

ALINE FRANCIELE FREITAS ALVES

**INFOQUÍMICOS PRODUZIDOS POR FRUTOS DE *Acrocomia*
aculeata (ARECACEAE) INFESTADOS POR FUNGOS
DECOMPOSITORES**

**Montes Claros
Março/2015**

ALINE FRANCIELE FREITAS ALVES

**INFOQUÍMICOS PRODUZIDOS POR FRUTOS DE *Acrocomia aculeata* (ARECACEAE)
INFESTADOS POR FUNGOS DECOMPOSITORES**

Dissertação para defesa a ser apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Montes Claros, como requisito necessário para a conclusão do curso de Mestrado em Ciências Biológicas.

Orientador:

Prof. Dr. Maurício Lopes de Faria

Co-orientadora:

Profa. Dra. Francine Souza Alves da Fonseca

**Montes Claros - MG
Março/2015**

ALINE FRANCIELE FREITAS ALVES

**INFOQUÍMICOS PRODUZIDOS POR FRUTOS DE *Acrocomia aculeata* (ARECACEAE)
INFESTADOS POR FUNGOS DECOMPOSITORES .**

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Maurício Lopes de Faria

Presidente / Orientador

Unimontes

Prof. Dr. Flaviano Oliveira Silvério

Membro Externo

UFMG

Prof. Dr. Ronaldo Reis Júnior

Membro Titular

Unimontes

Montes Claros, 25 de Março de 2015.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelos seus projetos em minha vida, e por me conceder forças e sabedoria para realizá-los. Aos meus pais Vilma e Juarez por terem me compreendido e apoiado em mais esta etapa. Aos meus irmãos Farley e Alex, por estarem sempre comigo em todos momentos. Obrigada pelo companheirismo. Ao meu noivo Wesley, pela paciência nos momentos mais difíceis.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas pela oportunidade de realização do mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

Ao meu orientador Maurício Lopes de Faria, pela confiança e pelos conhecimentos transmitidos no decorrer destes 2 anos. Muito obrigada.

À minha co-orientadora Dra. Francine Souza Alves da Fonseca minha eterna gratidão pelos ensinamentos. Agradeço pela ajuda constante e generosidade de sua orientação.

Ao Laboratório de Química Instrumental (ICA-UFMG) onde foi realizada as análises de cromatografia gasosa acoplada ao espectrometria de massas. A Ane Patrícia Cacique por ter recebido e preparado minhas amostras para os métodos cromatográficos. Obrigada pela ajuda indispensável.

A todos os colegas do Laboratório de Ecologia e Controle biológicas da UNIMONTES, pela amizade, conversas, cafés, conselhos em fim por tudo. A equipe MAC pelo auxílio em todas as fases deste trabalho.

RESUMO

A palmeira *Acrocomia aculeata*, popularmente conhecida como Macaúba, apresenta um grande potencial econômico para a produção do biodiesel. A predação dos frutos das palmeiras vem sendo muitas vezes relacionadas à insetos da subfamília Bruchinae (Coleoptera: Chrysomelidae). Frutos atacados por fungos decompositores não são reconhecidos pelo predador de sementes. Este trabalho teve como objetivo avaliar o perfil dos compostos voláteis liberados por frutos de macaúba intactos e colonizados pelo fungo *Fusarium* sp. e o seu efeito no comportamento de oviposição de fêmeas do Bruchinae *P. cardo*. O fungo decompositor *Fusarium* sp. foi cultivado sobre o fruto da macaúba para extração e identificação dos infoquímicos. Os voláteis foram extraídos por *Headspace* estático e analisados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Além dos voláteis, os demais componentes dos frutos foram identificados através da análise do extrato total dos frutos de *A. aculeata*. Os extratos contendo os voláteis dos frutos foram usados em bioensaios em olfatômetro em “Y” para avaliar a resposta de fêmeas acasaladas de *P. cardo*. As fêmeas de *P. cardo* responderam ao extrato do fruto intacto e também ao extrato do fruto infestado. Quando foram submetidas ao extrato do fruto intacto em contraste ao extrato do fruto infestado, estas não demonstraram nenhuma preferência. Houve uma diferença no perfil de voláteis entre os dois extratos. No entanto nos bioensaios essa diferença não foi percebida pelas fêmeas de *P. cardo*. Possivelmente a concentração do extrato utilizado não foi adequada para permitir que o inseto fizesse a diferenciação entre os dois extratos. Com isso mais estudos serão necessários para que se possa confirmar se a proteção que o fungo promove ao fruto evitando a oviposição dos bruquíneos é mediada por voláteis. A descobertas de quais pistas estariam envolvidas nesta interação precisa ser melhor compreendida devido a importância desta na sobrevivência do propágulo vegetal além de preservar a integridade do fruto permitindo um melhor aproveitamento do mesmo.

