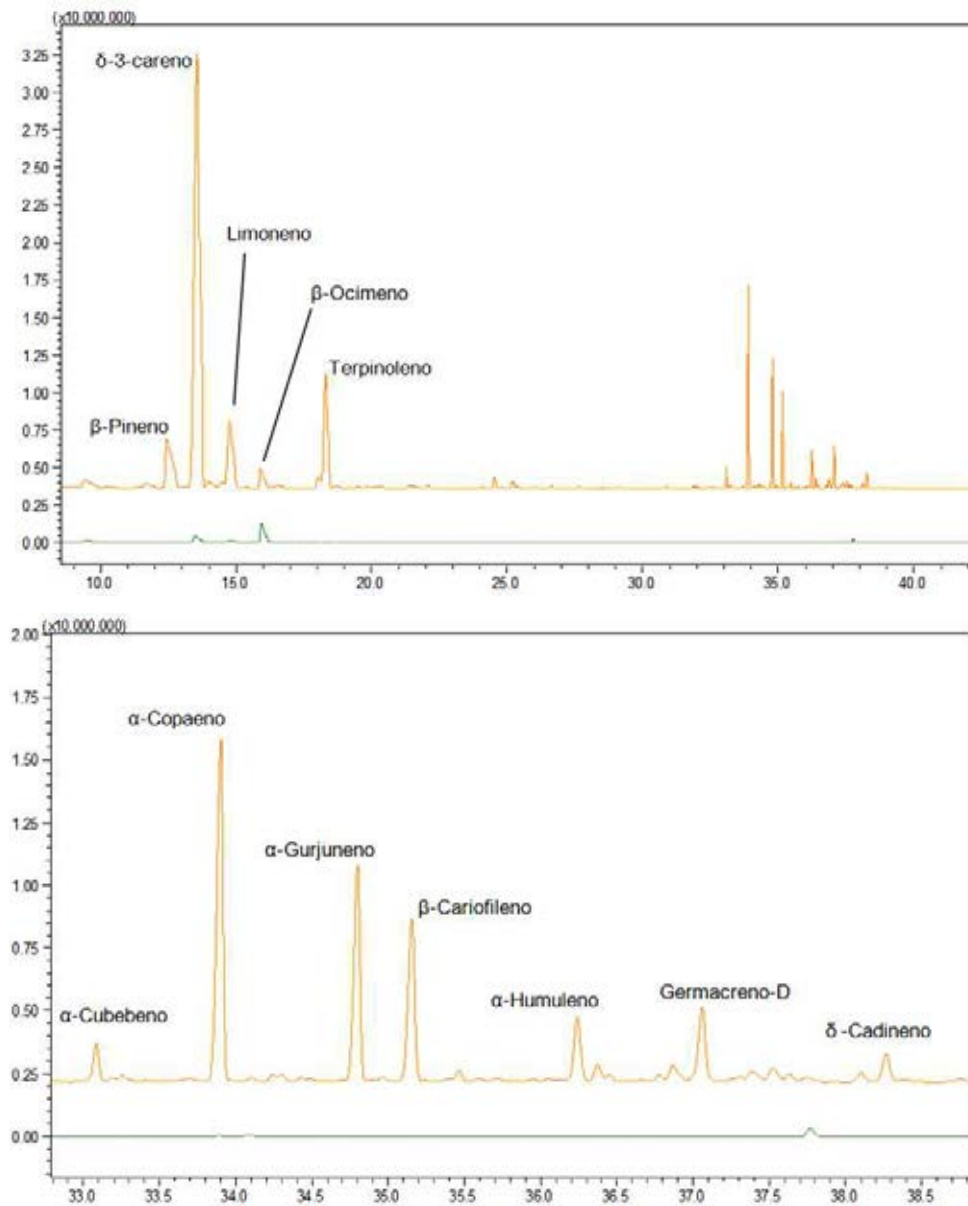


Figura 41. Comparação de cromatogramas de voláteis de frutos maduros das variedades resistentes `Alfa` e `Espada vermelha` e das suscetíveis `Kent` e `Palmer`. SPME (DVB/Car/PDMS 50/30 μ m), extração 3h a \sim 25°C, injeção *splitless*, tempo de retenção em minutos, GC-MS/TIC.

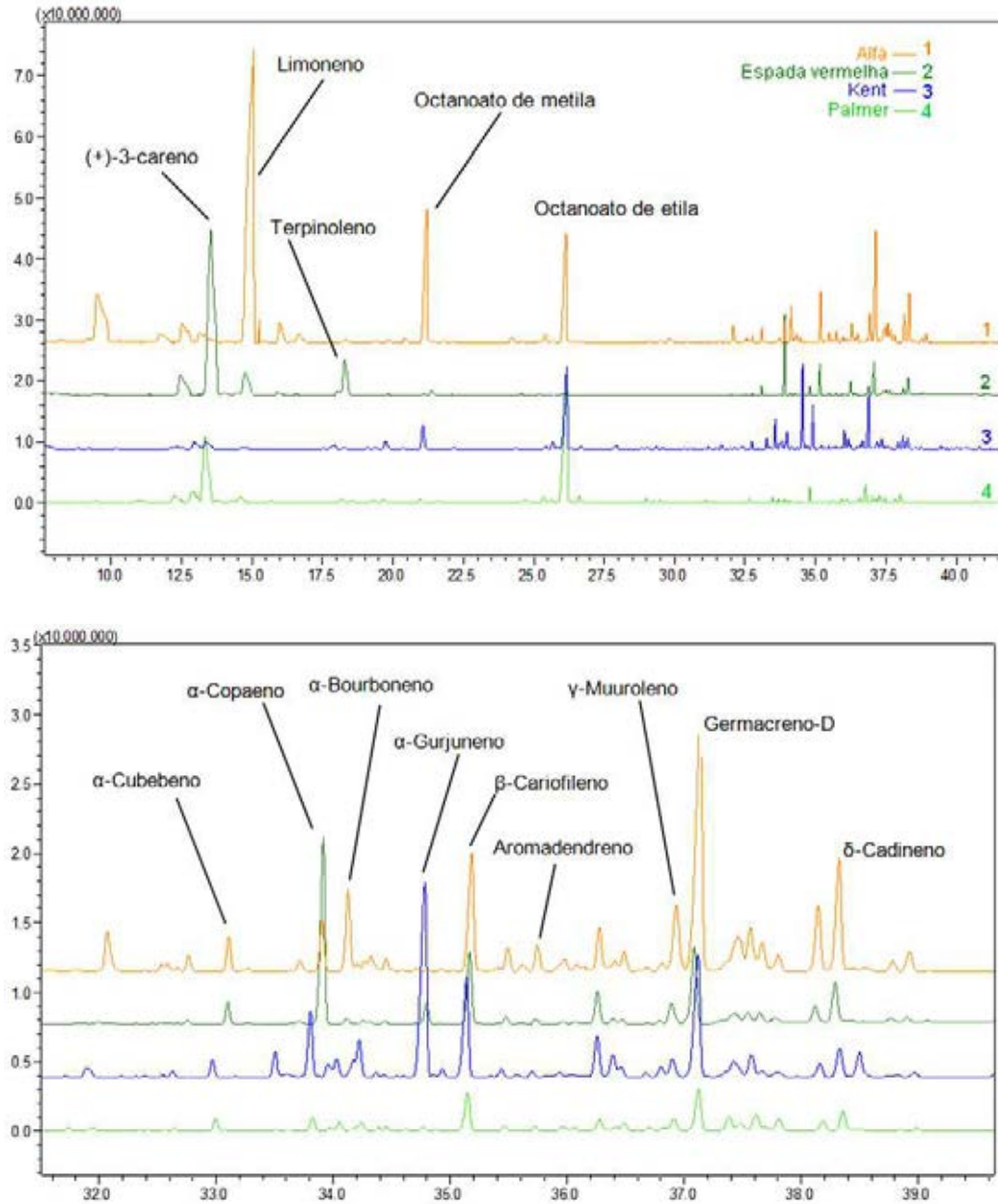


Tabela 7. Identificação de compostos voláteis em frutos verdes (vd) e maduros (mad) das variedades suscetíveis a moscas-das-frutas 'Palmer' e 'Kent' e das resistentes 'Alfa' e 'Espada vermelha'. Os números nas colunas indicam área relativa de picos em porcentagem. Asteriscos indicam confirmação com injeção de padrões e traços significam compostos não detectados. IR – índice de retenção. Índices de retenção da literatura foram obtidos nas referências do composto na biblioteca Webnist.

n.	IR literatura	IR calculado	Composto	Palmer mad	Palmer vd	Kent mad	Kent vd	Alfa mad	Alfa vd	Espada verm. mad	Espada verm. vd
1	922	920	Hexanoato de metila	-	-	-	-	0.11	-	0.54	-
2	934	936	α -Pinoeno*	0.27	0.37	0.2	-	6.71	10.93	0.23	5.63
3	976	984	β -pinoeno*	-	-	0.13	-	0.96	2.68	-	-
4	969	969	Dimetil-trissulfeto	0.54	-	0.11	-	-	-	-	-
5	991	991	Mirceno*	3.4	7.26	2.92	2.02	2.94	6.38	6.48	-
6	997	997	Butanoato de etila	0.14	-	-	-	-	-	-	-
7	1000	1000	Hexanoato de etila*	-	-	0.6	-	0.41	-	-	-
8	1006	1005	δ -2 careno	5.75	-	0.52	-	-	-	-	-
9	1011	1014	δ -3-careno	28.43	15.96	22.38	7.9	-	-	53.94	26.51
10	1018	1027	m-menta-6,8-dieno	-	-	0.28	-	-	-	-	-
11	1021	1025	α -Terpineno	1.09	0.29	0.12	-	-	-	-	-
12	1025	1025	o-Cimeno	0.71	-	0.45	-	-	-	-	-
13	1030	1028	Limoneno*	2.37	3.61	2.1	1.49	45.83	51.57	8.64	7.28
14	1041	1039	β -Z-Ocimeno*	-	-	0.04	-	0.88	11.49	-	-
15	1052	1056	β -E-Ocimeno*	0.44	0.57	0.34	-	0.59	3.78	2.67	57.39
16	1061	1066	γ -Terpineno*	-	0.15	0.14	-	0.31	-	0.08	-
17	1088	1085	Terpinoleno*	1.21	3.65	0.36	1.08	0.19	-	7.99	-
18	1089	1089	p-Cimeno	0.54	-	3.14	-	-	-	-	-
19	1099	1099	Heptanoato de etila	0.22	-	0.18	-	-	-	-	-
20	1127	1127	Octanoato de metila	0.87	-	0.17	-	4.31	-	0.11	-
21	1132	1132	Z-Óxido de Limoneno	0.25	-	0.05	-	0.07	-	0.28	-
22	1136	1136	Tiglato de butila	0.36	-	0.25	-	-	-	-	-
23	1172	1173	2-Octenoato de metila	-	-	0.17	-	0.14	-	-	-
24	1175	1174	1-Nonanol	0.11	-	0.12	0.19	-	-	-	-
25	1181	1181	p-Cimen-8-ol	0.66	0.27	0.13	0.13	-	-	0.15	-
26	1189	1189	4-Octenoato de etila	1.29	-	0.34	-	0.16	-	-	-
27	1193	1195	Hexanoato de butila*	0.61	-	0.31	-	0.08	-	-	-
28	1192	1192	Z-3-Octanoato de etila	-	-	0.27	-	-	-	-	-
29	1200	1199	Octanoato de etila*	35.18	-	8.84	-	2.82	0.71	0.54	-
30	1203	1203	Dodecano	0.23	-	0.4	-	-	-	-	-
31	1262	1261	2-Octenoato de etila	0.21	-	0.76	-	0.02	-	-	-
32	1265	1267	γ -Octalactona	0.31	-	0.24	-	0.11	-	-	-
33	1290	1290	Acetato de bornila	0.14	-	0.08	0.13	-	-	-	-
34	1295	1295	Octanoato de propila	0.2	-	0.33	-	-	-	-	-
35	1300	1300	Tridecano	0.11	-	0.19	0.11	-	-	-	-

n.	IR literatura	IR calculado	Composto	Palmer mad	Palmer vd	Kent mad	Kent vd	Alfa mad	Alfa vd	Espada verm. mad	Espada verm. vd
36	1330	1333	δ -Elemeno	-	-	0.3	0.06	-	-	-	-
37	1348	1348	Iso caprilato de butila	0.06	-	0.67	0.16	-	-	-	-
38	1352	1345	β -Cubebeno	0.46	0.81	0.35	1.43	0.12	-	0.64	-
39	1369	1373	(-)-Isoledeno	-	0.11	-	0.32	-	-	-	-
40	1367	1368	Ciclosativeno	-	-	0.08	0.32	-	-	0.02	-
41	1373	1374	α -Copaeno	0.54	13.18	0.25	8.1	1.39	0.37	3.7	-
42	1378	1379	<i>E</i> -4-Decenoato de etila	0.12	-	0.89	-	-	-	-	-
43	1381	1381	β -Bourboneno	0.36	-	0.59	1.74	1.26	-	0.51	-
44	1387	1390	7-epi-sesquitujeno	-	-	0.66	-	-	-	-	-
45	1386	1388	β -Elemeno	0.34	-	-	4.07	0.22	-	0.06	-
46	1395	1392	Decanoato de etila	0.15	-	0.93	-	0.02	-	-	-
47	1405	1408	β -Gurjuneno	-	-	-	-	0.16	-	0.02	-
48	1405	1405	α -Gurjuneno	0.17	21.26	0.83	33.46	0.01	-	1.34	-
49	1424	1428	β -Cariofileno*	1.74	3.89	1.51	3.24	4.99	1.27	1.87	-
50	1432	1441	α - <i>E</i> -bergamoteno	-	-	0.58	0.18	-	-	-	-
51	1436	1436	Aromadendreno	0.17	0.32	0.21	0.31	0.12	-	0.05	-
52	1444	1444	Cadina-3,5-dieno	0.24	-	0.32	0.68	0.03	-	0.03	-
53	1454	1465	α -Humuleno	0.61	1.65	0.27	0.93	-	-	-	-
54	1451	1454	α -Cariofileno	-	-	-	-	2.5	0.64	-	-
55	1455	1458	Alloaromadendreno	-	2.24	0.24	3.99	-	-	0.15	-
56	1460	1460	<i>Z</i> -Muurolo-4(14),5-dieno	0.34	-	-	0.46	-	-	-	-
57	1472	1471	γ -Gurjuneno	-	1.43	0.73	2.72	-	-	0.07	-
58	1474	1474	γ -Muuroloeno	0.63	-	0.1	1.23	1.1	-	0.91	-
59	1480	1481	Germacreno D	2.04	-	28.51	8.83	9.56	-	4.25	-
60	1488	1488	α -Selineno	0.75	1.89	-	-	-	-	0.16	-
61	1491	1493	γ -Amorfeneno	0.47	-	-	-	-	-	-	-
62	1491	1500	Viridifloreno	-	-	-	2.39	-	-	-	-
63	1496	1500	β -Selineno	0.94	15.96	-	-	-	-	-	-
64	1498	1498	α -Muuroloeno	0.15	-	0.55	0.46	0.45	-	0.35	-
65	1506	1480	δ -amorfeneno	-	-	-	0.17	-	-	-	-
66	1506	1494	Biciclogermacreno	-	-	-	2.01	1.34	-	0.21	-
67	1511	1519	α - <i>Z</i> -bisaboleno	-	-	3.86	0.87	-	-	-	-
68	1512	1512	γ -Cadineno	0.52	-	1.61	0.94	-	-	-	-
69	1517	1517	δ -Cadineno	1.01	1.31	1.68	2.6	1.54	-	0.58	-
70	1531	1531	Cadina-1,4-dieno	0.07	1.85	3.04	0.21	0.13	-	0.05	-
71	1535	1535	α -Cadineno	0.14	-	0.25	0.27	0.08	-	0.06	-
72	1576	1576	Espatuleno	-	-	0.1	0.06	0.02	-	-	-
73	1587	1594	Óxido de cariofileno	-	-	0.18	0.08	0.04	-	-	-
74	1688	1688	Éter caprílico	-	-	0.18	0.05	-	-	-	-
75	1593	1593	Dodecanoato de etila	0.25	-	0.25	-	-	-	-	-
76	1613	1624	Epóxido de humuleno II	-	-	0.36	0.06	-	-	-	-

n.	IR literatura	IR calculado	Composto	Palmer mad	Palmer vd	Kent mad	Kent vd	Alfa mad	Alfa vd	Espada verm. mad	Espada verm. vd
77	1793	1793	Tetradecanoato de etila	0.08	-	0.15	-	-	-	-	-
78	1968	1954	Ácido hexadecanóico	-	-	1.26	0.08	-	-	-	-
Ésteres				39.52	0	14.94	0.29	8.07	0.71	1.19	0
Monoterpenos				44.87	32.13	33.34	12.81	58.41	86.83	80.18	96.81
Sesquiterpenos				12	66.18	48	81.99	25.11	2.28	15.03	0
Outros				1.65	0.27	2.49	0.62	0.02	0	0.15	0
Número de compostos				52	23	67	42	38	10	32	4

Estruturas dos principais compostos químicos voláteis emitidos por frutos de manga:

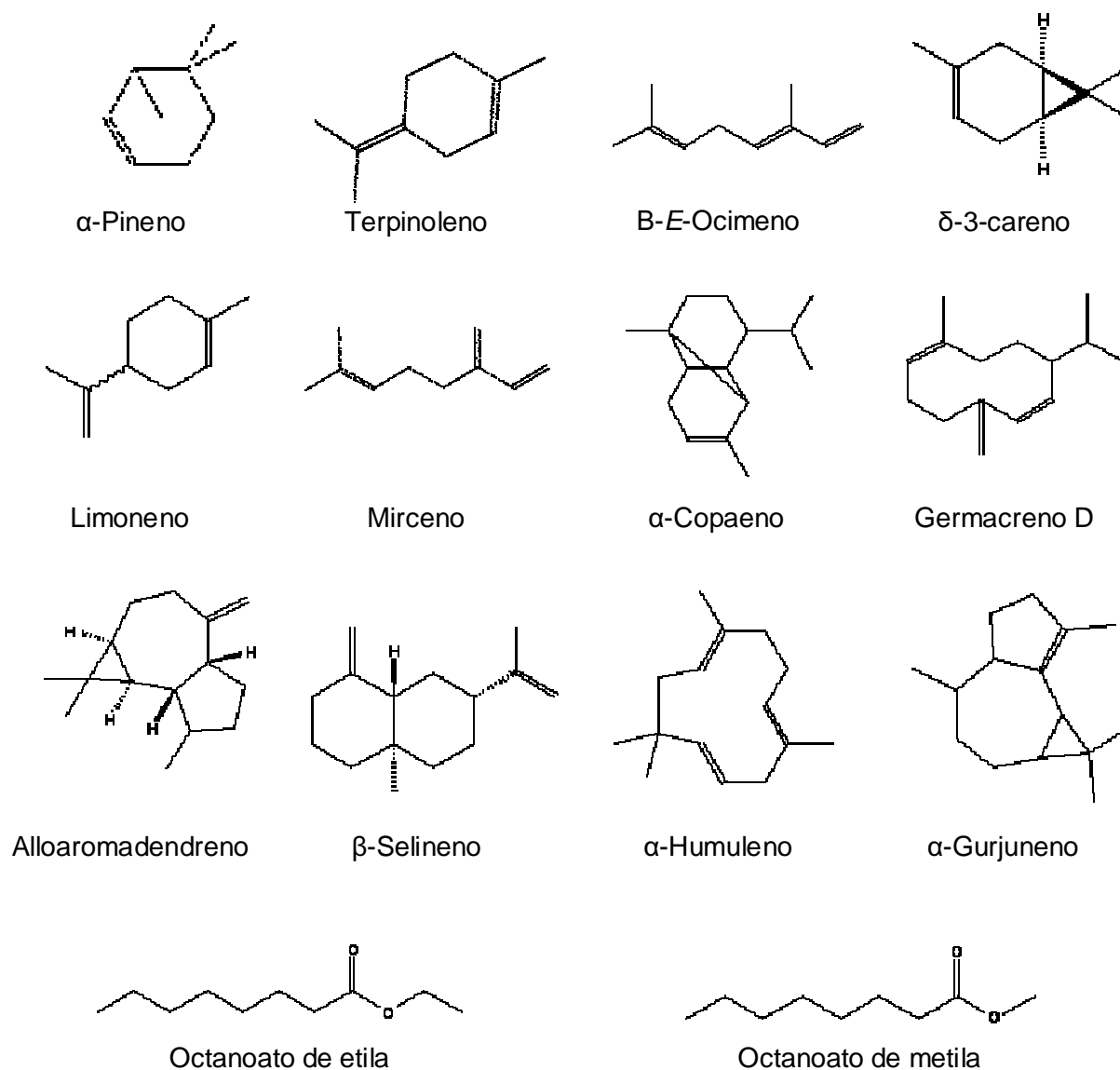


Figura 43. Gráfico com áreas de picos de 11 compostos voláteis em frutos das variedades resistentes `Alfa´ e `Espada vermelha´ e das suscetíveis `Kent´ e `Palmer´, em condições maduras (mad) e verdes (vd). SPME - DVB/Car/PDMS 50/30µm, extração 3h a ~25°C, injeção splitless, GC-MS/TIC, m/z em milhões. Excluídos os compostos δ-3-careno e limoneno, para facilitar comparação na escala utilizada.