Palavras-chaves: Macaúba, Chrysomelidae, Compostos voláteis, *Fusarium* sp.

ABSTRACT

The palm *Acrocomia aculeata*, popularly known as Macaúba, features a large economic potential for the production of biodiesel. Palm fruits predation has been often related to insects of Bruchinae subfamily (Coleoptera: Chrysomelidae). Fruits are attacked by decomposing fungi these are not to be recognized by the seed predator. This study aimed to evaluate the profile of volatile compounds released by intact fruits of macaúba and colonized by the fungus *Fusarium* sp. and their effect on the oviposition behavior of Bruchinae *P. cardo* females. The decomposer fungus *Fusarium* sp. was grown on the fruit of macaúba for extraction and infochemicals identification. The volatiles were extracted by static headspace and analyzed by gas chromatography coupled to a mass spectrometry. In addition to volatile, the other components of fruits were identified through analysis of the total extract of the fruits of *A. aculeata*. The extracts containing the volatile fruit were used in bioassays in olfactometer "Y" for evaluating the response of mated females of *P. cardo*. The *P. cardo* females responded to the fruit extract intact and also to the infested fruit extract. When were submitted to the fruit extract intact in contrast to the infested fruit extract, they showed no preference. It was found that there was a difference in volatile profile between the two extracts. However in bioassays this difference was not perceived by *P. cardo* females. Possibly the concentration of extract used, was not adequate to enable the insect to make the differentiation between the two extracts. Thus more studies are needed order to be able confirm that the protection which the fungus promotes to the fruit avoiding the oviposition of Bruchinae is mediated by volatile. The discoveries of clues which would be involved in this interaction needs to be better understood because of the importance of the survival of the plant propagules and preserve the fruit of integrity allowing a better use of it.

Keywords : Macaúba , Chrysomelidae , volatile compounds , *Fusarium* sp.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	14
2.1. OBJETIVO GERAL	14
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3. MATERIAL E MÉTODOS	15
3.1. COLETA DOS FRUTOS	15
3.2. CRIAÇÃO DOS INSETOS	15
3.3. REPICAGEM DO FUNGO <i>Fusarium</i> sp. E INÓCULO	16
3.4. BIOENSAIOS COM FÊMEAS DE <i>P. cardo</i>	17
3.5. ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS	19
3.5.1 - Cromatografia em camada delgada (CCD)	19
3.5.2 - Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM)	20
3.5.2.1 - <i>Extração em solvente orgânico</i>	20
3.5.2.2 - <i>Extração por Headspace</i>	21
3.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	22
4. RESULTADOS	23
5. DISCUSSÃO	30
6. REFERÊNCIAS	34

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. A- *Pachymerus cardo* (vista lateral), (Foto: Willow Warren, Departamento de Agricultura e Alimentação WA). B-*Pachymerus cardo* C-*Speciomerus revoili* (Fotos: Pereira 2013).12
- Figura 2. Larvas de Bruchinae retiradas de frutos de macaúba em pós-dispersão e acondicionadas em potes coletores envoltos com papel alumínio, colocados dentro de bandeja plásticas.16
- Figura 3. Frutos de macaúba intacto (A) e inoculado pelo fungo *Fusarium* sp.(B).17
- Figura 4. Diagrama do sistema de bioensaios em olfatômetro em “Y”. O ar entra no sistema regulado por um fluxômetro (4 Lmin^{-1}), filtrado por carvão ativado. O fluxo é dividido e cada um se direciona para adaptadores contendo o papel filtro impregnado com extratos do fruto de macaúba. No extremo oposto, uma bomba á vácuo conectada a um fluxômetro (1 Lmin^{-1}) permite a formação de um gradiente de odor dentro do sistema.19
- Figura 5. Resposta olfativa de fêmeas de *Pachymerus cardo* aos odores de frutos de macaúba intacto (tratamento) versus acetato de etila (controle), em olfatômetro tipo “Y”: Valores esperados e observados.24
- Figura 6. Resposta olfativa de fêmeas de *Pachymerus cardo* aos odores de frutos de macaúba inoculado com fungo *Fusarium* sp. (tratamento) versus acetato de etila (controle), em olfatômetro tipo “Y”: Valores esperados e observados.24
- Figura 7 Perfis cromatográficos de frutos de macaúba submetidos a diferentes tratamentos: TFI: tratamento com o extrato mesocarpo do fruto com inóculo e TFS: tratamento com o extrato mesocarpo do fruto intacto em acetato de etila. Os cromatogramas mostram a eluição dos compostos na coluna ao longo do tempo de análise, os números correspondem aos compostos da Tabela 2.27
- Figura 8. Estruturas dos compostos detectados na análise por *Headspace* dos frutos do coco macaúba.29
- Figura 9. Perfis cromatográficos de frutos de macaúba submetidos a diferentes tratamentos: TFI: tratamento com o mesocarpo do fruto com inóculo e TFS: tratamento com o mesocarpo do fruto intacto. Os cromatogramas mostram a eluição dos compostos na coluna ao longo do tempo de análise.29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Condições selecionadas para o amostrador automático de extração dos voláteis por *headspace* estático.