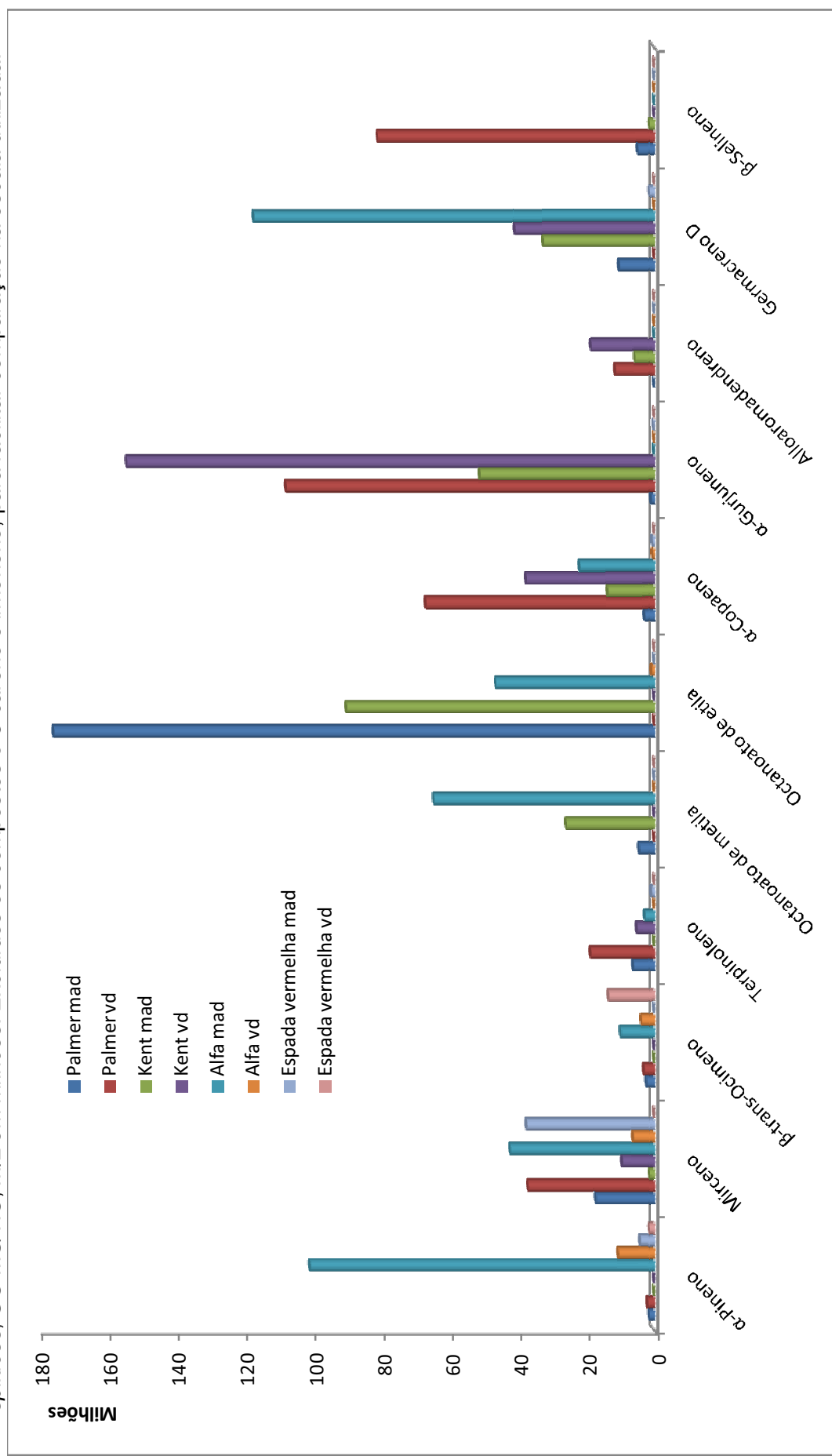
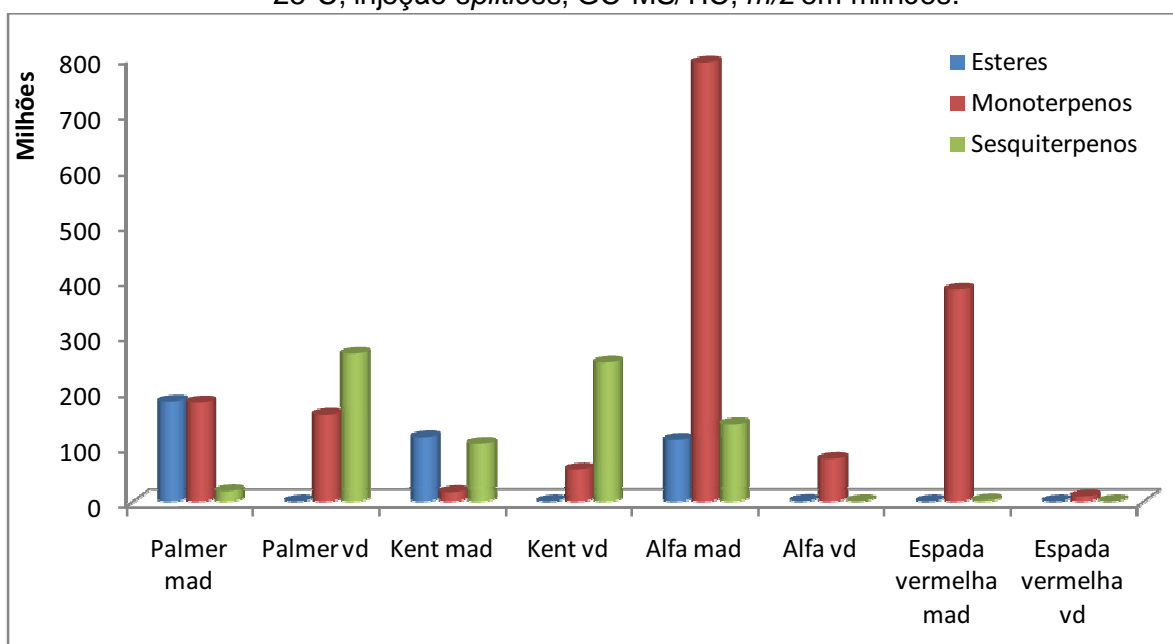


Figura 44. Gráfico com somatório de áreas de picos por categoria de compostos nas variedades resistentes `Alfa` e `Espada vermelha` e das suscetíveis `Kent` e `Palmer`, em condições maduras (mad) e verdes (vd). SPME - DVB/Car/PDMS 50/30 μ m, extração 3h a \sim 25 $^{\circ}$ C, injeção *splitless*, GC-MS/TIC, *m/z* em milhões.



A primeira observação importante com relação a diferenças nos estágios de maturação é a não ocorrência de **ésteres** em frutos verdes, enquanto esta classe de compostos passa a ser expressiva na fase madura das variedades suscetíveis. Vale citar que ésteres são responsáveis pelo cheiro típico de frutas maduras. Aluja et al., (2014) verificaram que o teor de ésteres aumenta com o índice de suscetibilidade às moscas. Também foi possível detectar a classe de **sesquiterpenos** como majoritária nas fases verdes das variedades suscetíveis, indicando possível relação de proteção com a presença destes compostos, uma vez que geralmente as moscas não ovipositam em frutos muito verdes, mesmo nas variedades suscetíveis. Este resultado está de acordo com Bender et al., (2000) que comprovaram a quantidade total de voláteis de manga emitidas por frutos maduros ser bem maior do que no estágio verde e também Sá (2006) e Hennessey e Schnell (2001) que comprovaram ausência ou pequena incidência de pupas em frutos verdes de manga. O somatório das áreas dos 13 principais compostos, dispostos na figura 37, totalizaram aproximadamente 79% da área total dos cromatogramas.

Foram identificados como voláteis emitidos por frutos de manga *in situ* 78 compostos químicos. Este resultado é interessante uma vez que apesar de Quijano et al., (2007) encontrarem 145 compostos em 9 variedades, alguns são artefatos da

técnica de destilação. Utilizando-se extração por destilação foram identificados 29 compostos na variedade 'Nam Dok Mai' (LAOHAPRASIT et al., 2011). O número de compostos aqui identificados foi muito maior do que a maioria dos artigos científicos com voláteis de manga.

No perfil das variedades resistentes a classe de **monoterpenos** foi majoritária, tendo o **limoneno** como o principal composto na variedade 'Alfa' e o **δ -3-careno** na 'Espada vermelha', este, um dos terpenos que participa na composição do cheiro de manga, lembrando que o aroma de manga, ao menos humanamente, não pode ser atribuído a um composto isolado (MACLEOD; SNYDER, 1985; SINGH, 2011). Este composto também é identificado isoladamente como cheiro de grama, floral e folhas de manga (MACLEOD; SNYDER, 1985)

A ocorrência **δ -3-careno** como majoritário nas variedades 'Tommy Atkins', 'Haden' e 'Keitt' foram detectadas por Franco et al., (2004), que também identificaram os compostos **α -pineno** (o segundo em quantidade), **α -fencheno**, **α -canfeno**, **β -pineno**, **β -mirceno**, **p-cimeno**, **β -felandreno**, **limoneno**, **α -terpinoleno**, **β -cariofileno** e **α -humuleno** nestas variedades. Como **δ -3-careno** também ocorreu em quantidade nas variedades suscetíveis, supõe-se que não deve haver relação de repelência com este composto. Especificamente com relação aos compostos **α -pineno e β -pineno**, Augustyn et al., (2010) o identificaram como indicadores de suscetibilidade à mosca das galhas em folhas de manga (*Procontarinia* sp.) que apesar de tratar-se de outro gênero, pertence à mesma ordem Diptera. No caso dos frutos de manga, o resultado foi o oposto, ou seja, as variedades resistentes às moscas-das-frutas emitiram maior quantidade de **pineno**.

O composto **α -humuleno** foi identificado como participante da característica do cheiro de manga nas variedades 'Tommy Atkins' e 'Keitt' por MacLeod e Snyder (1985), sendo identificado aqui somente nas variedades suscetíveis. Andrade et al., (2000) encontraram este composto também em polpa das variedades suscetíveis 'Tommy Atkins', 'Haden', 'Keitt' e 'Rosa'.

Lalel et al., (2003) estudando voláteis do aroma em variedade de manga 'Kensington pride' com SPME, detectaram **α -terpinoleno** como o composto mais importante até o 7º dia após a colheita e após essa data, **octanoato de etila** foi o composto principal. Nas variedades 'Palmer' e 'Keitt', **δ -3-careno** foi encontrado como o composto volátil mais importante por Bealieu e Lea (2003). Na polpa de

`Kent', Pino et al., (2005) também encontraram **δ -3-careno** como o composto principal, enquanto para as variedades `Delicioso', `Super Haden', `Ordoñez', `Filipino' e `La paz', **limoneno** foi o principal e já para `Obispo', `Corazon' e `Huevo de toro' **terpinoleno** ocorreu como majoritário. Neste trabalho eles identificaram 372 compostos voláteis em polpa de manga, mas alguns deles, como contaminantes. MacLeod e Snyder (1985) identificaram **δ -3-careno** como principal componente nas variedades suscetíveis `Tommy Atkins' e `Keitt'.

O composto **Zocimeno** é o majoritário em polpa da variedade `Alphonso', ocorrendo variação na quantidade no tempo após a colheita e também em função de três locais geográficos diferentes (KULKARNI et al., 2012). Este composto foi identificado aqui em maior quantidade nas amostras da `Espada vermelha' verde, sendo um dos responsáveis pelo odor característico de manga verde (CANUTO. 2009; LIZADA, 1996).

Interessantemente trabalhos demonstraram atração de moscas-das-frutas por **limoneno**, a saber, Robacker et al., (1990) identificaram **limoneno** como atrativo de *A. ludens*, Rocca et al., (1992) identificaram atração tanto com *A. ludens* como *A. fraterculus* e Lima et al., (2001) que identificaram também em *A. fraterculus*. Os dois últimos trabalhos identificaram **limoneno** sendo emitido pelo macho nestas espécies, enquanto Robacker et al., (1990) verificaram a presença do composto em voláteis de *Sargentia greggi*. Curiosamente *A. ludens* é problema sério em citros no México onde este trabalho foi conduzido, atacando também manga neste país. Hernandez-Sánchez et al., (2001) relatam o **limoneno** como bom atrativo tanto para machos como fêmeas de *C. capitata*. O **limoneno** ocorreu em todas as variedades e estádios de maturação aqui abordados, porém sua proporção foi significativamente maior nas variedades resistentes `Alfa' e `Espada vermelha', diferindo da pequena quantidade encontrada nas suscetíveis `Palmer' e `Kent'. Este composto, também majoritário em látex da variedade `Alfa', sinaliza possível relação da resistência, dada a discrepante quantidade do mesmo e tratar-se de variedade resistente. A literatura demonstra que este composto ocorre em fruto de variedade suscetível às moscas-das-frutas (MALO et al., 2012), mas os resultados aqui obtidos nos leva a hipótese de que a quantidade de **limoneno** emitida pode ter maior influência do que a diferença estritamente qualitativa. Cabe lembrar a frase de Paracelso que diz "a diferença entre o remédio e o veneno é a dosagem". Esta questão foi também

confirmada por trabalhos elencados por Aukema et al., (2010) demonstrando que diferentes proporções dos mesmos compostos ocasionaram alterações comportamentais diferentes, variando desde o aumento na atração, (SHORE; LINDGREN, 1996; DE GROOT et al., 1998) até a repulsão e a disrupção da percepção, conforme Erbilgin e Raffa (2000) e Erbilgin et al., (2003). Faraone et al., (2012) testaram diferentes dosagens de óleo essencial do limão siciliano com a mosca *C. capitata* e comprovaram atividade repelente. Este resultado sinaliza no sentido da importância da configuração absoluta ser também importante nas relações ecológicas, pois outros citros, como a laranja, a tangerina e o pomelo (*grape fruit*) são suscetíveis a esta mosca, lembrando que R(+)-limoneno ocorre principalmente em laranjas enquanto o isômero S(-)-limoneno nos limões. Vasquez-Luna (2011) identificaram papel importante do **limoneno** e do **β -mirceno** na resistência da variedade de manga 'Manila' à *A. obliqua*.

Com relação ao composto **β -mirceno** foi possível notar maior quantidade relativa na 'Palmer' verde do que madura, quantidade esta, similar a presente na resistente 'Espada vermelha' quando madura, sinalizando possível relação de repelência. MacLeod e Troconis (1982) identificaram este composto como responsável pelo cheiro característico de manga verde. Pandit et al., (2009) também encontraram este composto na variedade 'Kent' e neste trabalho enquanto a variedade 'Kent' apresentou concentração de $1,28 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ em 'Dudh peda' o teor foi de $852,5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Esta diferença quantitativa expressiva oferece fonte alternativa deste composto, no caso de futura aplicação do mesmo. Os mesmos autores encontraram de 84 compostos identificados, **α -pineno**, **β -mirceno** e **β -cariofileno** ocorrendo em 27 variedades de manga, onde os terpenos foram os principais responsáveis na formação do perfil de voláteis. Viegas Júnior (2003) relata a atividade inseticida do **β -mirceno** e do **limoneno**, este último também extensamente citado por Ibrahim et al., (2001). Recentemente Aluja et al., (2014) confirmaram que quanto menor o teor de **β -mirceno** liberados por frutos de manga menor seu fator de resistência, indicando possível relação com este composto. Ibrahim et al., (2001) também confirmaram atividade inseticida para este composto, enquanto Malo et al., (2012) detectaram ser o **β -mirceno** o composto majoritário identificado na variedade 'Amate', a menos atraída por *A. obliqua* em detrimento da pequena quantidade

deste composto encontrado nas variedades suscetíveis `Ataulfo´ e `Coche´, onde o majoritário foi o **δ -3-careno**.

A quantidade de **β -E-ocimeno** na variedade `Espada vermelha´ verde foi correspondente a cerca de metade da área total do cromatograma, ainda assim esta área total em condição verde foi muito pequena, podendo-se dizer que praticamente não ocorreu liberação significativa de voláteis neste estágio (Figura 40). Malo et al., (2012), comparando variedades resistentes e suscetíveis citam que provavelmente este composto, assim como **α -pineno**, não são determinantes na atração de *A. obliqua*. Lima et al., (2001) identificaram **limoneno** e **β -trans-ocimeno** como constituintes do feromônio de chamamento de fêmeas pelos machos de *A. fraterculus*. O composto **terpinoleno** ocorreu em maior teor relativo nas condições verdes nas variedades suscetíveis `Palmer´ e `Kent´ e na condição madura para a resistente `Espada vermelha´.

O **α -copaeno**, ocorreu em todas as amostras e condições, exceto `Espada vermelha´ verde, porém o teor relativo foi muito maior nas condições verdes das variedades suscetíveis (`Palmer´ madura 0,54% e verde 13,2% e `Kent´ madura 0,25% e verde 8,1%) e também demonstrando teor relativo significativo na resistente `Espada vermelha´ madura 3,7%. Este resultado é interessante devido a possível atividade inseticida deste composto conforme Autran et al., (2009), Qin et al., (2010) e Setzer et al., (2007). Por outro lado Nishida et al., (2000) sugerem que, apesar do conhecimento do papel do **α -copaeno** ainda não ser totalmente conhecido, pequenas quantidades deste composto, em hospedeiros da mosca-da-fruta *Ceratitis capitata*, pode participar no chamamento para encontros de cópula e também provocar comportamento homossexual, onde fêmeas virgens comportam-se como machos, tentando copular com outras fêmeas. O mesmo artigo comprova que este composto é preferido por machos para escolher locais de cópula, sendo atraídos mesmo em longas distâncias por folhas tratadas com este composto. Robacker et al., (1992) provaram que a presença de **α -copaeno** em *blend* de atração de *A. ludens* aumentou a capacidade de atração. Gonçalves et al., (2013) detectaram o copaeno no feromônio de *A. obliqua*, sendo responsável pelo chamamento para cópula nesta espécie e potencial uso na disrupção sexual.

Ocorreu grande diferença no teor relativo de **α -gurjuneno** nas diferentes condições de maturação das variedades suscetíveis `Palmer´ verde 21,26% e

madura 0,17% e `Kent´ madura 0,83% e verde 33,46%, ocorrendo o mesmo perfil para a área dos picos, figura 38. Este resultado indica possível relação do alto teor deste compostos com a repelência.

O composto **germacreno-D** foi identificado tanto nas variedades suscetíveis como nas resistentes, sendo a maior proporção relativa encontrada na variedade suscetível `Kent´ madura (28,51%). Apesar da maior proporção relativa ser encontrada nesta variedade suscetível, ao analisar a área dos picos deste composto, detectou-se que a maior quantidade foi extraída da variedade resistente `Alfa´ madura, ocorrendo portanto algo semelhante ao identificado com limoneno, ou seja, a questão da repelência provavelmente está mais relacionada com fatores quantitativos do que qualitativos, uma vez que este composto já foi identificado como nocivo às moscas-das-frutas (Figura 38), (MURUGESAN et al., 2012; AUTRAN et al., 2009). Aluja et al., (2014) também identificaram o composto **germacreno-D**, juntamente com **δ-3-Careno** como os mais abundantes em 15 variedades de manga, sendo importante citar que apesar da utilização de SPME as extrações foram realizadas em laboratório e com frutos colhidos.

O **β-selineno** ocorreu em proporção relativa significativa na variedade `Palmer´ verde (15,96%) e menor proporção madura (0,94%), sendo outro importante composto a ser considerado quanto a diferença na resistência em função da maturação. Andrade et al., (2000) também não encontraram quantidade deste composto em polpa de variedades suscetíveis, como `Tommy Atkins´, `Haden´, `Keitt´ e `Rosa´.

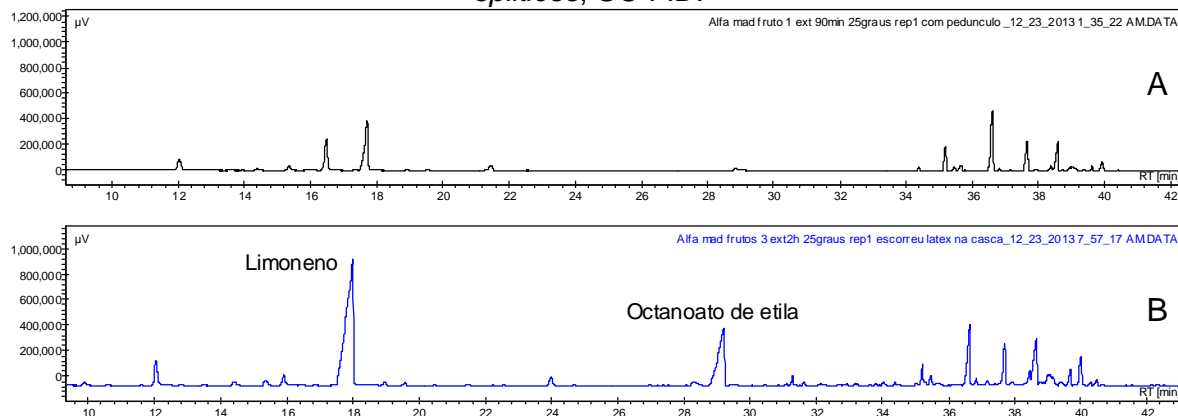
Robacker et al., (2011) realizaram estudo sobre atração de *Anastrepha ludens* por *blend* advindo de aroma de uva e confirmaram o papel preponderante do *blend* de voláteis em detrimento do efeito de compostos isolados. Os mesmos autores sugerem que cadeias de ésteres ramificadas com metilas têm maior efeito na atração em detrimento de cadeias de ésteres lineares, indicando ainda possível existência de receptores específicos para estas moléculas nas antenas da mosca. Neste trabalho verificaram que a ausência de ésteres prejudicou a atração, enquanto a presença de **3-metil butirato de etila** ou de **2-metilbutil propionato** proporcionaram atração positiva e similar. Este resultado também corrobora o proposto por Bruce e Pickett (2011) sobre o papel principal do *blend*, inclusive mantendo o efeito de atração com a deleção de alguns compostos.

Ainda com relação aos ésteres, Cruz-Lopes (2006) verificaram a atração de *A. obliqua* ao *blend* correspondente aos voláteis emitidos por cajá (*Spondias mombin*), onde os principais componentes detectados foram ésteres, dos quais dois principais, o **butirato de etila** e o **hexanoato de etila** correspondendo a 80% em quantidade no *blend*. Este resultado difere dos aqui encontrados em manga onde os principais ésteres foram **octanoato de etila** e **octanoato de metila**. Bartley e Schwede (1987) encontraram o **butanoato de etila** (45%) como principal composto volátil em variedade australiana de manga. A patente US 20080305072 A1 registra 22 *blends* para atração de *A. obliqua*, utilizando diversos ésteres, como **butirato de etila**, **butirato de isopropila**, **butirato de isobutila**, **hexanoato de etila**, **benzoato de etila** e **octanoato de etila**, correspondendo a até 40% das formulações.

Alguns compostos não demonstraram diferenças ou correlações perceptíveis com relação à suscetibilidade ou resistência à moscas sendo, portanto, omitidos na discussão dos resultados (ALUJA et al., 2014). Fica também registrado neste documento que duas bases de dados de acesso livre auxiliaram sobremaneira a busca de informações específicas com relação a compostos semioquímicos de insetos, disponíveis nos sítios eletrônicos www.pherobase.com e www.phero.net.

A extração para análise de voláteis dos frutos foi realizada *in situ*, ou seja, com os frutos ainda na mangueira. Estes frascos foram transportados ao laboratório, onde foram realizadas novas extrações imediata e seqüencialmente. Extrações realizadas no mesmo dia não apresentaram diferenças nas repetições, porém em algumas ocasiões os frutos se soltavam do pedúnculo no transporte para o laboratório, ocorrendo liberação de látex no frasco e na superfície dos frutos. Neste caso, foi possível detectar diferenças nos resultados. A figura 45 abaixo compara cromatogramas de frutos com e sem pedúnculo.

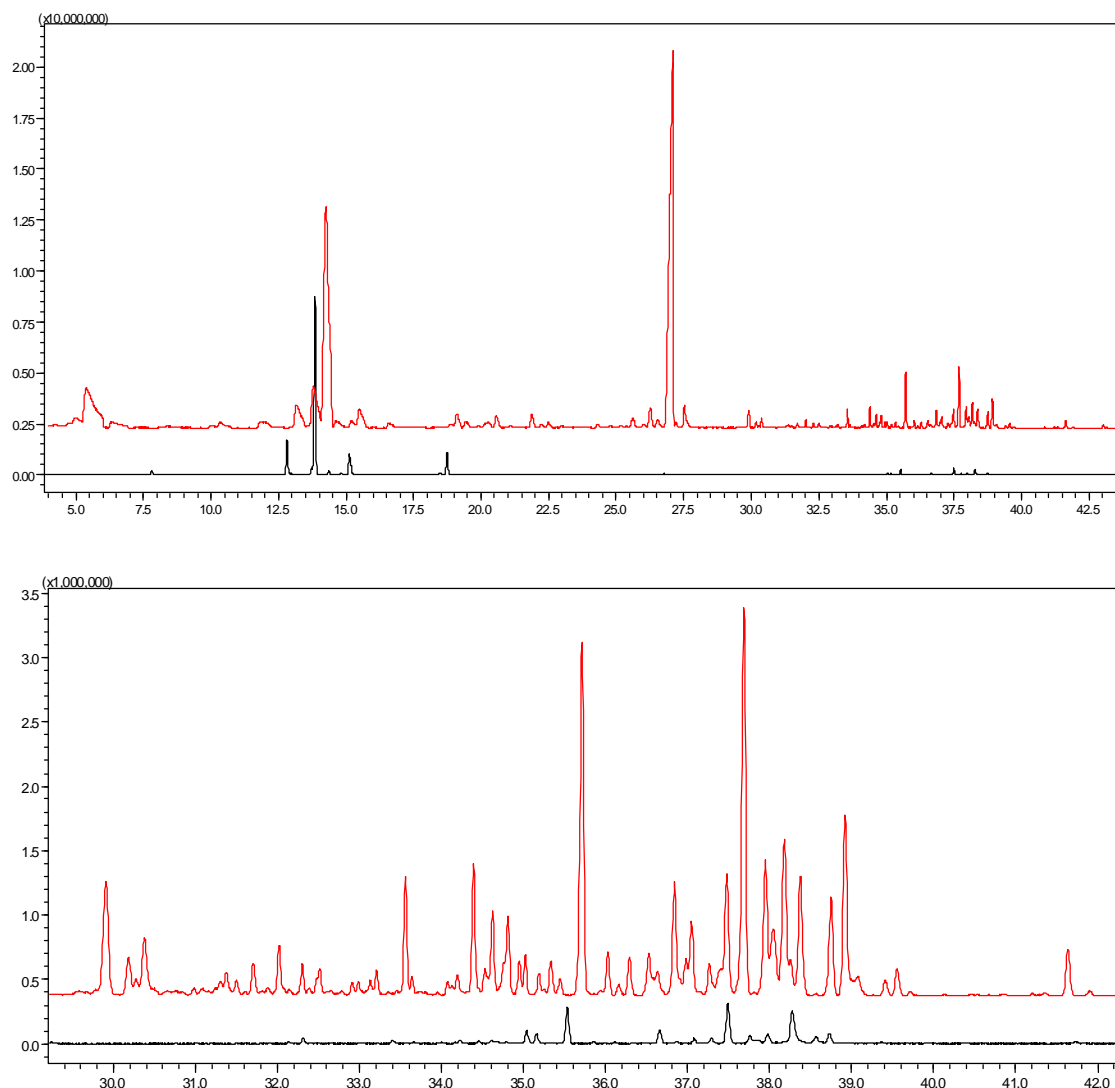
Figura 45. Cromatogramas de voláteis de frutos da variedade `Alfa` madura com pedúnculo (A) e sem pedúnculo (B) SPME - DVB/Car/PDMS 50/30 μ m, extração 3h a ~25°C, injeção *splitless*, GC-FID.



A comparação acima deixa claro o aumento na quantidade de limoneno, composto volátil majoritário no látex da variedade `Alfa`. Esta informação é importante, uma vez que muitos trabalhos efetuam análise de voláteis em laboratório após os frutos serem colhidos. Mesmo trabalhos recentes tem utilizado SPME em laboratório com frutos colhidos, o que pode ocasionar alteração nos resultados se comparados ao que os frutos realmente emitem quando ainda estão nas árvores. Para comparar numericamente, neste trabalho citado registrou-se 14 compostos utilizando SPME, enquanto nas análises *in situ* registrou-se aqui 55 compostos para a mesma variedade `Palmer` (ALUJA et al., 2014).

Finalmente para finalizar a argumentação a favor do uso da extração *in situ*, resultados de voláteis de fruto adquirido em supermercado foram comparados ao de da análise no pomar, para a variedade `Palmer` madura. O número de compostos obtidos de fruto de mercado foi de apenas 16, enquanto nas extrações em campo obtiveram-se 55 compostos, evidenciando a grande importância e maior eficiência na extração *in situ* (Figura 46).

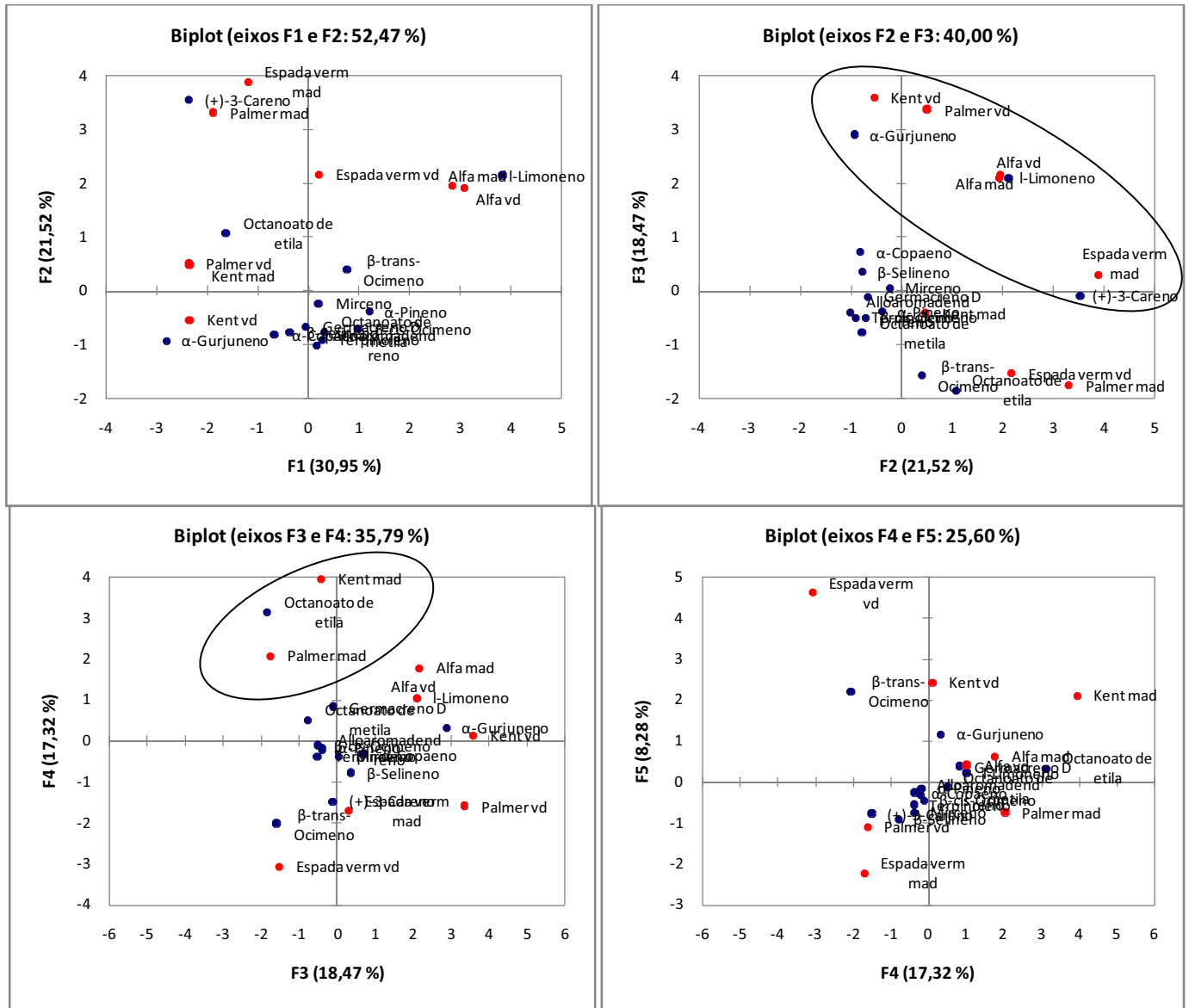
Figura 46. Comparação de cromatogramas de voláteis de fruto da variedade `Palmer´ obtida em mercado (preto, *split* 1:5) e de extração *in situ* no pomar (vermelho, *split* 1:20), GC-MS/TIC.



Com relação à variabilidade e repetibilidade, os dados de área de picos de três frutos da variedade `Alfa´ e também triplicatas do mesmo fruto foram submetidos a análise de variância e comparação das médias pelo teste de Tukey ($p=0,05$). Os resultados demonstraram não haver diferença estatística significativa tanto entre frutos distintos como entre repetições do mesmo fruto.

Os dados de área total de picos de compostos voláteis de frutos foram ainda submetidos à análise de componentes principais-ACP (ou do inglês, PCA) utilizando o software XLStat versão 2013.2.06, com vistas a verificar a existência de agrupamentos baseados nas diferenças dos compostos voláteis, Figura 47.

Figura 47. ACP - Análise de componentes principais (Pearson-n) baseados em compostos voláteis de frutos das variedades suscetíveis `Palmer` e `Kent` e das resistentes `Alfa` e `Espada vermelha`, tanto verdes como maduras. A plotagem dispõe as variedades em vermelho e as cargas dos compostos voláteis em azul.



A análise de componentes principais de frutos demonstra alguns papéis interessantes, por exemplo, na primeira combinação (F1 x F2), a variedade `Espada vermelha` foi separada pelo efeito do composto **δ-3-careno** e a variedade `Palmer` madura aparenta semelhante resultado, porém na combinação F2 x F3 fica clara a separação desta variedade devido ao efeito também do **octanoato de etila**. Tanto em F1 x F2 como F2 x F3, o **limoneno** foi responsável pelo agrupamento da variedade resistente `Alfa` verde e madura, assim como a `Kent` verde foi separada pelo efeito de **α-gurjuneno**. O agrupamento marcado em F2 x F3 é composto por

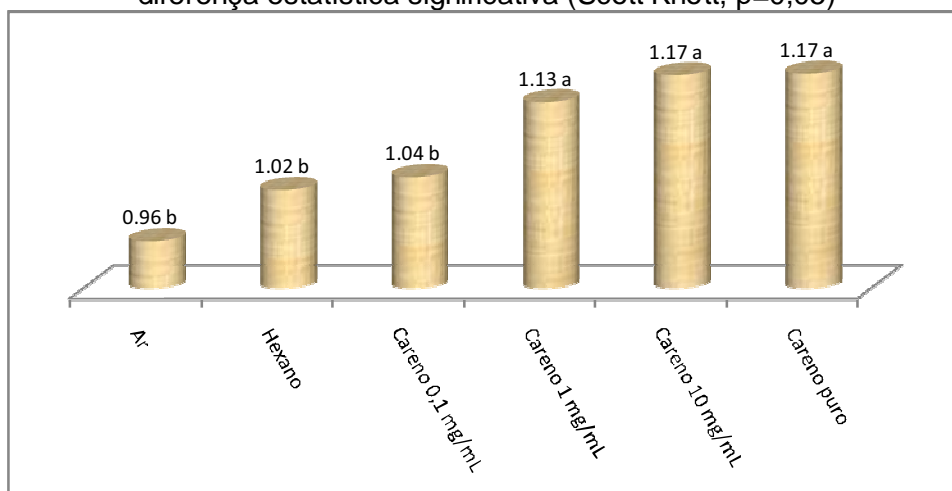
todas as condições não afetadas pelas moscas-das-frutas, ou seja, agrupa tanto as resistentes como as suscetíveis em fase em que não são atacadas e os compostos com peso neste agrupamento foram o **α -gurjuneno**, o **limoneno** e o **δ -3-careno**. Já em F3 x F4 o papel do **octanoato de etila** fica evidente no agrupamento das variedades suscetíveis `Palmer´ e `Kent´ em condição madura, ou seja, na fase em que são atacadas. Finalmente em F3 x F4 e F4 x F5 fica claro o papel do **β -E ocimeno** na separação da `Espada vermelha´ verde.

A variedade resistente `Alfa´, tanto madura como verde, é nitidamente separada das suscetíveis `Palmer´ e `Kent´, ao passo que estas se agrupam mais pelo estágio de maturação do que pela diferença varietal. Cabe citar que as variedades `Palmer´ e `Kent´ são provavelmente mais parecidas geneticamente entre si do que com a `Alfa´, tendo em vista ancestralidade comum, no caso a variedade `Haden´ enquanto Alfa é oriunda do cruzamento das variedades `Mallika´ x `Van Dyke´ (PINTO et al., 2000; SOARES et al., 2010).

3.3 Eletroantografia

A figura 48, dispõe graficamente os resultados eletroantográficos médios de fêmeas de *A. obliqua* com o aumento na concentração de δ -3-careno (0,1, 1 e 10 mg/mL), comparados às respostas apenas de ar e do solvente hexano (grau HPLC) utilizado nas diluições.

Figura 48. Respostas eletroantográficas médias, em mV, para fêmeas de *A. obliqua* expostas a ar, hexano e δ -3-careno (0,1, 1 e 10 mg/mL). Letras iguais significam não haver diferença estatística significativa (Scott Knott, $p=0,05$)



Com o aumento na concentração de careno as respostas eletroantegráficas foram também incrementadas, de forma que a 0,1 mg/mL não diferiu estatisticamente do ar, do hexano e da concentração de 1 mg/mL, que por sua vez diferiu tanto do ar como do solvente, deixando clara a funcionalidade do sistema.

De posse do resultado acima foram avaliados 12 dos compostos majoritários encontrados nos frutos das variedades suscetível 'Palmer' e resistente 'Alfa', assim como os respectivos *blends* formulados a partir dos padrões comerciais nas proporções similares aos dos frutos. A tabela 8 abaixo expressa os resultados eletroantegráficos médios de fêmeas de *A. obliqua*. Como um dos principais compostos emitidos pela variedade resistente 'Alfa' pode apresentar configuração absoluta de molécula distinta, ou seja, ocorrer na forma de isômeros, optou-se por testar um *blend* com (*R*) (+) Limoneno e outro com (*S*) (-) Limoneno, uma vez que a metodologia SPME empregada nas análises de voláteis não permitiram obtenção do composto em quantidade suficiente para análise de configuração absoluta da molécula.

Tabela 8. Respostas eletroantegráficas médias, em mV, para 10 fêmeas de *A. obliqua* expostas a ésteres, terpenos e aos blends correspondentes aos voláteis emitidos pelas variedades 'Palmer' suscetível e 'Alfa'. Letras iguais na coluna significam não haver diferença estatística significativa (Scott Knott, $p=0,05$)

Compostos	Eletroantegráfia (mV)
Blend Palmer	1.81 a
Blend Alfa (<i>R</i>)(+) Limoneno	1.73 a
Blend Alfa (<i>S</i>)(-) Limoneno	1.51 b
Octanoato de etila	1.50 b
β -Cariofileno	1.47 b
β - <i>Z</i> -ocimeno + β - <i>E</i> -ocimeno (1:1)	1.47 b
Beta Pineno	1.45 b
Hexano	1.43 b
δ -3-Careno	1.32 c
(<i>R</i>)(+) Limoneno	1.31c
Terpinoleno	1.30 c
α -Pineno	1.28 c
Hexanoato de butila	1.24 c
(<i>S</i>)(-) Limoneno	1.23 c
Hexanoato de Etila	1.14 c
Ar	1.00 c

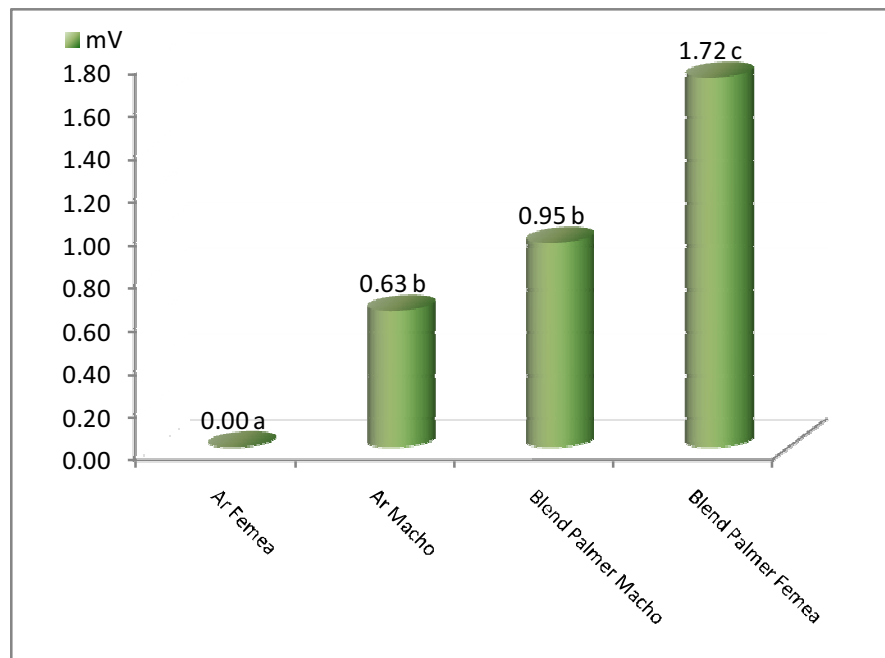
Os resultados demonstram diferença significativa com maior resposta para os *blends*, se comparados aos compostos testados isoladamente. Este resultado corrobora o proposto por Bruce e Pickett (2011), em que a atividade de atração de insetos é melhor explicada pela combinação de compostos do que por voláteis isolados, demonstrando ação de sinergia entre eles. Outro ponto merecedor de nota é o resultado do *blend* correspondente à variedade 'Palmer' apresentar o maior resultado numérico dentre todas as combinações e compostos testados. Conforme citado anteriormente, Cruz-Lopez (2006) testaram a resposta de *A. obliqua* a *blend* correspondente aos voláteis de cajá (*Spondias mombin*) e neste trabalho os dois principais compostos testados, correspondendo a 80% da formulação, foram os ésteres **butirato de etila** e **hexanoato de etila**, com claros sinais eletroantegráficos registrados. Interessantemente neste trabalho é possível notar sinal eletroantegráfico significativo mesmo para um pequeno pico identificado como octanoato de etila. A resposta da antena a este composto, mesmo quando testado isoladamente, inclusive sendo estatisticamente equivalente ao sinal do *blend* da 'Alfa' com S(-)-limoneno, sinaliza possível importante papel deste éster na composição da relação ecológica de atração. Apesar do artigo não especificar a isomeria da molécula, Bruce et al., (2005) confirmam a resposta antegráfica a limoneno pela mosca *C. capitata*, assim como para os compostos **α -pineno** e **mirceno**.

Jang et al., (1989) também estudaram respostas eletrofisiológicas de antenas da mosca-das-frutas *Ceratitidis capitata* (EAG-*Electroantennogram*) a 56 compostos químicos e o resultado na intensidade das respostas foi E-2-hexenoato de etila > E-2-hexenoato de metila > E-3-hexenoato de etila > hexanoato de etila, todos com sinal em aproximadamente 270% quando comparados à resposta do controle branco hexan-1-ol e aproximadamente 120% do sinal de octanoato de etila como controle positivo, este último encontrado como composto majoritário em frutos maduros da variedade suscetível 'Palmer', como disposto nos resultados de voláteis de frutos.

Diversos trabalhos tem demonstrado que o sinal antegráfico de ésteres ramificados é maior do que para os lineares e de mesma forma, proporcionam maior atração de moscas (FEIN et al., 1982; AVERRIL et al., 1988; LUGEMWA et al., 1989; MALO et al., 2005; ROBACKER et al., 2011).

O próximo teste verificou a resposta diferenciada de machos e fêmeas ao *blend* correspondente à variedade 'Palmer' (Figura 49).

Figura 49. Respostas eletroantegráficas médias, em mV, para fêmeas e machos de *A. obliqua* expostas ao *blend* correspondente aos voláteis emitidos pela variedade 'Palmer'. Letras iguais significam não haver diferença estatística significativa (Scott Knott, $p=0,05$)



Os resultados do gráfico acima demonstram percepção sensorial diferenciada entre machos e fêmeas de *A. obliqua* quando em contato com *blend* de compostos voláteis majoritários liberados por frutos da variedade suscetível 'Palmer'. Este resultado é interessante porque se a atração de *A. obliqua* pelos voláteis tivesse papel exclusivamente para alimentação seria esperado provável sinal equivalente para machos e fêmeas, enquanto a diferença de resposta sinaliza melhor a possível atração específica para oviposição nesta variedade, cabendo ressaltar que as respostas dos machos foram equivalentes estatisticamente ao controle, enquanto para fêmeas houve diferença significativa.

3.4 Testes de atração em túnel de vento

Inicialmente foi realizado monitoramento de voláteis em túnel com a liberação do *blend* em papel de filtro. Os resultados da variação de concentração no tempo estão dispostos em cromatograma e em gráfico que expressa o somatório

das áreas dos compostos monitorados, quais sejam, α -Pineno, Mirceno, δ -3-Careno, Limoneno, Terpinoleno, Hexanoato de butila, Octanoato de etila e β -Cariofileno, (Figuras 50 e 51).