Tabela 2. Compostos coletados dos extratos do mesocarpo de frutos de macaúba intactos e inoculados com o fungo *Fusarium* sp.

Tabela 3. Compostos voláteis coletados do mesocarpo de frutos de macaúba intactos e inoculados com o fungo *Fusarium* sp.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CCD: Cromatografia em camada Delgada

CG: Cromatografia gasosa

CG-EM: Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas

HE: *headspace* estático

Rf: fator de retenção

gl: graus de liberdade

IR: índice de retenção

IMR: intensidade média relativa de cada composto

UV: ultravioleta

χ^2 : qui-quadrado

TFS: Tratamento com fruto sadio

TFI: Tratamento com fruto inoculado com o fungo *Fusarium* sp.

LECB: Laboratório de Ecologia e controle Biológico

UNIMONTES: Universidade Estadual de Montes Claros

ICA: Instituto de Ciências Agrária

1. INTRODUÇÃO

A Macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq Lodd.) ex Martius) destaca-se entre as plantas oleaginosas para a produção de biodiesel, com possibilidade de se tornar comercialmente a palmeira oleaginosa mais importante no contexto brasileiro. Sua importância ocorre não só pelo seu potencial oleaginoso mas também por ser uma espécie nativa do Brasil. Entretanto a introdução dos óleos da macaúba na produção de biodiesel ainda precisa superar alguns desafios. Dentre eles, a implementação e instalação de plantios comerciais viáveis, uma vez que é explorada ainda de forma extrativista (FARIA, 2012). Assim, estudos específicos sobre a ecologia da planta serão necessários para garantir o manejo da espécie (FONSECA, 2008).

Os frutos e sementes são consumidos por insetos, o que pode afetar o desempenho germinativo das sementes das espécies arbóreas nativas (HOLL & LULLOW, 1997). Desta forma, diversos autores têm ressaltado a importância do estudo da predação de sementes por insetos e vertebrados, devido ao impacto direto destes sobre a prole das plantas, (JANZEN, 1971; SCARIOT, 1991; CRAWLEY, 1992).

Na predação das sementes *A. aculeata*, foram descritas duas espécies de insetos pertencentes à subfamília Bruchinae (Coleoptera: Chrysomelidae), predadoras de sementes em pós-dispersão: *Pachymerus cardo* (Fahraeus 1839) e *Speciomerus revoili* (Pic 1902), (Figura 1). Alguns estudos demonstraram altas taxas de predação das sementes macaúba por estes insetos. Ramos et al. (2001) demonstrou em seu trabalho que cerca de 40% das sementes de *A. aculeata* foram predadas por *S. revoili*. Enquanto que no trabalho de Pereira et al. (2014) a taxa média de predação de *P. cardo* em sementes de macaúba foi de 70%.