Figura 50. Cromatogramas demonstrando variação de concentração em túnel do vento em função do tempo. SPME - DVB/Car/PDMS 50/30 μ m, extração a $\sim 25^{\circ}\text{C}$, injeção *splitless*, GC-FID.

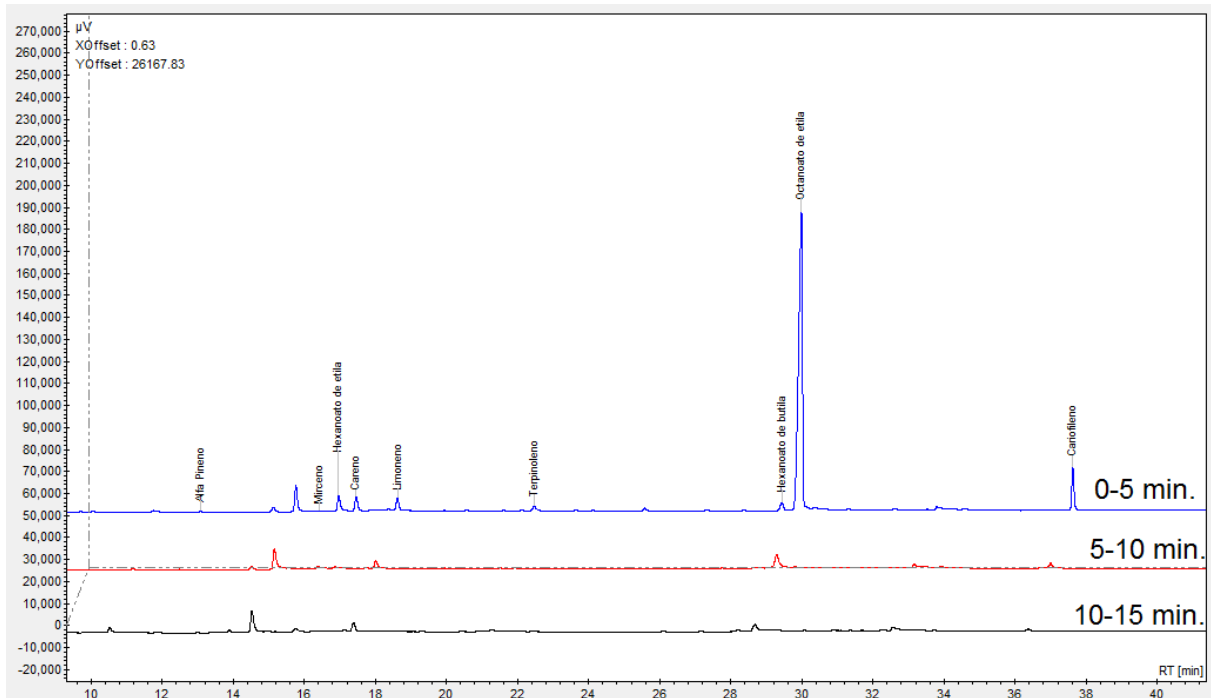
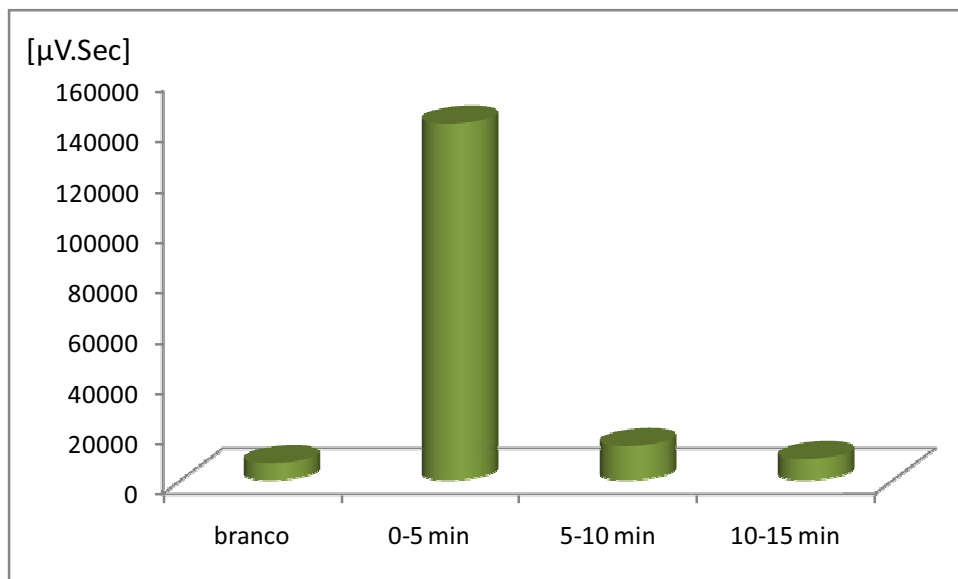


Figura 51. Variação de concentração de compostos voláteis em túnel do vento em função do tempo. Colunas são somatórios de áreas de picos de α -Pineno, Mirceno, δ -3-Careno, Limoneno, Terpinoleno, Hexanoato de butila, Octanoato de etila e β -Cariofileno. SPME - DVB/Car/PDMS 50/30 μ m, extração a $\sim 25^{\circ}\text{C}$, injeção *splitless*, GC-FID.



Os resultados demonstraram ocorrer rápida diminuição na concentração de compostos no ambiente do túnel, reduzindo cerca de 10 vezes em apenas 10 minutos. Como o tempo do experimento emprega cerca de 1h, houve necessidade de adaptação na forma de liberação do *blend*, conforme já disposto na metodologia. A forma de liberação adaptada com uso de frascos de vidro melhorou significativamente a concentração dos compostos ao longo de todo o experimento (Figuras 52 e 53).

Figura 52. Cromatogramas demonstrando a não variação de concentração em túnel de vento em função do tempo, mesmo após cerca de uma hora na duração do experimento. SPME - DVB/Car/PDMS 50/30 μ m, extração a \sim 25 $^{\circ}$ C, injeção *splitless*, GC-FID.

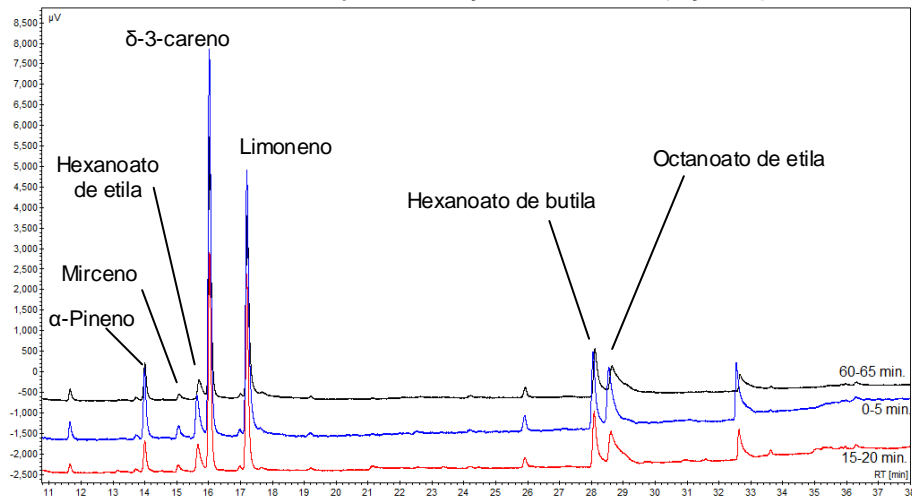
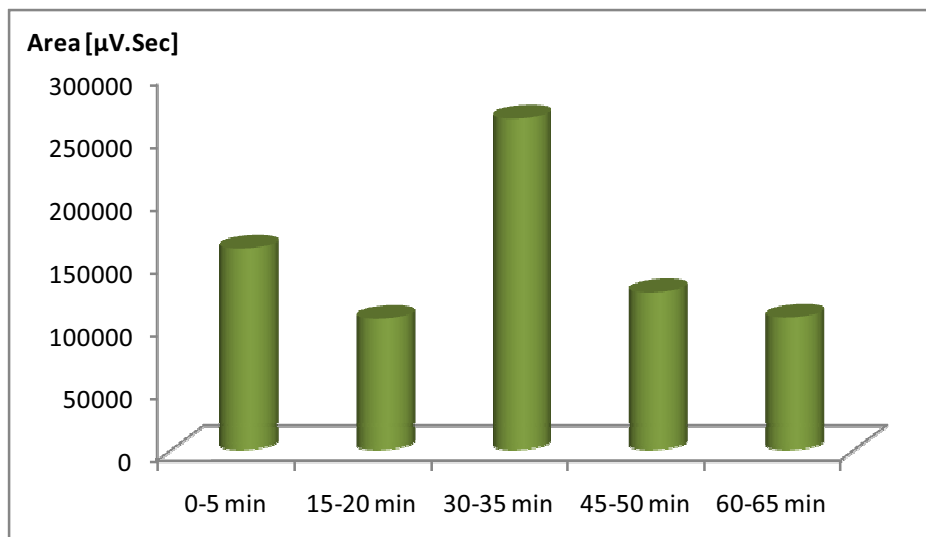


Figura 53. Variação de concentração de compostos voláteis em túnel de vento em função do tempo. Colunas são somatórios de áreas de picos de α -Pineno, Mirceno, δ -3-Careno, Limoneno, Terpinoleno, Hexanoato de butila, Octanoato de etila e β -Cariofileno. SPME - DVB/Car/PDMS 50/30 μ m, extração a \sim 25 $^{\circ}$ C, injeção *splitless*, GC-FID.



Executados os ajustes se efetuaram testes de atração em túnel de vento com os *blends* sintéticos formulados a partir da proporção aproximada emitida pelos frutos da variedade suscetível 'Palmer' e da resistente 'Alfa', lembrando que no caso desta última dois *blends* foram formulados, um deles com R(+)Limoneno e o outros com S(-)Limoneno. A tabela 9 conta com os resultados de variabilidade no tempo de retenção e área de picos dos compostos do *blend* da variedade 'Palmer' analisados em quintuplicata, onde o pequeno desvio padrão traz confiabilidade no monitoramento e análises no túnel de vento. Monitoramento com SPME em túnel de vento dos *blends* da variedade 'Palmer' e 'Alfa' assim como do fruto da primeira variedade, evidenciam correspondência no perfil dos cromatogramas (Figuras 54, 55 e 56).

A tabela 10 contém os resultados de ativação, ou seja, quando as moscas deixam as gaiolas, e de atração, quando as mesmas chegam ao alvo, onde os voláteis são liberados. A figura 57 expõe graficamente apenas os resultados de fêmeas efetivamente atraídas.

Tabela 9. Médias e desvio padrões de monitoramento de 5 repetições em túnel de vento dos tempos de retenção e áreas de compostos do *blend* da variedade 'Palmer'. SPME - DVB/Car/PDMS 50/30 μ m, extração 5 min \sim 25°C, injeção *splitless*, GC-FID.

Composto	Tempo de retenção (min)	Áreas de picos (%)
α -Pinoeno	11.65 \pm 0.01	1.38 \pm 0.22
Mirceno	15.05 \pm 0.03	1.31 \pm 0.24
Hexanoato de etila	15.63 \pm 0.06	5.50 \pm 1.28
δ -3-Careno	16.03 \pm 0.01	34.93 \pm 2.51
R(+)-Limoneno	17.20 \pm 0.01	28.53 \pm 1.63
Terpinoleno	21.09 \pm 0.07	0.37 \pm 0.22
Hexanoato de butila	28.06 \pm 0.05	12.64 \pm 1.06
Octanoato de etila	28.56 \pm 0.08	15.17 \pm 1.88
β -Cariofileno	35.86 \pm 0.04	0.24 \pm 0.11

Figura 54. Cromatograma obtido de extração em túnel de vento com liberação do blend sintético da variedade suscetível `Palmer`. SPME - DVB/Car/PDMS 50/30 μ m, extração por 5 min a ~25°C, injeção *splitless*, GC-FID.

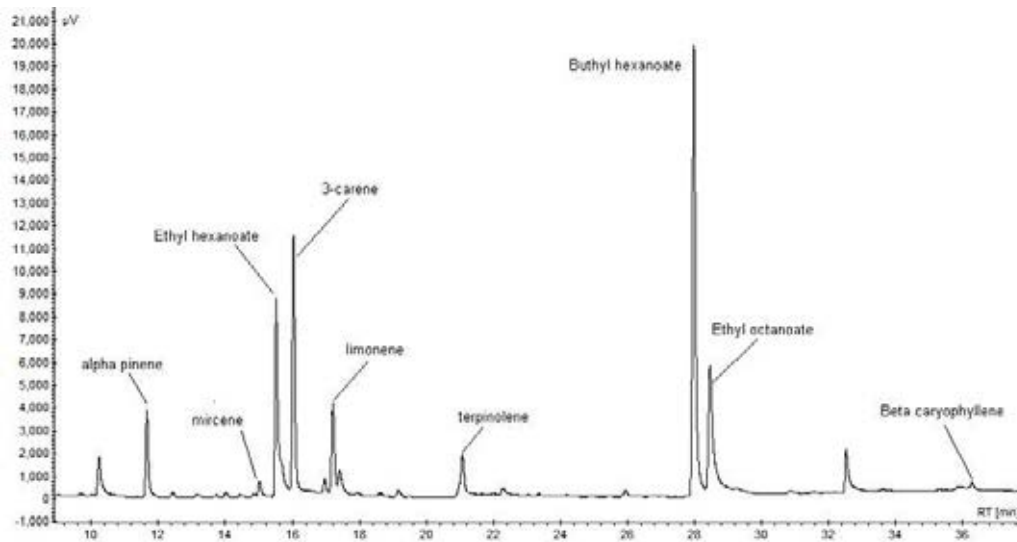
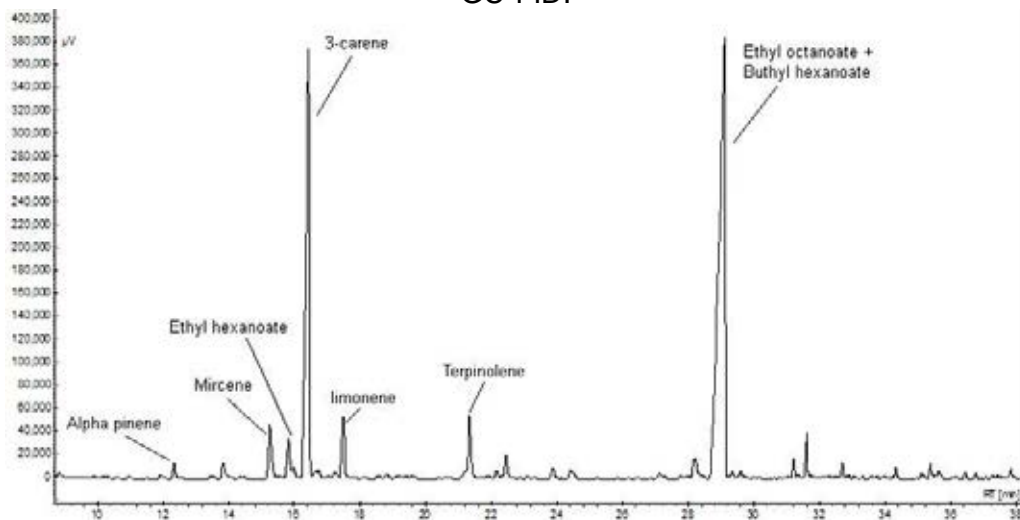


Figura 55. Cromatograma obtido de extração *in situ* de fruto da variedade suscetível `Palmer`. SPME - DVB/Car/PDMS 50/30 μ m, extração por 3 h a ~25°C, injeção *splitless*, GC-FID.



Nos dois cromatogramas acima, apesar da grande diferença de intensidade, devida ao tempo de extração e o sistema fechado no caso *in situ* do fruto, é possível perceber semelhança de perfil, por exemplo, δ -3-Careno e octanoato de etila como majoritários. Importante lembrar que os *blends* foram formulados conforme os resultados médios das repetições.

Figura 56. Cromatograma obtido de extração em túnel de vento com liberação do *blend* sintético da variedade resistente `Alfa´ com S(-)Limoneno. SPME - DVB/Car/PDMS 50/30µm, extração por 5 min a ~25°C, injeção *splitless*, GC-FID.

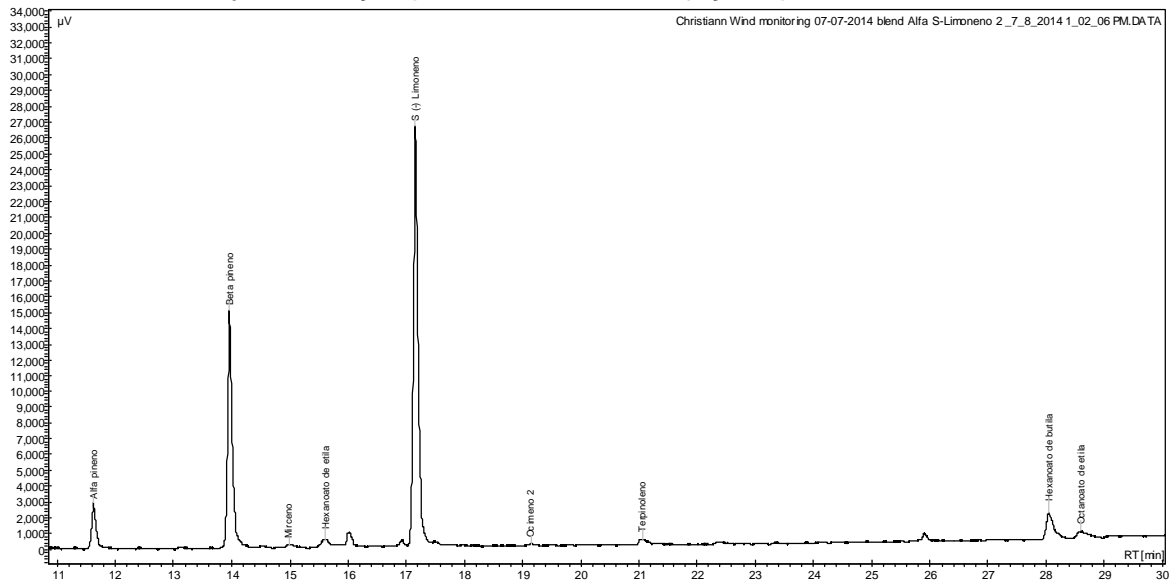
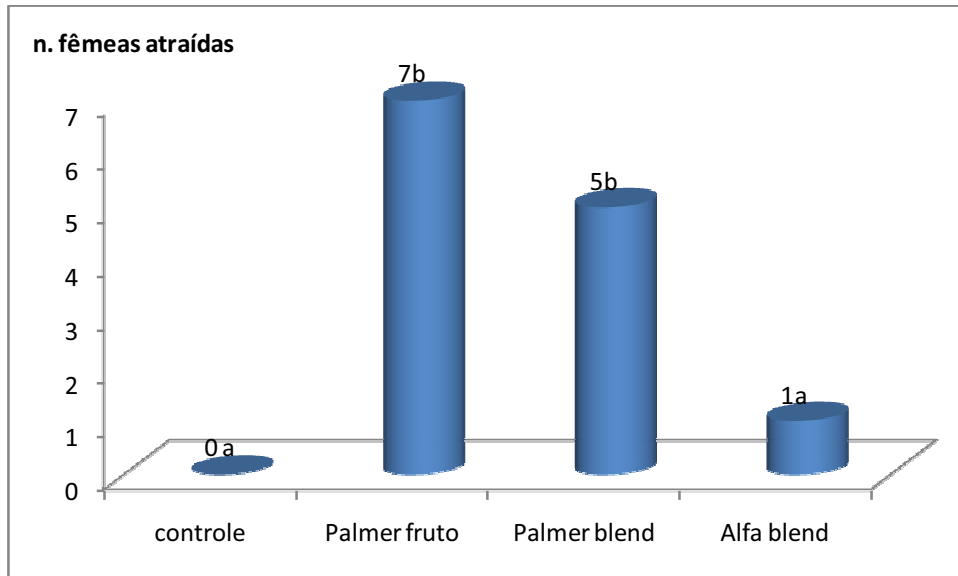


Tabela 10. Número de moscas ativadas e atraídas pelos *blends* sintéticos formulados a partir da proporção aproximada emitida pelos frutos da variedade suscetível `Palmer´ e da resistente `Alfa´ (com (R) (+) Limoneno). Letras iguais nas linhas significam não haver diferença estatística significativa pelo teste qui-quadrado com n=25 para cada sexo.

		Controle	Palmer fruto	Alfa blend	Palmer blend
♀	Ativadas	10 a	16 a	13 a	18 a
	Atraídas	0 a	7 b	1 a	5 b
♂	Ativados	8 a	22 c	17 ab	13 ab
	Atraídos	0 a	6 b	4 a	1 a

Figura 57. Comparação de atração de fêmeas de *A. obliqua* pelos *blends* sintéticos formulados a partir da proporção aproximada emitida pelos frutos da variedade suscetível 'Palmer' e da resistente 'Alfa' com (R) (+) Limoneno. Letras iguais nas barras significam não haver diferença estatística significativa pelo teste qui-quadrado com n=25.



A tabela 11 abaixo contém os resultados de ativação e atração com o *blend* da 'Alfa' com (S)(-)Limoneno.

Tabela 11. Número de moscas ativadas e/ou atraídas pelos *blends* sintéticos formulados a partir da proporção emitida pelos frutos da variedade resistente 'Alfa' com (S)(-)Limoneno. Letras iguais nas linhas significam não haver diferença estatística significativa pelo teste qui-quadrado com n=25 para cada sexo.

		Controle	Alfa blend
♀	Ativadas	16 a	15 a
	Atraídas	3 a	3 a
♂	Ativados	16 a	17 a
	Atraídos	0 a	2 a

Até aqui foi possível descrever uma série de resultados importantes, tais como identificação de compostos voláteis em látex e frutos de diferentes variedades de manga e a confirmação de identificação sensorial de alguns destes compostos pela mosca *A. obliqua*, mas os resultados de atração acima são muito importantes neste trabalho, pois permitem algumas conclusões.

Primeiro ficou comprovada a atração de *A. obliqua* pelo *blend* sintético correspondente a variedade suscetível 'Palmer', inclusive sendo estatisticamente igual a atração do fruto propriamente dito. O contrário foi verificado com a variedade

resistente 'Alfa', tanto com (*R*)(+)Limoneno como com seu isômero (*S*)(-)Limoneno, resultados estatisticamente iguais ao controle. Estes resultados corroboram a possível e provável relação ecológica de atração de *A. obliqua* pelos voláteis da variedade suscetível, assim como a não atração no caso da resistente.

Toledo et al., (2009) avaliaram o uso de um *blend* baseado na proporção de voláteis de cajá também com nove compostos e utilizando armadilhas em pomar de manga e verificaram a menor captura de insetos não-alvo se comparadas à armadilhas que utilizaram proteína hidrolisada como isca, corroborando maior interação ecológica específica entre inseto e hospedeiro com o uso de voláteis específicos.

4 Considerações finais: aplicações

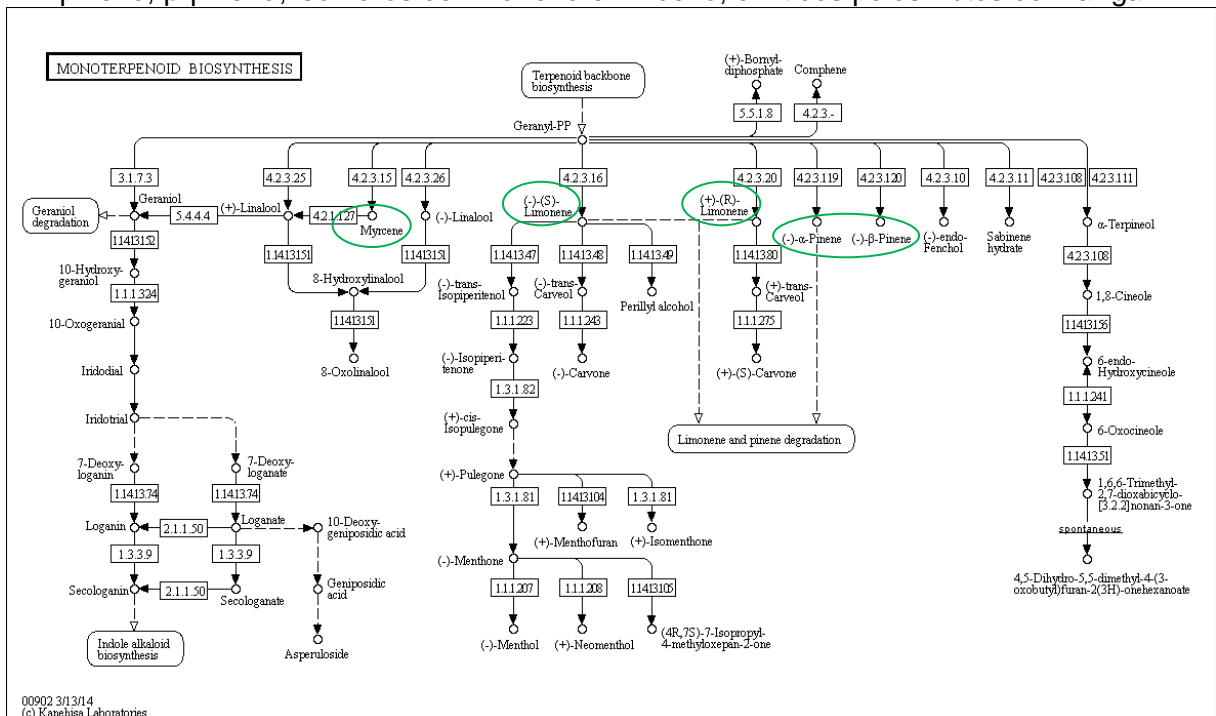
Os resultados obtidos neste trabalho fornecem subsídio para fomento a inovações relacionadas ao manejo e controle de moscas-das-frutas em manga.

Dentre diversas possibilidades, algumas podem ser elencadas, por exemplo, os compostos relacionados à resistência podem ser utilizados em variedades suscetíveis conferindo resistência artificial. Um possível uso seria a aplicação de calda com cera contendo o(s) terpeno(s). Obviamente, estudos de otimização e cuidados com fitotoxicidade devem ser empreendidos (IBRAHIM et al., 2001). Outro exemplo de ajuste e teste aplicável é o uso de microcápsulas para liberação gradual e proteção das plantas/frutos. A origem de terpenos pode ser obtida de fonte natural, pois como se verificou, o próprio látex de mangueiras é fonte abundante e também o composto limoneno, relacionado à resistência, é abundante no Brasil e especialmente no estado de São Paulo, devido a presença de grandes indústrias de sucos cítricos, que inclusive comercializam limoneno em grandes volumes.

Outra aplicação possível é a utilização de intervenções genéticas. Estudo proteômico com manga, isolou 334 espécies de proteínas na casca de frutos e 2.855 na polpa (FASOLI e RIGHETTI, 2013). Interessantemente os autores identificaram a maioria de proteínas novas na casca, provavelmente devido a escassez de trabalhos específicos. Neste trabalho puderam identificar diversas proteínas advindas de único gene e, apesar de nenhuma ser exclusiva para *M. indica*, a maioria das identificadas na casca foram relacionadas, de alguma forma, a sistemas de defesa da planta, como as atividades da transferase e seu transporte. Na polpa as proteínas

identificadas se relacionam especialmente às atividades do núcleo e cloroplastos, como os conectados a funções metabólicas como glicólise, processos metabólicos envolvendo carboidratos e respostas ao estresse oxidativo. Citam ainda a dificuldade encontrada devido a não existência do seqüenciamento genômico de manga. O potencial de aplicação da inovação aqui apresentado obviamente depende de avanços de estudos complementares, especialmente da genômica funcional com o apoio evidente da proteômica. A figura 58 apresenta exemplo de diversas enzimas que atuam na formação de terpenos, incluindo ambos isômeros de limoneno, mirceno e canfeno, aqui tratados. Estas informações podem ser utilizadas na busca dos respectivos genes correspondentes a estas enzimas de interesse.

Figura 58. Atuação de diversas enzimas na síntese de alguns monoterpênicos, incluindo α -pineno, β -pineno, isômeros de limoneno e mirceno, emitidos pelos frutos de manga.



Adaptado de Kanehisa Laboratories em <http://www.kegg.jp>.

Pesquisas tem avançado no potencial de aplicação de voláteis, como Pandit et al., (2010) que identificaram diversos genes, incluindo seus respectivos seqüenciamentos, relacionados às enzimas do processo de amadurecimento em frutos de manga, sendo algumas delas importantes na emissão de voláteis, tais como, sesquiterpeno sintase, isopentenil pirofosfato isomerase, geranyl pirofosfato sintase, monoterpêno sintase, geranylgeranyl pirofosfato sintase, farnesil pirofosfato sintase e sesquiterpeno sintase.

5. Conclusões

As variedades `Palmer` e `Kent`, suscetíveis à *Anastrepha obliqua* possuem menor quantidade de dutos lactíferos na casca dos frutos, ocorrendo o contrário na resistente `Espada vermelha`, que possui maior quantidade e os mesmos localizados mais próximos da superfície da casca;

A utilização *SPME* é útil para análises de compostos voláteis em frutos de manga, inclusive oferecendo maior número de compostos extraídos quando comparada a outras formas de extração disponíveis na literatura;

A análise *in situ* é primordial para representar fielmente o perfil de compostos voláteis efetivamente liberados por frutos no campo, perfil este que se diferencia quando frutos são colhidos ou obtidos em mercados;

Existe diferença no perfil de voláteis de variedades resistentes e suscetíveis à mosca-de-fruta *Anastrepha obliqua*, onde as suscetíveis `Palmer` e `Kent` apresentam ésteres (octanoato de etila e octanoato de metila) como majoritários enquanto as resistentes `Espada vermelha` e `Alfa` apresentam respectivamente os monoterpenos δ -3-careno e limoneno como majoritários;

Testes de eletroantenografia e de atração em túnel de vento demonstraram que *Anastrepha obliqua* é atraída por compostos voláteis da variedade suscetível `Palmer`, resultado não encontrado para os voláteis da resistente `Alfa`;

Os compostos que aparentam participar fortemente no *blend* de atração são os ésteres octanoato de etila e octanoato de metila, enquanto o limoneno aparenta participar na repelência. Outros compostos encontrados em maior quantidade na condição de resistência foram α -pineno, mirceno e humuleno, enquanto na condição de suscetibilidade também o aloaromadendreno .

Os compostos α -copaeno, α -gurjuneno e β -selineno aparentam papel na repelência nos frutos ainda verdes, inclusive possivelmente funcionando como marcadores deste estágio de maturação, uma vez que seus teores caem com a maturação enquanto os ésteres tem seus teores aumentados.

Referências

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Programa de análise de resíduos de agrotóxicos de alimentos**. 2010. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/55b8fb80495486cdaecbff4ed75891ae/Relat%C3%B3rio+PARA+2010+-+Vers%C3%A3o+Final.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 21 ago. 2014.
- ALUJA, M. Bionomics and management of *Anastrepha*. **Annual Review of Entomology**, v. 39, p. 155-178, 1994.
- ALUJA, M.; CELEDONIO-HURTADO, H.; LIEDO, P.; CABRERA, M.; CASTILLO, F.; GUILLEN, J.; RIOS, E. Seasonal population fluctuations and ecological implications for management of *Anastrepha* fruit flies (Diptera: Tephritidae) in commercial mango orchards in southern Mexico. **Journal of Economic Entomology**, v. 89, p. 654-667, 1996.
- ALUJA, M.; PIÑERO, J.; JÁCOME, I.; DÍAZ-FLEISCHER, F.; SIVINSKI, J. Behavior of flies in the genus *Anastrepha* (Trypetinae: Toxotrypanini). In: ALUJA, M.; NORRBOM, A. L. (Ed.) **Fruit flies (Tephritidae): phylogeny and evolution of behavior**. New York: CRC, 2001. p. 376-401.
- ALUJA, M.; ARREDONDO, J.; DÍAZ-FLEISCHER, F.; BIRKE, A.; RULL, J.; NIOGRET, J.; EPSKY, N. Susceptibility of 15 mango (Sapindales: Anacardiaceae) cultivars to the attack by *Anastrepha ludens* and *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae) and the role of underdeveloped fruit as pest reservoirs: management implications. **Journal of Economic Entomology**, v. 107, n. 1, p. 375-388, 2014.
- ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. H. G. S.; ZOGHBI, M. das G. B. Aroma volatile constituents of brazilian varieties of mango fruit. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 13, p. 27-33, 2000.
- ARAUJO, E. L.; ZUCCHI, R. A. Medidas do acúleo na caracterização de cinco espécies de *Anastrepha* do grupo *fraterculus* (Diptera: Tephritidae). **Neotropical Entomology**, v. 35, p. 1-9, 2006.
- ARTHUR, V.; CACERES, C.; WIENDL, F. M. Control of naturally infested peaches (*Prunus persica*) by mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*) through the use of gamma radiation. **Scientia Agricola**, v. 50, n. 3, p. 329-332, 1993.
- ASSIS, J. S. de. Produção integrada de manga no vale de São Francisco. SIMPÓSIO DE MANGA DO VALE DO SÃO FRANCISCO, 1., 2003, Juazeiro. **Palestras...** Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2003. 1 CD-ROM (Embrapa Semi-Árido, Documentos, 189). Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/recursos/OPB240ID-WuVTp1eCnJ.pdf>>. Acesso em: ago. 2008.

AUTRAN, E. S.; NEVES, I. A.; SILVA, C. S. B. da; SANTOS, G. K. N.; CÂMARA, C. A. G. da; NAVARRO, D. M. A. F. Chemical composition, oviposition deterrent and larvicidal activities against *Aedes aegypti* of essential oils from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae). **Bioresource Technology**, v. 100, p. 2284-2288, 2009.

AUGUSTYN, W. A.; BOTHA, B. M.; COMBRINCK, S.; MAREE, J. E.; DU PLOOY, G. W. Effect of secondary metabolites on gall fly infestation of mango leaves. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 25, p. 223-229, 2010.

AUKEMA, B. H.; POWELL, J. S.; CLAYTON, M. K.; RAFFA, K. F. Variation in complex semiochemical signals arising from insects and host plants. **Environmental Entomology**, v. 39, n. 3, p. 874-882, 2010.

AVERILL, A. L.; REISSIG, W. H.; ROELOFS, W. L. Specificity of olfactory responses in the tephritid fruit by *Rhagoletis pomonella*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 47, p. 211-222, 1988.

BALARIN, R. Brasil produz moscas para combater praga. **Jornal Valor On Line**, p. 3, 2006. Caderno caminhos do campo. Disponível em: <http://www.moscamed.org.br/reportagens/valor_on_line_3.pdf>. Acesso em: 28 nov. 2014.

BARRETO, J. C.; TREVISAN, M. T. S.; HULL, W. E.; ERBEN, G.; BRITO, E. S. de; PFUNDSTEIN, B.; WURTELE, G.; SPIEGELHALDER, B.; OWEN, R. W. Characterization and quantitation of polyphenolic compounds in bark, kernel, leaves, and peel of mango (*Mangifera indica* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 5599-5610, 2008.

BARTLEY, J. P.; SCHWEDE, A. Volatile flavor components in the headspace of the australian or "Bowen" mango. **Journal of Food Science**, v. 52, n. 2, p. 353-355, 1987.

BEAULIEU, J. C.; LEA, J. M. Volatile and quality changes in fresh-cut mangos prepared from firm-ripe and soft-ripe fruit, stored in clamshell containers and passive MAP. **Postharvest Biology and Technology**, v. 30, p. 15-28, 2003.

BENDER, R. J.; BRECHT, J. K.; BALDWIN, E. A.; MALUNDO, T. M. M. Aroma volatiles of mature-green and tree-ripe 'Tommy Atkins' mangoes after controlled atmosphere vs. air storage. **Hortscience**, v. 35, n. 4, p. 684-686, 2000.

BRAGA SOBRINHO, R.; GUIMARÃES, J. A.; MESQUITA, A. L. M.; CHAGAS, M. C. M.; FERNANDES, O. A.; FREITAS, J. A. D. **Monitoramento de pragas na produção integrada do meloeiro**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2003. 25 p. Disponível em <www.cnpqat.embrapa.br/download_publicacao.php?id=98>. Acesso em: 27 nov. 2014.

BRUCE, T. J. A.; PICKETT, J. A. Perception of plant volatile blends by herbivorous insects - finding the right mix. **Phytochemistry**, v. 72, p. 1605-1611, 2011.

BRUCE, T. J. A.; WADHAMS, L. J.; WOODCOCK, C. M. Insect host location: a volatile situation. **Trends in Plant Science**, v. 10, n. 6, p. 269-274, 2005.

BURNHAM, P. M. **Limonene**: the industrial degreasing agent found in orange peel. Disponível em: <<http://www.chm.bris.ac.uk/motm/limonene/limonenejm.htm>>. Acesso em: 27 out. 2014.

CANUTO, K. M.; SOUZA NETO, M. A. de; GARRUTI, D. dos S. Composição química volátil, em diferentes estádios de maturação, de manga 'Tommy Atkins' produzida no vale do São Francisco. **Química Nova**, v. 32, n. 9, p. 2377-2381, 2009.

CARREJO, N. S.; GONZÁLEZ, R. Lista preliminar de las moscas de la fruta del género *Anastrepha* (Dip.: Tephritidae) en el departamento Valle del Cauca Cali, Colombia. **Boletín del Museo Entomológico de la Universidad del Valle**, v. 2, p. 85-93, 1994.

CARSON, R. **Silent spring**. Boston: Houghton Mifflin, 1962. 297 p.

CARVALHO, R. S.; NASCIMENTO, A. S.; FERNANDES, Ê. B. Dados biológicos de *Anastrepha obliqua* Macquart (Diptera:Tephritidae) em manga. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 27, n. 3, p. 469-472, 1998.

CHAUHAN, O. P.; RAJU, P. S.; BAWA, A. S. Mango flavor. In: HUI, Y. H. **Handbook of fruit and vegetable flavors**. New Jersey: John Wiley, 2010. 1095 p.

CLAUDINO, J. C.; SACRAMENTO, L. V. S. do; KOCH, I.; SANTOS, H. A.; CAVALHEIRO, A. J.; TININIS, A. G.; SANTOS, A. G. dos. Evaluation of morpho-anatomical and chemical differences between varieties of the medicinal plant *Casearia sylvestris* Swartz. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, n. 4, p. 1253-1265, 2013.

CRUZ-LOPEZ, L.; MALO, E. A.; TOLEDO, J.; VIRGEN, A.; MAZO, A. del; ROJAS, J. C. A new potential attractant for *Anastrepha obliqua* from *Spondias mombin* fruits. **Journal of Chemical Ecology**, v. 32, n. 2, p. 351-365, 2006.

DEFILIPPI, B. G.; MANRÍQUEZ, D.; LUENGWILAI, K.; GONZÁLEZ-AGÜERO, M. Aroma volatiles: biosynthesis and mechanisms of modulation during fruit ripening. **Advances in Botanical Research**, n. 50, p. 1-37, 2009.

DE GROOT, P.; DEBARR, G. L.; BIRGERSSON, G. Field bioassays of synthetic pheromones and host monoterpenes for conophthorus coniperda (Coleoptera, Scolytidae). **Environmental Entomology**, v. 27, p. 382-387, 1998.

DÍAZ-FLEISCHER, F.; PAPA, D. R.; PROKOPY, R. J.; NORRBOM, A. L.; ALUJA, M. Evolution of fruit fly oviposition behavior. In: ALUJA, M.; NORRBOM, A. L. (Ed.). **Fruit flies (Tephritidae): phylogeny and evolution of behavior**. New York: CRC Press, 2000. Chap. 30, p. 811-841.

DU PLOOY, G. W.; VAN DER MERWE, C. F.; KORSTEN, L. Lenticel discolouration in mango (*Mangifera indica* L.) fruit – a cytological study of mesophyll cells from affected tissue. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, v. 81, n. 5, p. 869-873, 2006.

ELECTROANTENNOGRAPHY: a practical introduction. Hilversum: Syntech, 2004. 29 p. Disponível em: <<http://www.syntech.nl/manuals/EAGpract.pdf>>. Acesso em: 28 fev. 2013.

ERBILGIN, N.; RAFFA, K. F. Opposing effects of host monoterpenes on responses by two sympatric species of bark beetles to their aggregation pheromones. **Journal of Chemical Ecology**, v. 26, p. 2527-2548, 2000.

ERBILGIN, N.; POWELL, J. S.; RAFFA, K. F. Effect of varying monoterpene concentrations on the response of *Ips pini* (Coleoptera: Scolytidae) to its aggregation pheromone: implications for pest management and ecology of bark beetles. **Agricultural and Forest Entomology**, v. 5, p. 269-274, 2003.

EVANS, W. C. **Pharmacognosy**. 15th ed. London: WB Saunders, 2002. 585 p.

FARAONE, N.; CRISTOFARO, A. de; MALTESE, M.; VITAGLIANO, S.; CALECA, V. First data on the repellent activity of essential oils of *Citrus limon* towards medfly (*Ceratitis capitata*). **New Medit**, n. 4, p. 31-34, 2012.

FASOLI, E.; RIGHETTI, P. G. The peel and pulp of mango fruit: a proteomic samba. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1834, p. 2539-2545, 2013.

FEIN, B. L.; REISSIG, W. H.; ROELOFS, W. L. Identification of apple volatiles attractive to the apple maggot *Rhagoletis pomonella*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 8, p. 1473-1487, 1982.

FERREIRA, F. R.; POSSIDIO, E. L.; SOARES, N. B.; CASTRO NETO, M. T.; PINTO, A. C. Q.; DONADIOA, L. C.; FREITAS, G. B. Germoplasma de manga no Brasil. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO SOBRE PRODUÇÃO DE MANGA, 1., 1999, Vitória da Conquista. 1999. [Anais...] [S.l.: s. n.], 1999. 1 CD-ROM. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/137955>>. Acesso em: 11 out. 2014.

FINCH, S.; COLLIER, R. H. Host-plant selection by insects - a theory based on 'appropriate/inappropriate landings' by pest insects of cruciferous plants. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 96, p. 91-102, 2000.

FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF UNITED NATIONS. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>>. Acesso em: 15 set. 2013.

FRANCO, M. R. B.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.; LANÇAS, F. M. Compostos voláteis de três cultivares de manga (*Mangifera indica* L.). **Food Science and Technology**, v. 24, n. 2, p. 165-169, 2004.

GEBARA, S. S.; FERREIRA, W. de O.; POPPI, N. R.; SIMIONATTO, E.; CARASEK, E. Volatile compounds of leaves and fruits of *Mangifera indica* var. coquinho (Anacardiaceae) obtained using solid phase microextraction and hydrodistillation **Food Chemistry**, v. 127, p. 689-693, 2011.

GONÇALVES, G. B.; SILVA, C. E.; MENDONÇA, A. de L.; VANÍCKOVÁ, L.; TOMCALA, A.; NASCIMENTO, R. R. do. Pheromone communication in *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae): a comparison of the volatiles and salivary gland extracts of two wild populations. **Florida Entomologist**, v. 96, n. 4, p. 1365-1374, 2013.

HANSSON, B. S. A bug's smell: research into insect olfaction. **Trends in Neurosciences**, v. 25, n. 5, p. 270-274, 2002.

HECKEL, D. G. Insecticide resistance after silent spring. **Science**, v. 337, p. 1612-1614. 2012.

HENNESSEY, M. K.; SCHNELL, R. J. Resistance of immature mango fruits to caribbean fruit fly (Diptera: Tephritidae). **Florida Entomologist**, v. 84, n. 2, p. 318-319, 2001.

HERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, G.; SANZ-BERZOSA, I.; CASAÑA-GINER, V.; PRIMO-YÚFERA, E. Attractiveness for *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Dipt., Tephritidae) of mango (*Mangifera indica*, cv. Tommy Atkins) airborne terpenes. **Journal of Applied Entomology**, v. 125, p. 189-192, 2001.

HERRERA, C. M.; PELLMYR, O. **Plant animal interactions**: an evolutionary approach. Oxford: Wiley-Blackwell, 2002, 328 p.

HICKEL, E. R.; DUCROQUET, J. P. H. J. Flutuação populacional de espécies de *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) relacionada com fenologia de frutificação de pêsego e ameixa em Santa Catarina. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 22, p. 591-596, 1993.

HOW to control the mango fruit fly. (CTA practical guides, n. 14). Disponível em: <http://publications.cta.int/media/publications/downloads/1770_pdf.pdf>. Acesso em: 31 ago. 2013.