Frutos de macaúba que sofrem algum tipo de injúria no seu epicarpo apresentam maior velocidade de colonização por fungos decompositores ao entrarem em contato com o solo (PEREIRA et al., 2014). Entre os tipos de danos, estão os causados em frutos em pré-dispersão por insetos herbívoros que perfuram o epicarpo dos frutos deixando-os mais suscetíveis a ação dos fungos quando estes caem sobre o solo em pós-dispersão (FONSECA, 2008). A ação do fungo pode gerar uma mudança química no padrão de emissão de compostos pelos frutos. Desta forma, o besouro predador em meio

a diversidade de sinais químicos encontrados em ambiente natural, tem maior dificuldade de identificar os frutos pós-dispersos diminuindo as taxas de predação dos mesmos. Neste exemplo tem-se uma interação tritrófica onde os fungos decompositores mediam a interação indireta entre herbívoros e predadores de sementes de *A. aculeata*, onde a comunicação química exerce o papel central (PEREIRA et al., 2014).



Figura 1. A- Fotos do *Pachymerus cardo* (Vista lateral), (Willow Warren, Departamento de Agricultura e Alimentação WA); B- *Pachymerus cardo* e C- *Speciomerus revoili* (Fotos: Pereira 2013).

Os organismos constituintes de um mesma comunidade têm, de forma inerente, a capacidade e a necessidade de se comunicar, seja intraespecificamente quanto interespecificamente (FRANCKE & SCHULZ, 1999). A comunicação, segundo alguns autores, pode ser definida como um processo no qual, na maioria das vezes, a informação é trocada entre organismos com vantagens adaptativas para ambos, mas em alguns casos não há vantagens para um dos parceiros (WILSON, 1971; LEWIS & GOWER, 1980). Os insetos em especial, classe composta por cerca de 950.000 espécies (LEWINSOHN & PRADO, 2005), utilizam seus sentidos químicos na busca por companheiros para o acasalamento, nutrientes, oviposição, locais para descanso entre outros (BRUYNE & BAKER, 2008).

O estudo químico dessas substâncias voláteis, aliadas as observações do comportamento do inseto, possibilita um melhor entendimento sobre a comunicação química. A partir desses estudos é possível determinar quais são as substâncias bioativas e seus papéis na comunicação intra e interespecífica (CORREA & VIEIRA, 2007).

Pesquisas básicas relacionadas a essa comunicação servem de modelo para compreensão dos mecanismos envolvidos nas diversas etapas entre a percepção do sinal químico e a sequência de comportamentos que iniciam a partir da presença desse sinal (DICKE & SABELIS; 1988; SANT'ANA & STEIN, 2001).

São vários os exemplos em que os voláteis emitidos pela planta hospedeira ou partes destas (folhas, flores, frutos e sementes) são utilizados como estímulos pelos insetos para o acasalamento e a oviposição (ESTRADA & GILBERT, 2010; LANDOLT & PHILLIPS, 1997; YAN; BENGTSSON; WITZGALL, 1999). De maneira geral, a localização da planta hospedeira pode envolver várias modalidades sensoriais, sendo que a discriminação final é complexa e envolvem frequentemente vários sentidos, pistas das plantas e estado fisiológico do inseto. Visão e olfato podem ser usados para orientação à longa distância e dependem do modo de vida do inseto. Entretanto, quando em contato com a planta, a sequência comportamental final para aceite ou rejeição do local de oviposição depende principalmente de pistas de contato e comumente de compostos presentes na superfície da planta (RENEWICK & CHEW, 1994).

Em consequência da adaptação de *P. cardo* a sua planta hospedeira, *A. aculeata*, o conhecimento da ecologia química deste Bruchinae atacando a macaúba constitui um importante subsídio para a descoberta de produtos naturais que podem ser utilizadas no manejo desta palmeira, afim de se evitar a predação da semente da macaúba por estes besouros, promovendo uma maior sobrevivência do propágulo e contribuindo significativamente para o sucesso reprodutivo desta planta.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar a ação biológica de compostos voláteis liberados por frutos de macaúba intactos e colonizados pelo fungo *Fusarium* sp. no comportamento de oviposição de fêmeas de *Pachymerus cardo*.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estabelecer um protocolo de análise dos voláteis e dos extratos orgânicos dos frutos de *A. Aculeata*.
- Identificar os compostos voláteis liberados pelos frutos (intactos e inoculados com fungos) de *A. aculeata*.
- Avaliar a ação dos extratos dos frutos sobre o comportamento das fêmeas *P. cardo*.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. COLETA DOS FRUTOS

No período de agosto de 2013 à junho de 2014, foram realizadas três coletas de frutos em uma área de pastagem na cidade de Itacambira localizada no Norte do Estado de Minas Gerais (16° 15'46''S, 44° 09'50''O). Os frutos maduros em pré-dispersão foram retirados com ajuda de um coletor e os frutos em pós-dispersão, com sinal de ataque por Bruchínae foram coletados manualmente junto ao solo. Os frutos foram armazenados em sacos plásticos e levados para o Laboratório de Ecologia e Controle Biológico (LECB) da Universidade Estadual de Montes Claros (UNIMONTES). Os frutos em pré-dispersão foram armazenados no freezer (-20°C) até o momento de serem utilizados no preparo dos extratos e os frutos de pós-dispersão foram abertos para retirada da larvas do Bruchinae.