IBRAHIM, M. A.; KAINULAINEN, P.; AFLATUNI, A.; TIILIKKALA, K.; HALOPAINEN, J. K. Insecticidal, repellent, antimicrobial activity and phytotoxicity of essential oils: with special reference to limonene and its suitability for control of insect pests. **Agricultural and Food Science in Finland**, v. 10, p. 243-259, 2001.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICAS. **Censo agropecuário 2010**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2010/PAM2010_Publicacao_completa.pdf>. Acesso em: 29 mar. 2013.

IOFI WORKING GROUP ON METHODS OF ANALYSIS. Guidelines for the quantitative gas chromatography of volatile flavouring substances, from the Working Group on Methods of Analysis of the International Organization of the Flavor Industry (IOFI). **Flavour and Fragrance Journal**, v. 26, p. 297-299, 2011.

ISONO, K.; MORITA, H. Molecular and cellular designs of insect taste receptor system. **Frontiers in Cell Neurosciece**, v. 4, p. 1-15. 2010.

JANG, E. B.; LIGHT, D. M.; FLATH, R. A.; NAGATA, J. T.; MON, T. R. Electroantennogram responses of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* to identified volatile constituents from calling males. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 50, p. 7-19, 1989.

JIRÓN, L. F.; HEDSTROM, I. Population fluctuations of economic species of *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) related to mango fruiting phenology in Costa Rica. **Florida Entomologist**, v. 74, p. 98-105, 1991.

JOEL, D. M. Resin ducts in the mango fruit: a defense system. **Journal of Experimental Botany**, v. 31, p. 1707-1718, 1980.

JOHN, K. S.; RAO, L. J. M.; BHAT, S. G.; RAO, U. J. S. P. Characterization of aroma components of sap from different Indian mango varieties. **Phytochemistry**, v. 52, p. 891-894, 1999.

KENDRA, P. E.; MONTGOMERY, W. S.; EPSKY, N. D.; HEATH, R. R. Electroantennogram and behavioral responses of *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae) to putrescine and ammonium bicarbonate lures. **Environmental Entomology**, v. 38, n. 4, p.1259-1266, 2009.

KENDRA, P. E.; MONTGOMERY, W. S.; EPSKY, N. D.; HEATH, R. R. **Antennal and behavioral responses to putrescine and ammonium bicarbonate in the caribbean fruit fly**. Disponível em: <<http://flaentsoc.org/fes-09pk1.pdf>>. Acesso em: 07 nov. 2014.

KOHAYAKAWA, M. N. **Secagem de manga Haden utilizando secador de leito fixo e secador acoplado a bomba de calor**. 2004. 110 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

KORYTKOWSKI, C. Situación actual del género *Anastrepha* Schinner, 1868 (Diptera: Tephritidae) en el Perú. **Revista Peruana de Entomologia**, v. 42, p. 97-158, 2001.

KULKARNI, R. S.; CHIDLEY, H. G.; PUJARI, K. H.; GIRI, A. P.; GUPTA, V. S. Geographic variation in the flavour volatiles of Alphonso mango. **Food Chemistry**, v. 130, p. 58-66, 2012.

LALEL, H. J. D.; SINGH, Z.; TAN, S. C. Aroma volatiles production during fruit ripening of 'Kensington Pride' mango. **Postharvest Biology and Technology**, v. 27, p. 323-336, 2003.

LAOHAPRASIT, N.; AMBADIPUDI, D. S.; SRZEDNICKI, G. Optimisation of extraction conditions of volatile compounds in 'Nam Dok Mai' mangoes. **International Food Research Journal**, v. 18, n. 3, p. 1043-1049, 2011.

LAOHAPRASIT, N.; KUKREJA, R. K.; ARUNRAT, A. Extraction of volatile compounds from 'Nam Dok Mai' and 'Maha Chanok' mangoes. **International Food Research Journal**, v. 19, n. 4, p. 1445-1448, 2012.

LEITE, G. L. D. Resistência de tomates a pragas. **Unimontes Científica**, v. 6, n. 2, p. 129-140, 2004.

LEBRUN, M.; PLOTTO, A.; GOODNER, K.; DUCAMPA, M.; BALDWIN, E. Discrimination of mango fruit maturity by volatiles using the electronic nose and gas chromatography. **Postharvest Biology and Technology**, v. 48, p. 122-131, 2008.

LICHTENTHALER, H. K.; SCHWENDER, J.; DISCH, A.; ROHMER, M. Biosynthesis of isoprenoids in higher plant chloroplasts proceeds via a mevalonate-independent pathway. **FEBS Letters**, v. 400, n. 3, p. 271-274, 1997.

LIMA, I. S.; HOWSE, P. E.; NASCIMENTO, R. R. do. Volatile substances from male *Anastrepha fraterculus* Wied. (Diptera: Tephritidae): identification and behavioural activity. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 12, p. 196-201, 2001.

LITZ, R. E. **The mango**: botany, production and uses. 2nd ed. Cambridge: CABI, 2009. 680 p.

LIZADA, C. Mango. In: SEYMOUR, G.; TAYLOR, J. E.; TUCKER, G. A. (Ed.). **Biochemistry of fruit ripening**. 2nd ed., London: Chapman & Hall, 1996. p. 255-271.

LUCERO, M.; ESTELL, R.; TELLEZ, M.; FREDRICKSON, E. A retention index calculator simplifies identification of plant volatile organic compounds. **Phytochemical Analyses**, v. 20, p. 378-384, 2009.

LUGEMWA, F.; WANDE, L. W.; BENTLEY, M. D.; MENDEL, M. J.; ALFORD, A. R. Volatiles of wild blueberry *Vaccinium angustifolium*: possible attractants for the blueberry maggot fruit by *Rhagoletis mendax*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 37, p. 232-233, 1989.

MACHOTA JUNIOR, R.; BORTOLI, L. C.; TOLOTTI, A.; BOTTON, M. Técnica de criação de *Anastrepha fraterculus* (Wied., 1830) (Diptera: Tephritidae) em laboratório utilizando hospedeiro natural. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento/Embrapa Uva e Vinho**, n. 15, set. 2010. Disponível em: <<http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/boletim/bop015.pdf>>. Acesso em: 28 nov. 2014.

MacLEOD, A. J.; PIERIS, N. M. Comparison of the volatile components of some mango cultivars. **Phytochemistry**, v. 23, n. 2, p. 361-366, 1984.

MacLEOD, A. J.; SNYDER, C. H. Volatile components of two cultivars of mango from Florida. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 33, p. 380-384, 1985.

MacLEOD, A. J.; TROCONIS, N. G. Volatile flavour components of mango fruit. **Phytochemistry**, v. 21, n. 10, p. 2523-2526, 1982.

MAHATTANATAWEE, K.; GOODNER, K. L.; BALDWIN, E. A. Volatile constituents and character impact compounds of selected florida's tropical fruit. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, v. 118, p. 414-418, 2005.

MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. **Mosca-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. 327 p.

MALO, E. A.; CRUZ-LOPEZ, L.; TOLEDO, J.; MAZO, A. del; VIRGEN, A.; ROJAS, J. C. Behavioral and electrophysiological responses of the Mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae) to guava volatiles. **Florida Entomologist**, v. 88, p. 364-371, 2005.

MALO, E. A.; GALLEGOS-TORRES, I.; TOLEDO, J.; VALLE-MORA, J.; ROJAS, J. C. Attraction of the West Indian fruit fly to mango fruit volatiles. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 142, p. 45-52, 2012.

MARQUES, A.; CHICAYBAM, G.; ARAUJO, M. T.; MANHÃES, L. R. T.; SABAA-SRUR, A. U. O. Composição centesimal e de minerais de casca e polpa de manga (*Mangifera indica* L.) cv. Tommy Atkins. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 4, p. 1206-1210, 2010.

MARTIM, N. S. P. P. **Estudos das características da manga (*Mangifera indica* L.) Variedade Tommy Atkins desidratada**. 2006. 76 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de alimentos) – Setor de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006. Disponível em: <<http://dspace.c3sl.ufpr.br/dspace/bitstream/1884/5884/1/MARTIM%2c%20NELISA%20S.P.P.pdf>>. Acesso em: 06 jul. 2008.

MARTINEZ, J. O.; SERNA F. J. Identificación y localización geográfica de especies del género *Anastrepha* Schiner (Diptera: Tephritidae) en Cundinamarca (Colombia). **Agronomía Colombiana**, v. 23, p. 102-111, 2005.

MBARIA, G. The fruit fly turf wars. **Horticultural News**, n. 1, p. 39-40, 2011.

Disponível em:

<http://www.icipe.org/images/stories/pdf/news_and_events/2011/horticultural_news.pdf>. Acesso em: 28 nov. 2014.

MEDEIROS-SANTANA, L.; ZUCOLOTO, F. S. Comparison of the performances of wild *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae) individuals proceeding from different hosts. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 102, n. 5, p. 819-825, 2009.

MURUGESAN, S.; RAJESHKANNAN, C.; BABU, D. S.; SUMATHI, R.; MANIVACHAKAM, P. Identification of insecticidal properties in common weed - *Lantana camara* Linn by gas chromatography and mass spectrum (GC-MS-MS). **Advances in Applied Science Research**, v. 3, n. 5, p. 2754-2759, 2012.

NISHIDA, R.; SHELLY, T. E.; WHITTIER, T. S.; KANESHIRO, K. Y. Alpha-copaene, a potential rendezvous cue for the mediterranean fruit fly *Ceratitidis capitata*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 26, n. 1, p. 87-100, 2000.

NORRBOM, A. L.; KORYTKOWSKI, C. A.; ZUCCHI, R. A.; URAMOTO, K.; VENABLE, G. L.; McCORMICK, J.; DALLWITZ, M. J. **Anastrepha and Toxotrypana**: descriptions, illustrations, and interactive keys. Disponível em: <<http://delta-intkey.com/anatox/l/media/html/anobliqu.htm>>. Acesso em: 16 set. 2014.

OLIVEIRA, J. J. D. de; ROCHA, A. C. P. da; ALMEIDA, E. S.; NOGUEIRA, C. H. F.; ARAUJO, E. L. de. Espécies e flutuação populacional de moscas-das-frutas em um pomar comercial de mangueira no litoral do estado do Ceará. **Caatinga**, v. 22, n. 1, p. 222-228, 2009.

PAIVA, M. R.; PEDROSA-MACEDO, J. H. **Feromonas de insetos**. Curitiba: UFPR, 1985. 84 p.

PANDIT, S. S.; CHIDLEY, H. G.; KULKARNI, R. S.; PUJARI, K. H.; GIRI, A. P.; GUPTA, V. S. Cultivar relationships in mango based on fruit volatile profiles. **Food Chemistry**, v. 114, p. 363-372, 2009.

PANDIT, S. S.; KULKARNI, R. S.; GIRI, A. P.; KÖLLNER, T. G.; DEGENHARDT, J.; GERSHENZON, J.; GUPTA, V. S. Expression profiling of various genes during the fruit development and ripening of mango. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 426-433, 2010.

PAPAJ, D. R.; AVERILL, A. L.; PROKOPY, R. J.; WONG, T. T. Y. Host-marking pheromone and use of previously established oviposition sites by the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). **Journal of Insect Behavior**, v. 5, n. 5, p. 583-598, 1992.

PAWLISZYN, J. **Handbook of solid phase microextraction**. Beijing: Chemical Industry Press, 2009. 406 p.

PETROSKI, R. J.; TELLEZ, M. R.; BEHLE, R. W. **Semiochemicals in pest and weed control**. Washington: American Chemical Society, 2005. 173 p.

PINO, J. A.; MESA, J.; MUNHOZ, Y.; MARTIÄ, M. P.; MARBOT, R. Volatile components from mango (*Mangifera indica* L.) cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 2213-2223, 2005.

PINTO, A. C. Q. Manga 'Alfa'. In: DONADIO, L. C. (Ed.). **Novas variedades brasileiras de frutas**. Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2000. 205 p.

PINTO, A. C. de Q.; PINHEIRO NETO, F.; GUIMARÄES, T. G. Estratégias do melhoramento genético da manga visando atender a dinâmica de mercado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. esp., p. 64-72, 2011.

PINTO, M. C.; BRAY, D. P.; EIRAS, A. E. ; CARVALHEIRA, H. P.; PUERTAS, C. P. Attraction of the cutaneous leishmaniasis vector *Nyssomyia neivai* (Diptera: Psychodidae) to host odour components in a wind tunnel. **Parasites & Vectors**, v. 5, p. 210-218, 2012.

QIN, W.; HUANG, S.; LI, C.; CHEN, S.; PENG, Z. Biological activity of the essential oil from the leaves of *Piper sarmentosum* Roxb. (Piperaceae) and its chemical constituents on *Brontispa longissima* (Gestro) (Coleoptera: Hispididae). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 96, p. 132-139, 2010.

QUIJANO, C. E.; SALAMANCA, G.; PINO, J. A. Aroma volatile constituents of colombian varieties of mango (*Mangifera indica* L.). **Flavour and Fragrance Journal**, v. 22, p. 401-406, 2007.

RAGA, A.; MACHADO, R. A.; DINARDO, W.; STRIKIS, P. C. Eficácia de atrativos alimentares na captura de moscas-das-frutas em pomar de citros. **Bragantia**, v. 65, n. 2, p. 337-345, 2006.

RAMOS, C. S. **Ecologia química de insetos e espécies de Piperaceae**. 2006. 168 f. Tese (Doutorado em Química Orgânica) - Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

RICE, M. J. The sensory physiology of pest fruit flies: conspectus and prospectus. In: ROBINSON, A. S.; HOOPER, G. (Ed.). **Fruit flies their biology, natural enemies and control**. Amsterdam: Elsevier, 1989. v. 3A., chap. 3.9, p. 249-272.

ROBACKER, D. C.; WARFIELD, W. C.; FLATH, R. A. A four-component attractant for the mexican fruit fly, *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae), from host fruit. **Journal of Chemical Ecology**, v. 18, n. 7, p. 1239-1254, 1992.

ROBACKER, D. C.; MORENO, A. M. T.; GARCIA, J. A.; FLATH, R. A. A novel attractant for mexican fruit fly, *Anastrepha ludens* from fermented host fruit. **Journal of Chemical Ecology**, v. 16, n. 10, p. 2799-2815, 1990.

ROBACKER, D. C.; MASSA, M. J.; SACCHETTI, P.; BARTELT, R. J. A novel attractant for *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) from a Concord grape product. **Journal of Economic Entomology**, v. 104, n. 4, p. 1195-1203, 2011.

ROCCA, J. R.; NATION, J. L.; STREKOWSKI, L.; BATTISTE, M. A. Comparison of volatiles emitted by male Caribbean and Mexican fruit flies. **Journal of Chemical Ecology**, v. 18, p. 223-244, 1992.

ROSSETTO, C. J.; RIBEIRO, I. J. A.; GALLO, P. B.; SOARES, N. B., SABINO, J. C.; MARTINS, A. L. M.; BORTOLETTO, N.; PAULO, E. M. Mango breeding for resistance to diseases and pests. **Acta Horticulture**, v. 455, p. 299-304, 1996.

ROSSETTO, C. J.; BORTOLETTO, N.; WALDER, J. M. M.; MASTRÂNGELO, T. de A.; CARVALHO, C. R. L.; CASTRO, J. V. de; PINTO, A. C. de; CORTELAZZO, Q. A. L. Mango resistance to fruit flies II: resistance of the Alfa cultivar. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FRUIT FLIES OF ECONOMIC IMPORTANCE, 7., 2006, Salvador. **Proceedings...** [S.l.: s.n.], 2006. p. 171-174. Disponível em: <http://www.moscamed.org.br/pdf/Cap_18.pdf>. Acesso em: 28 nov. 2014.

ROSSETTO, C. J.; BORTOLETTO, N.; CARVALHO, C. R. L.; CASTRO, J. V. de; WALDER, J. M. M.; NOGUEIRA, N. L.; ARTHUR, V.; LOPES, L. A. Mango resistance to fruit flies I - varietal selection and mechanisms of resistance. **Acta Horticulturae**, v. 820, p. 575-580, 2009.

SÁ, R. F. **Bioecologia de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) e dispersão de machos estéreis de *Ceratitis capitata* W. em pomares comerciais de manga (*Mangifera indica* L.) na região sudoeste da Bahia.** 2006. 129 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Campus de Vitória da Conquista, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, 2006.

SANDOVAL, I. S.; HERNÁNDEZ, A. S.; VALDEZ, G. V.; CRUZ-LÓPEZ, L. Volatiles of mango var. Ataulfo characterized by SPME and capillary GC/MS spectroscopy. **Journal of the Mexican Chemical Society**, v. 51, n. 3, p. 145-147, 2007.

SETZER, W. N.; STOKES, S. L.; PENTON, A. F.; TAKAKU, S.; HABER, W. A.; HANSELL, E.; CAFFREY, C. R.; MCKERROW, J. H. Cruzain inhibitory activity of leaf essential oils of neotropical Lauraceae and essential oil components. **Natural Product Communications**, v. 2, n. 12, p. 1203-1210, 2007.

SHANG, C.; DENG, C.; ZHANG, X.; CHEN, Z.; HU, Y. Headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry analysis of free volatile compounds in mango. **Chromatographia**, v. 55, n. 11/12, p. 737-741, 2002.

SHORE, T. L.; LINDGREN, B. S. Effect of ethanol and alpha-pinene on response of ambrosia beetle, *trypodendron lineatum*, to lineatin-baited funnel and drainpipe traps. **Journal of Chemical Ecology**, v. 22, p. 2187-2196, 1996.

SINGH, Z. Aroma volatiles emissions from mango fruit: a closer look at various pre and postharvest regulatory factors. **Acta Horticulture**, v. 906, p. 267-273, 2011.

SOARES, N. B.; MARTINS, A. L. M.; RIBEIRO, I. J. A.; GALLI, J. A.; VEIGA, R. F. de A.; CARVALHO, C. R. L.; NARITA, N.; ROSSETTO, C. J. **Recursos genéticos de mangueira na Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios.** Campinas: Instituto Agronômico, 2010. 23 p. (Documentos IAC, n. 98). Disponível em: <http://www.iac.sp.gov.br/publicacoes/publicacoes_online/pdf/doc98.pdf>. Acesso em: 27 nov. 2014.

SOUZA FILHO, M. F. de. **Infestação de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae e Lonchaeidae) relacionada à fenologia da goiabeira (*Psidium guajava* L.), nespereira (*Eriobotrya japonica* Lindl.) e do pessegueiro (*Prunus persica* Batsch).** 2006. 125 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

STEINBRECHT, R. A.; LAUE, M.; ZIEGELBERGER, G. Immunolocalization of pheromone-binding protein and general odorant-binding protein in olfactory sensilla of the silk moths *Antheraea* and *Bombyx*. **Cell Tissue Research**, v. 282, p. 203-217, 1995.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: ARTMED, 2004. 719 p.

TOLEDO, J.; MALO, E. A.; CRUZ-LÓPEZ, L.; ROJAS, J. C. Field evaluation of potential fruit-derived lures for *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 102, n. 6, p. 2072-2077, 2009.

TOSTA, C. D.; ROSSETTO, C. J.; CARVALHO, C. R. L.; FREITAS, R. S. de; GARCIA, F.; MOREIRA, R. C. Seleção de variedades de manga para produção de polpa orgânica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 19., 2006, Cabo Frio. **Palestras e Resumos...**, Cabo Frio: SBF/UENF/UFRuralRJ, 2006. v. 1. p. 364.

VAN DAM, N. M.; POPPY, G. M. Why plant volatile analysis needs bioinformatics: detecting signal from noise in increasingly complex profiles. **Plant Biology**, v. 10, p. 29-37, 2008.

VAZQUEZ-LUNA, A.; RIVERA-CABRERA, F.; PEREZ-FLORES, L. J.; DIAZ-SOBAC, R. Effect of rootstock on mango fruit susceptibility to infestation by *Anastrepha obliqua*. **Journal of Economic Entomology**, v. 104, n. 6, p. 1991-1998, 2011.

VIEGAS JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 390-400, 2003.

WEZEL, A.; BELLON, S.; DORÉ, T.; FRANCIS, C.; VALLOD, D.; DAVID, C. Agroecology as a science a movement and a practice: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, p. 1-13, 2009.

ZARBIN, P. H. G.; RODRIGUES, M. A. C. M. Feromônios de insetos: tecnologia e desafios para uma agricultura competitiva no Brasil. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 722-731, 2009.

ZHU, F.; XU, J.; KE, Y.; HUANG, S.; ZENG, F.; LUAN, T.; OUYANG, G. Applications of in vivo and in vitro solid-phase microextraction techniques in plant analysis: a review. **Analytica Chimica Acta**, v. 794, p. 1-14, 2013.

ZUCCHI, R. A. Espécies de *Anastrepha*, sinônimas, plantas hospedeiras e parasitóides. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R.A. (Ed). **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil**: conhecimento básico e aplicado. Ribeirão Preto: Holos, 2000, p. 41-48.

ZUCOLOTO, F. S. Acceptability of different Brazilian fruits to *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae) and fly performance on each species. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 26, p. 291-298, 1993.

Anexos

Figura 59. Comparação entre o branco (1) e os frutos maduros das variedades Palmer (2) e Kent (3) – SPME DVB/Car/PDMS (50/30 µm), extração 3h a 25°C split 1:20, GC-MS.

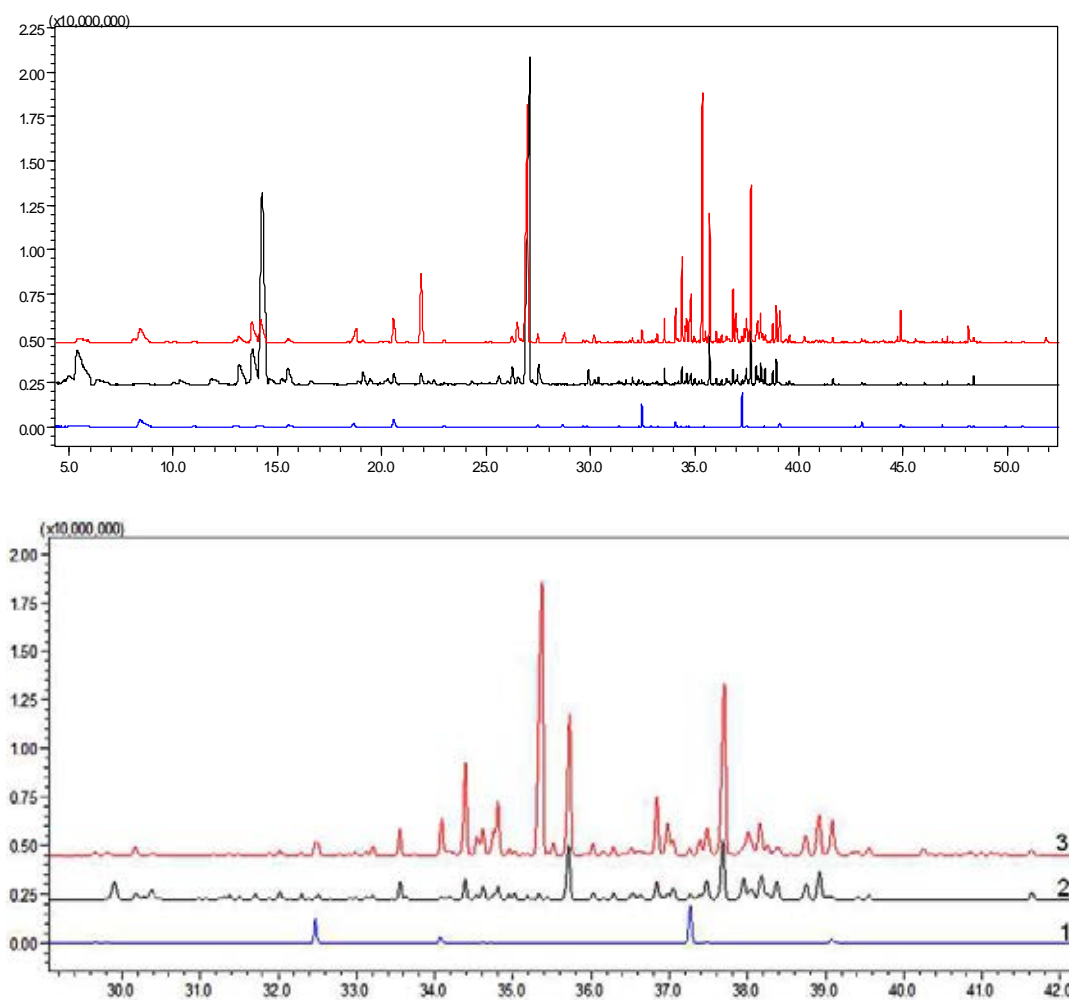


Figura 60. Comparação entre cromatogramas de repetições do mesmo fruto, de frutos diferentes e de variedades diferentes. SPME DVB/Car/PDMS (50/30 μm), extração 3h a 25°C splitless, GC-FID. Siglas: md = madura, vd = verde, f = número de identificação do fruto, rep = repetição.

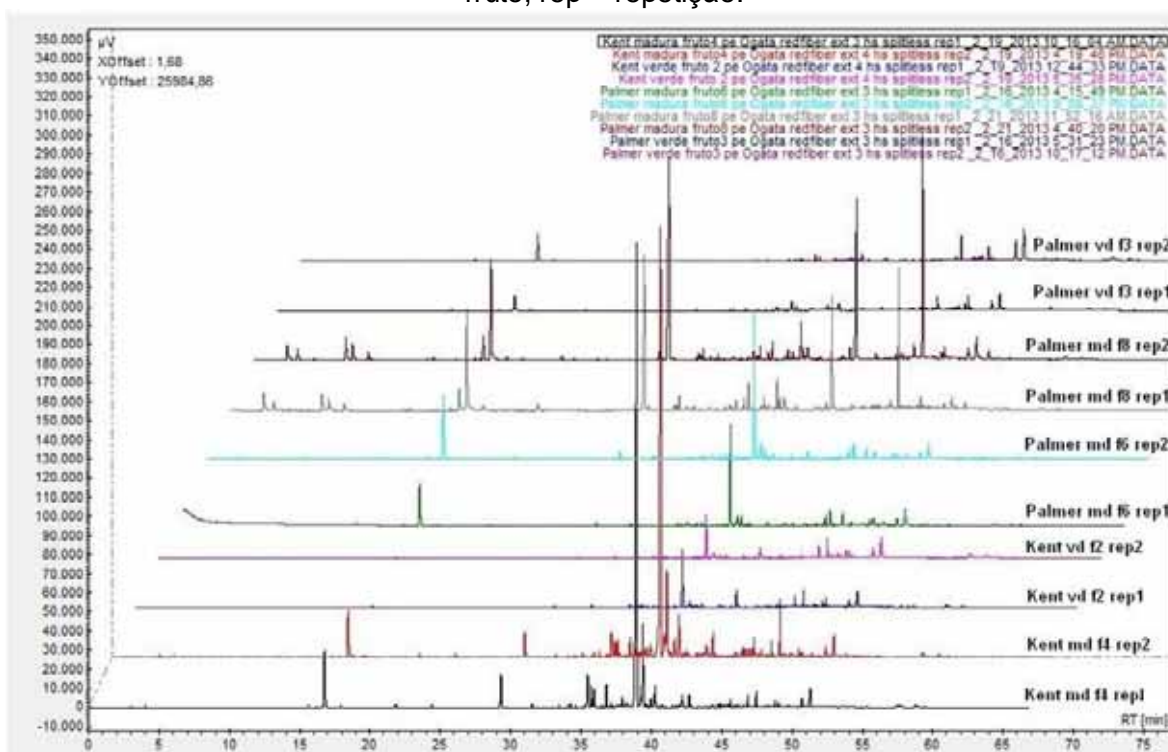


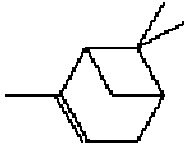


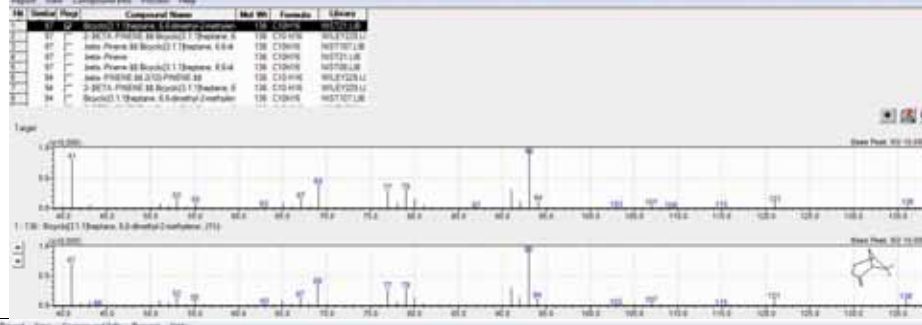

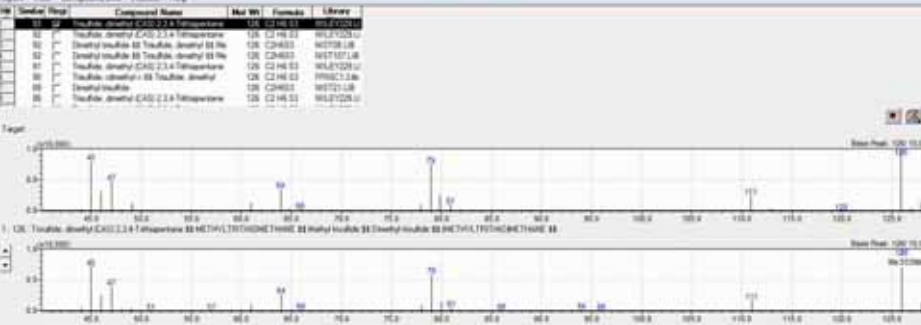


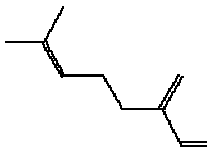
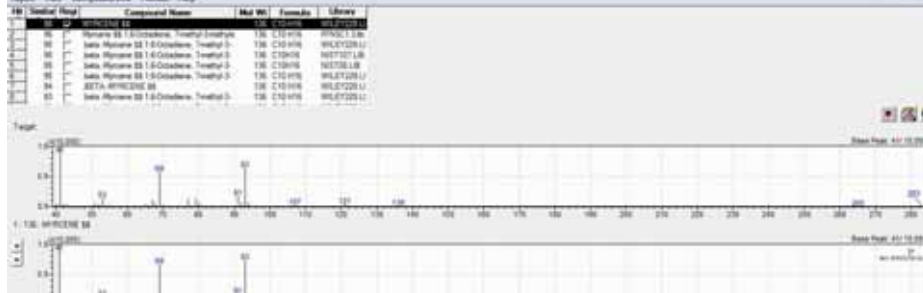
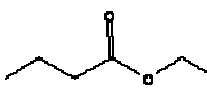

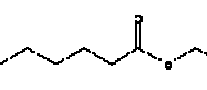

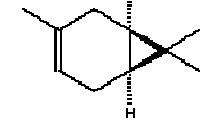

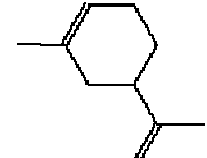

Tabela 12. Áreas de picos de compostos voláteis de frutos (*m/z* - GC-MS/TIC). Asteriscos indicam confirmação com injeção de padrões e traços significam compostos não detectados.

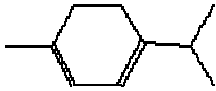

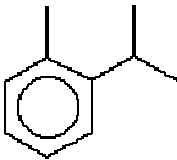

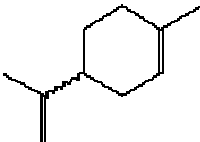

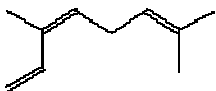



Composto	Palmer mad	Palmer vd	Kent mad	Kent vd	Alfa mad	Alfa vd	Espada verm mad	Espada verm vd
Hexanoato de metila	-	-	-	-	1876446	-	-	-
α-Pineno*	1342475	1873760	-	-	100581711	10426383	4054841	1297718
β-pinene*	-	-	-	-	14456338	2555667	1706532	-
dimetil-Trissulfeto	2701894	-	-	-	-	-	-	-
Mirceno*	16973390	36774956	1251572	9309096	42005301	6082714	37218717	-
Butanoato de etila	691124	-	-	-	-	-	-	-
Hexanoato de etila*	-	-	13674943	-	6738632	-	-	-
delta 2 carene	28720367	-	-	-	-	-	-	-
δ-3-careno	141960988	80817214	15510229	36453868	-	-	291901922	6108581
m-menta-6,8-dieno	-	-	-	-	-	-	39896126	-
α-Terpineno	5435797	1465667	-	-	-	-	8323000	-
o-Cimeno	3532061	-	-	-	-	-	-	-
l-Limoneno*	11855446	18283103	-	6853440	633911080	49204952	46769226	1677135
β-cis-Ocimeno*	-	-	-	-	12110340	10963824	1110177	-
β-trans-Ocimeno*	2209404	2910726	-	-	9720669	3608945	-	13225021
γ-Terpineno*	-	774108	-	-	4137396	-	-	-
Terpinoleno*	6056504	18491426	-	4983785	2576158	-	777778	-
p-Cimeno	2688655	-	-	-	-	-	-	-
Heptanoato de etila	1108664	-	-	-	-	-	-	-
Octanoato de metila	4322615	-	25654478	-	64341275	-	-	-
cis-Óxido de Limoneno	1244909	-	-	-	1266053	-	1151228	-
Tiglato de butila	1778349	-	-	-	-	-	-	-
2-Octenoato de metila	-	-	-	-	2085746	-	1348129	-
1-Nonanol	555312	-	-	889251	-	-	-	-
p-Cimen-8-ol	3305246	1348199	-	608655	-	-	-	-
4-Octenoato de etila	6445205	-	-	-	-	-	-	-
Hexanoato de butila*	3027096	-	6597566	-	922850	-	-	-
cis-3-Octenoato de etila	-	-	917397	-	-	-	-	-
Octanoato de etila*	175535999	-	89924378	-	46195126	673676	-	-
Dodecano	1169102	-	-	-	-	-	-	-
2-Octenoato de etila	1045320	-	1643273	-	399677	-	-	-
γ-Octalactona	1566873	-	-	-	1417606	-	-	-
Acetato de bornila	712962	-	-	587134	-	-	-	-
Octanoato de propila	996307	-	643308	-	-	-	-	-
Tridecano	539010	-	291008	512352	-	-	-	-
δ-Elemene	-	-	1307681	287281	-	-	-	-
Iso caprilato de butila	279662	-	-	730764	-	-	-	-
β-Cubebeno	2278676	-	3310001	6611183	-	-	-	-
(-)-Isoledeno	-	-	-	1477579	-	-	-	-
Ciclosativeno	-	-	-	1472108	-	-	-	-
α-Copaeno	2704902	66722392	13576289	37373642	21729451	357036	430608	-

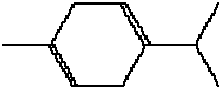

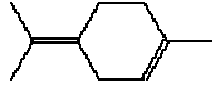

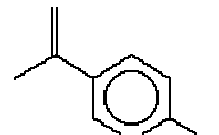
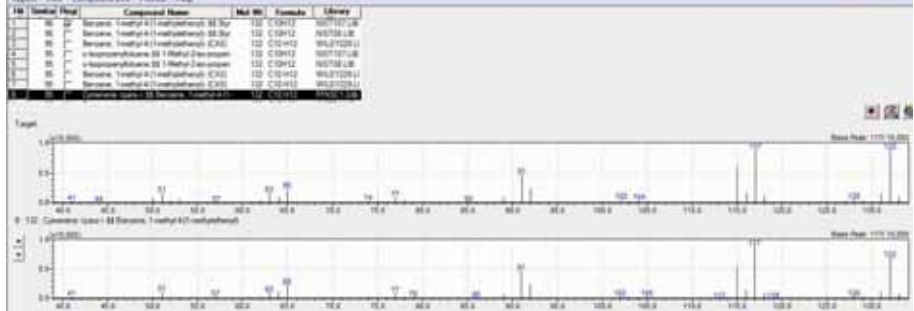

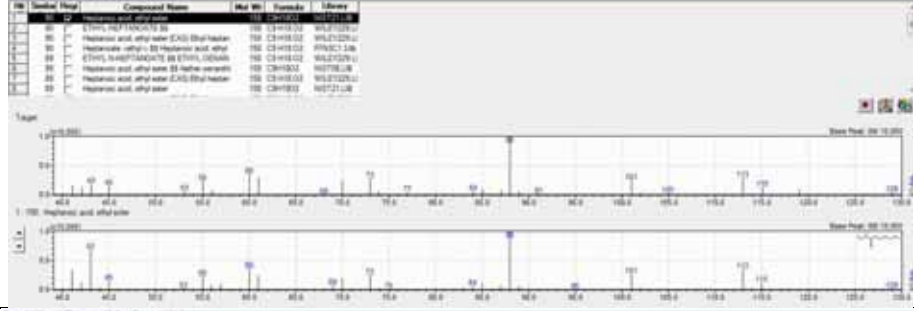
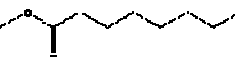
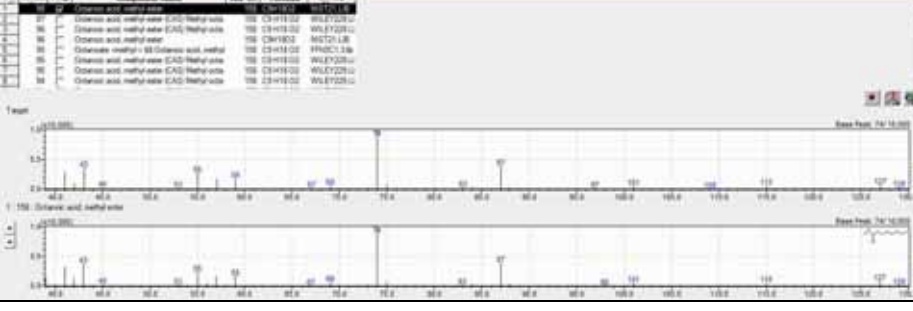
Composto	Palmer mad	Palmer vd	Kent mad	Kent vd	Alfa mad	Alfa vd	Espada verm mad	Espada verm vd
<i>trans</i> -4-Decenoato de etila	614280	-	3109513	-	-	-	-	-
β-Bourboneno	1819322	-	4144456	8041659	849845	-	9506785	-
7-epi-sesquitujeno	-	-	3698954	-	-	-	-	-
β-Elemeno	1675749	-	1053289	18750966	387547	-	2844592	-
Decanoato de etila	751997	-	627823	-	277271	-	387081	-
β-Gurjuneno	-	549290	-	-	1586802	-	4917919	-
α-Gurjuneno	863689	107601147	50877433	154136189	111813	-	186570	-
β-Cariofileno*	8664077	19698893	22857021	14928903	75892261	1211121	-	-
Alfa E bergamoteno	-	-	-	847760	-	-	-	-
Aromadendreno	856495	1637954	1243945	1419248	2068673	-	1129638	-
Cadina-3,5-dieno	1191275	-	1165145	3154263	275522	-	548272	-
α-Humuleno	3054754	8365819	9431714	4294932	-	-	-	-
α-Cariofileno	-	-	-	-	39579255	611937	1186362	-
Alloaromadendreno	-	11343539	5529278	18402491	-	-	-	-
Z-Muurolo-4(14),5-dieno	1682160	-	2053540	2144194	-	-	-	-
γ-Gurjuneno	-	7221527	2642577	12540206	-	-	-	-
γ-Muurolo	3168718	-	4767968	5685671	15878828	-	1551009	-
Germacreno D	10183689	-	32396731	40729174	117097494	-	1317399	-
α-Selineno	3733329	9559269	-	-	-	-	-	-
γ-Amorfeneno	2328180	-	-	-	-	-	-	-
Viridifloreno	-	-	7464633	11009673	-	-	-	-
β-Selineno	4682050	80800996	1294508	-	-	-	-	-
α-Muurolo	758465	-	1648493	2114239	6444855	-	328041	-
δ-amorfeneno	-	1413608	-	784501	-	-	-	-
Biciclogermacreno	-	-	5945639	9285144	527400	-	25025802	-
Z Alfa bisaboleno	-	-	-	4032356	-	-	-	-
γ-Cadineno	2602033	-	3823436	4324993	-	-	-	-
δ-Cadineno	5066741	6637073	7469036	11998264	22936645	-	-	-
Cadine-1,4-diene	370922	9370203	659362	986997	1966563	-	-	-
α-Cadineno	713536	-	-	1257283	650402	-	-	-
Espatuleno	-	-	377198	291508	270734	-	-	-
Óxido de cariofileno	-	-	-	382951	628326	-	-	-
Eter caprilico	-	-	-	240037	-	-	-	-
Dodecanoato de etila	1262811	-	984258	-	-	-	-	-
Epoxido de humuleno II	-	-	-	280634	-	-	-	-
Tetradecanoato de etila	421271	-	640054	-	-	-	-	-
Ácido hexadecanóico	-	-	313062	389329	-	-	-	-

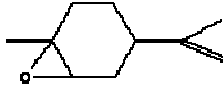

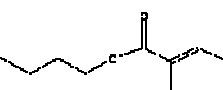

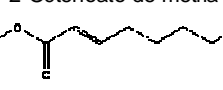

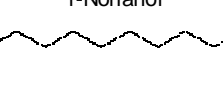

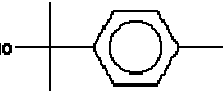

Tabela 13. Estruturas dos compostos voláteis identificados em frutos de manga e comparação dos respectivos espectros de massas com as bibliotecas utilizadas. Espectros superiores são das amostras e os inferiores das bibliotecas. Coluna da direita indica a similaridade, em porcentagem.

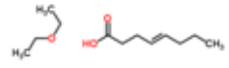
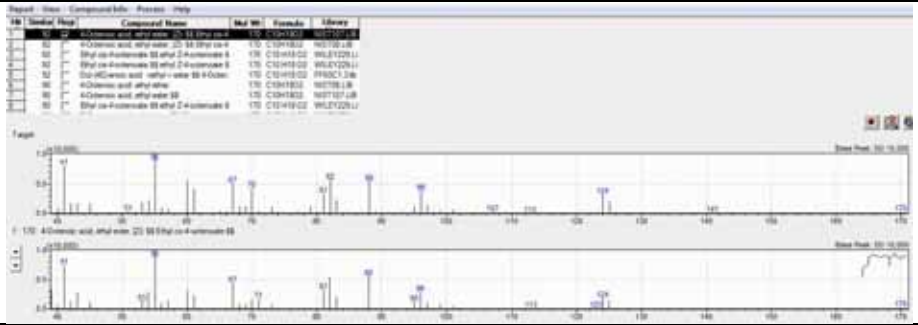

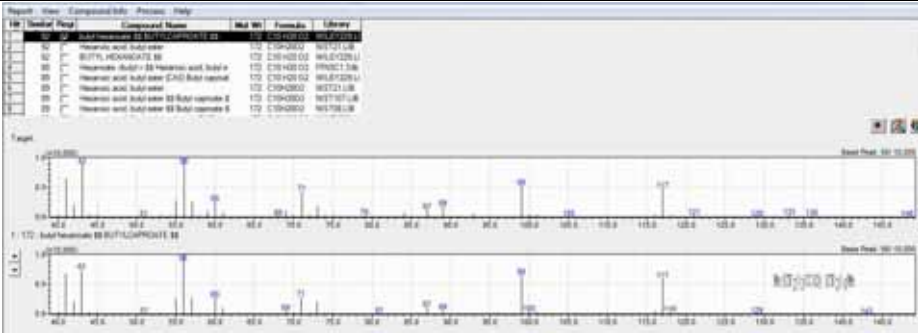
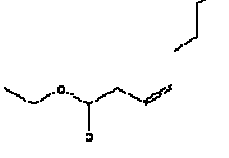


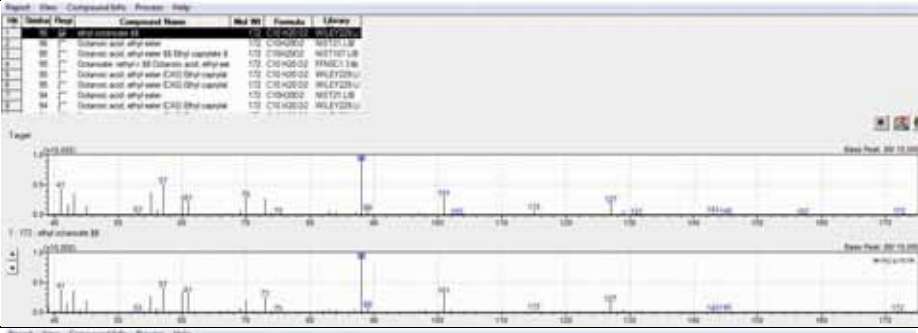

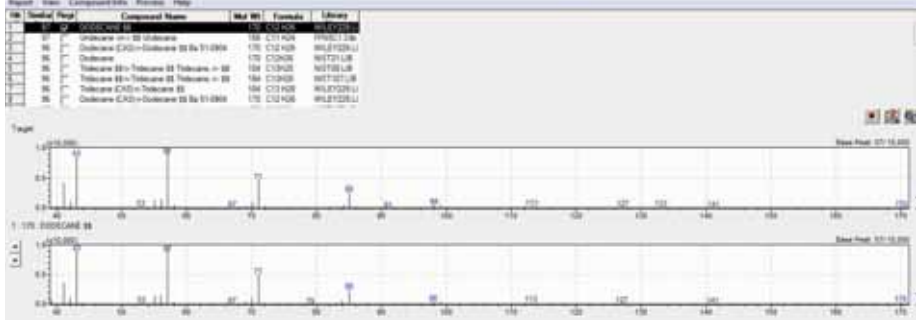
Composto	Espectros de massas	Sim. %
<p>Hexanoato de metila</p> 		92
<p>α-Pirino*</p> 		94
<p>β-pinene*</p> 		97
<p>dimetil-Trissulfeto</p> 		93



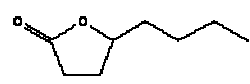

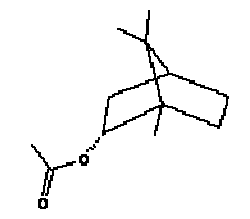


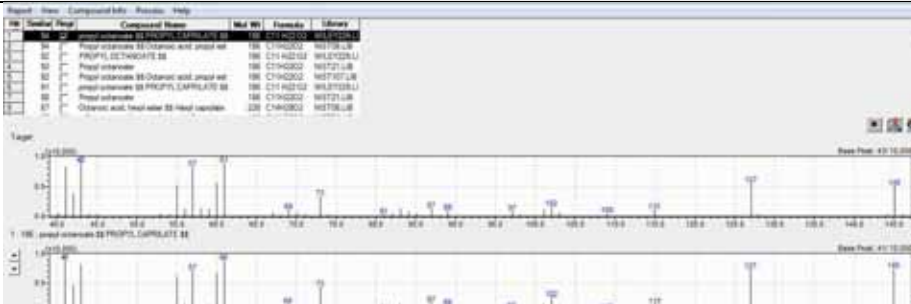
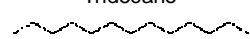

Composto	Espectros de massas	Sim. %
<p>Mirceno*</p> 		98
<p>Butanoato de etila</p> 		90
<p>Hexanoato de etila*</p> 		98
<p>δ-3-careno</p> 		95
<p>m-menta-6,8-dieno</p> 		93

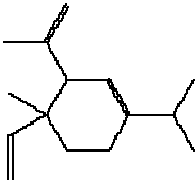


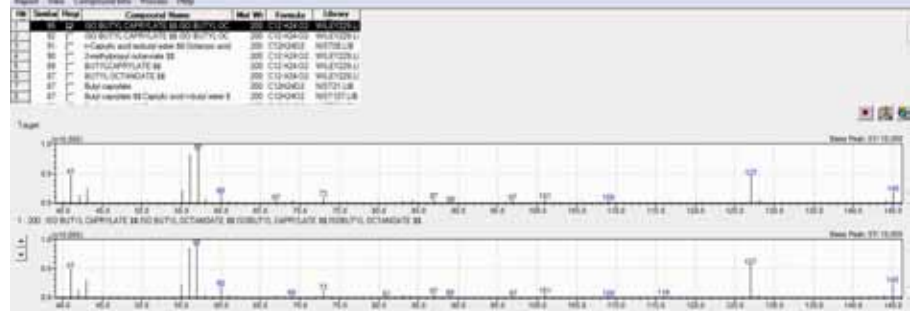
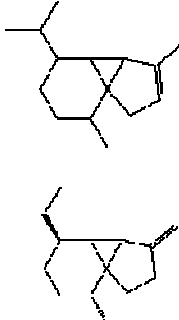

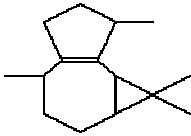

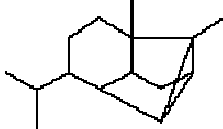

Composto	Espectros de massas	Sim. %
<p>α-Terpineno</p> 		91
<p>α-Cimeno</p> 		90
<p>Limoneno*</p> 		97
<p>β-cis-Ocimeno*</p> 		94
<p>β-trans-Ocimeno*</p> 		95

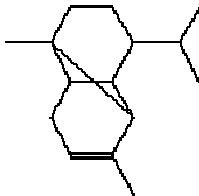


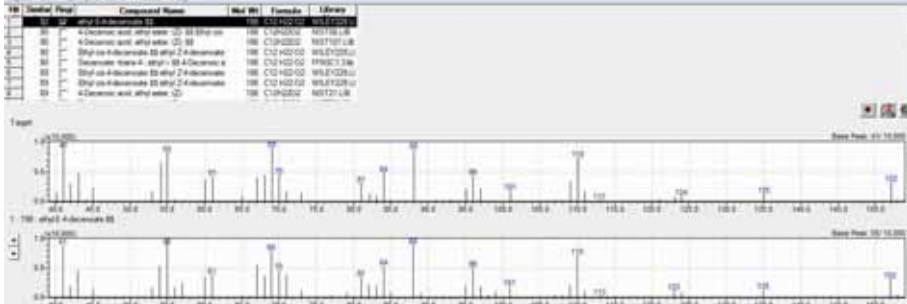
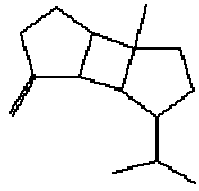

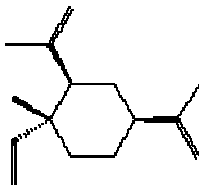



Composto	Espectros de massas	Sim. %
<p>γ-Terpeneno*</p> 		93
<p>Terpinoleno*</p> 		96
<p>p-Cimeno</p> 		95
<p>Heptanoato de etila</p> 		90
<p>Octanoato de metila</p> 		98

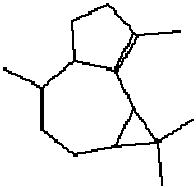

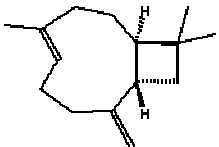
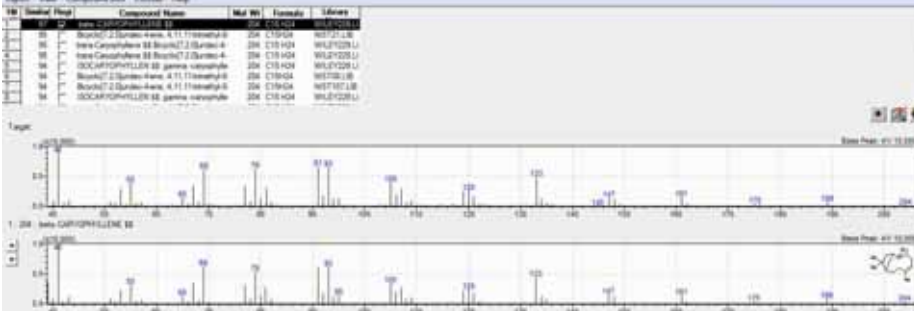

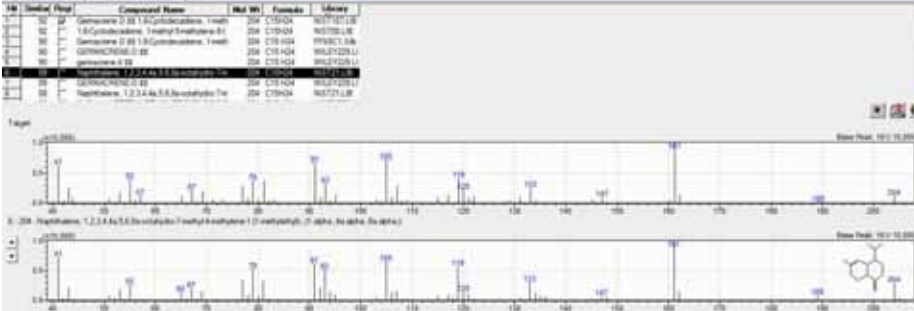
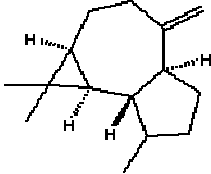
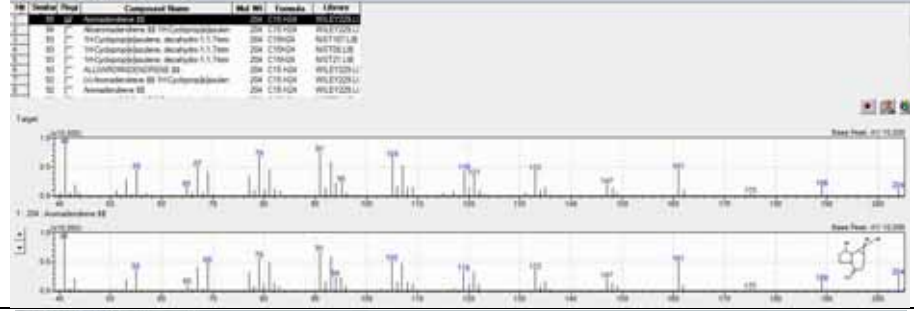
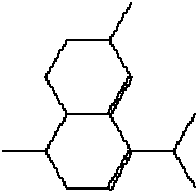
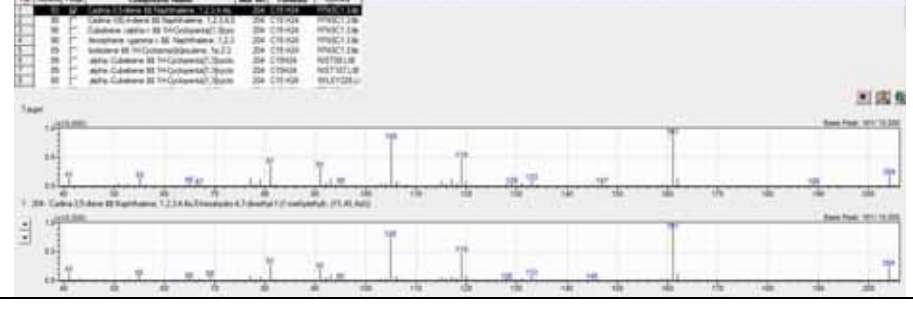
Composto	Espectros de massas	Sim. %
<p>cis-Óxido de Limoneno</p> 		91
<p>Tiglate de butila</p> 		92
<p>2-Octenoato de metila</p> 		95
<p>1-Nonanol</p> 		93
<p>p-Cimen-8-ol</p> 		96

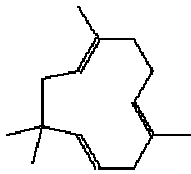

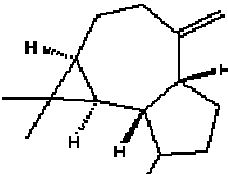
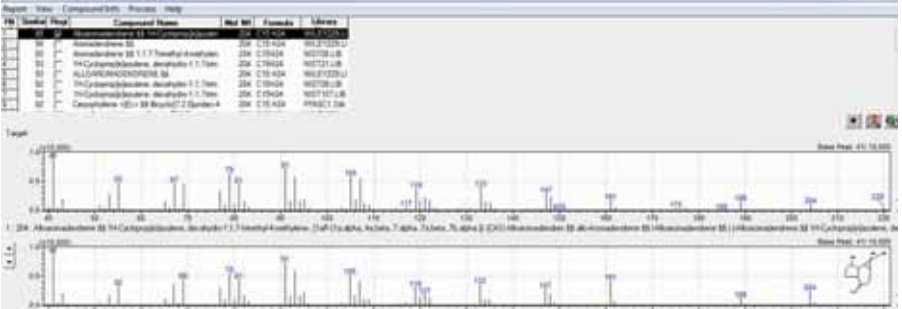
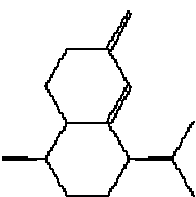

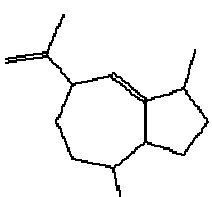
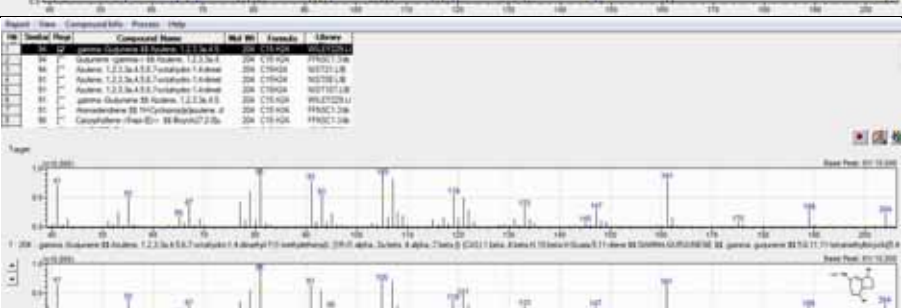
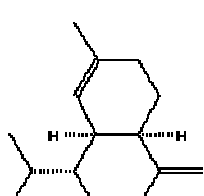
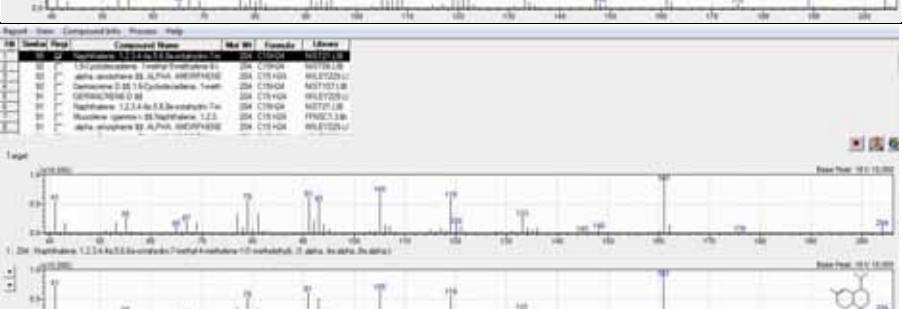
Composto	Espectros de massas	Sim. %
<p>4-Octenoato de etila</p> 		92
<p>Hexanoato de butila*</p> 		92
<p>cis-3-Octenoato de etila</p> 		90
<p>Octenoato de etila*</p> 		96
<p>Dodecano</p> 		97

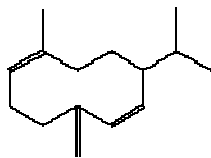

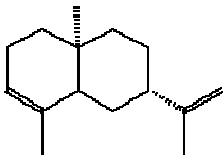

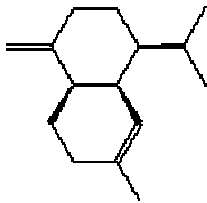

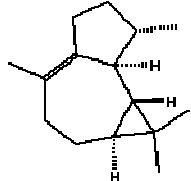

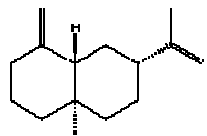

Composto	Espectros de massas	Sim. %
<p>2-Octenoato de etila</p> 		95
<p>γ-Octalactona</p> 		97
<p>Acetato de bornila</p> 		93
<p>Octanoato de propila</p> 		94
<p>Tridecano</p> 		96

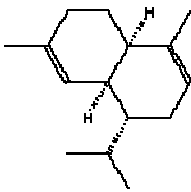

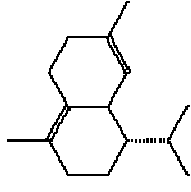
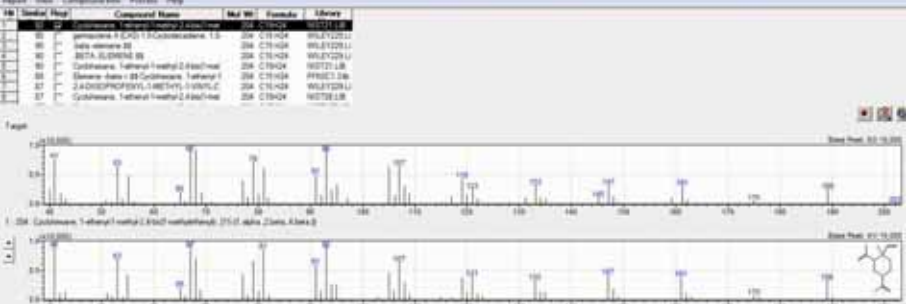
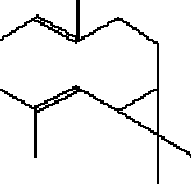

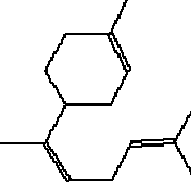

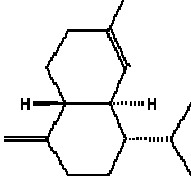
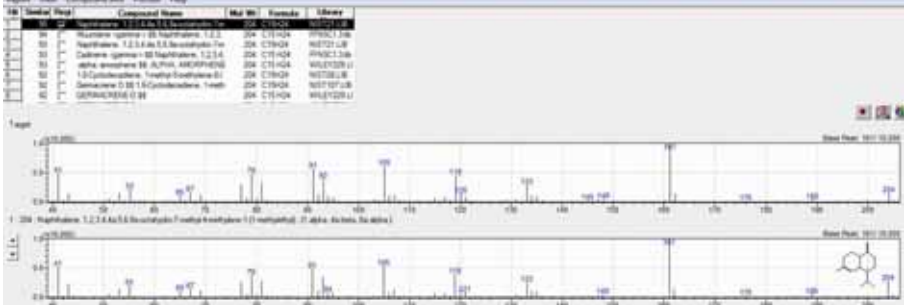
Composto	Espectros de massas	Sim. %
<p>δ-Elemeno</p> 		92
<p>Iso caprilato de butila</p> 		95
<p>α e β-Cubebeno</p> 		91
<p>(-)-Isoledeno</p> 		90
<p>Ciclosativeno</p> 		78

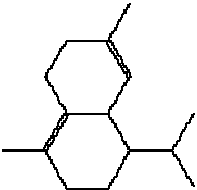

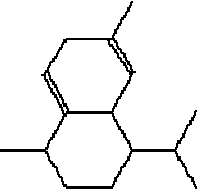
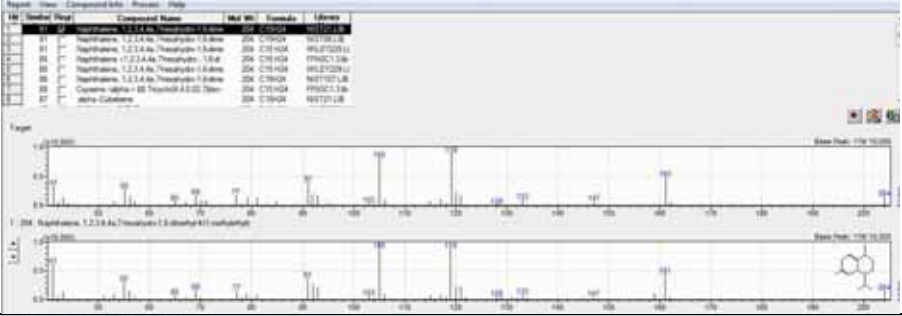
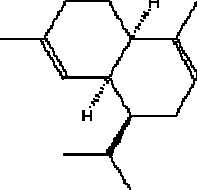
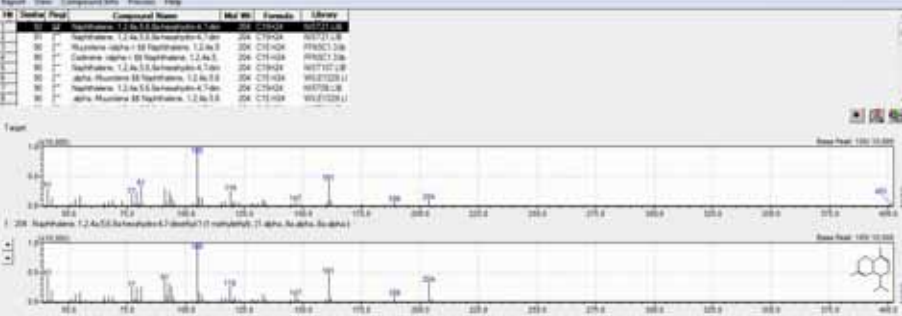
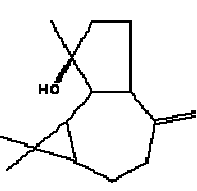

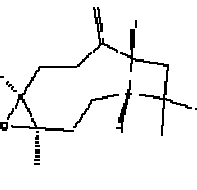

Composto	Espectros de massas	Sim. %
<p>α-Copaeno</p> 		96
<p><i>trans</i>-4-Decenoato de etila</p> 		92
<p>β-Bourboneno</p> 		91
<p>β-Elemeno</p> 		90
<p>Decanoato de etila</p> 		96

Composto	Espectros de massas	Sim. %
<p>α-Gurjuneno</p> 		93
<p>β-Cariofileno*</p> 		97
<p>α E bergamoteno</p> 		89
<p>Aromadendreno</p> 		95
<p>Cadina-3,5-dieno</p> 		95

Composto	Espectros de massas	Sim. %
<p>α-Humuleno</p> 		96
<p>Alloaromadendreno</p> 		95
<p>Z-Muurolo-4(14),5-dieno</p> 		93
<p>γ-Gurjuneno</p> 		94
<p>γ-Muuroloeno</p> 		95

Composto	Espectros de massas	Sim. %
<p data-bbox="308 322 448 344">Germacreno D</p> 		96
<p data-bbox="328 645 427 667">α-Selineno</p> 		93
<p data-bbox="323 945 432 967">γ-Amorfeno</p> 		88
<p data-bbox="320 1281 435 1303">Viridifloreno</p> 		92
<p data-bbox="328 1617 427 1639">β-Selineno</p> 		92

Composto	Espectros de massas	Sim. %
<p>α-Muuroleño</p> 		90
<p>δ-amorfo</p> 		92
<p>Biciclogermacreno</p> 		95
<p>Z Alfa bisaboleno</p> 		78
<p>γ-Cadineno</p> 		95

Composto	Espectros de massas	Sim. %
<p>δ-Cadineno</p> 		95
<p>Cadine-1,4-diene</p> 		91
<p>α-Cadineno</p> 		92
<p>Espatuleno</p> 		93
<p>Óxido de cariofileno</p> 		85