3.2. CRIAÇÃO DOS INSETOS

Para a criação dos insetos, foram retiradas as larvas do interior dos frutos de *A. aculeata*, previamente coletados, e abertos com auxílio de uma ferramenta de corte. As larvas foram transferidas individualmente para potes coletores (50 mL) recobertas com algodão, e os potes foram envoltos em papel alumínio e fechado com plástico filme, todas essas medidas foram tomadas para simular as condições em que a larva se encontra dentro do fruto no seu ambiente natural. Finalmente os potes foram acondicionados em bandejas plásticas (36 cm x 24 cm x 7 cm) até a emergência dos adultos (Figura 2). Os insetos foram mantidos em sala sob temperatura de 20 à 27 °C, umidade relativa de 30 à 42 %, controladas, e fotoperíodo de 12 h no LECB. Após a emergência, os adultos tiveram o sexo determinado e foram transferidos para aquários de vidro (30 cm x 20 cm x 20 cm) e receberam como alimento flores de macaúba e solução de mel e água filtrada a 10 % (v/v) embebidas em algodão. As flores foram substituídas duas vezes por semana, enquanto que os algodões embebidos com a solução foram substituídos diariamente.



Figura 2. Fotos das larvas de Bruchinae retiradas de frutos de macaúba em pós-dispersão e acondicionadas em potes coletores envoltos com papel alumínio, colocados dentro de bandeja plásticas.

3.3. REPICAGEM DO FUNGO *Fusarium* sp. E INÓCULO

O fungo selecionado *Fusarium* sp. que foi principal fungo decompositor dos frutos de *A. aculeata* em pós-dispersão (PEREIRA et al., 2014) foi repicado em meio de batata-dextrose-ágar para obtenção do inóculo. Para o preparo do inóculo, foi realizada uma raspagem de todo o micélio fúngico da placa da cepa testada e foi feita uma diluição do material em água ultrapura com 0,1% (v/v) de tween 80.

Para garantir apenas o crescimento da espécie fúngica em estudo, os frutos foram desinfetados por imersão em solução de hipoclorito (0,8% v/v) por 2 minutos antes da realização do inóculo. Para a inoculação dos frutos foi preparado um inóculo de concentração 10^6 esporos/mL.



Figura 3. Fotos dos frutos de macaúba intacto (A) e inoculado pelo fungo *Fusarium* sp. (B).

3.4. BIOENSAIOS COM FÊMEAS DE *P. cardo*

A avaliação do comportamento de oviposição de fêmeas de *P. cardo* na presença dos voláteis liberados por frutos maduros da macaúba, intactos e infestados pelo fungo *Fusarium* sp., foram conduzidos em olfatômetro em “Y”. Os extratos do mesocarpo do fruto intacto e inoculado em acetato de etila foram utilizados como estímulos odoríferos.

O olfatômetro utilizado consiste de um tubo de vidro (3 cm de diâmetro) em forma de Y, com o tubo principal (22 cm de comprimento) e dois braços menores (20 cm comprimento cada). Nos adaptadores dos braços do olfatômetro foram inseridos o papel filtro (2 cm x 2 cm) impregnados com 50 μ L dos extratos dos frutos intacto ou do fruto inoculado como estímulo, enquanto no adaptador do outro braço foi colocado um papel filtro impregnado com 50 μ l do solvente, (acetato de etila), servindo como controle. Antes de inserir o papel filtro nos adaptadores do olfatômetro esperou-se 30 segundos para que o solvente evaporasse. No interior do olfatômetro, uma corrente de ar foi formada utilizando uma bomba de aquário com fluxo de ar de 4 L min⁻¹. O ar conduzido para o interior do olfatômetro foi filtrado em carvão ativado e regulado por fluxômetros. Para escoamento do ar, uma bomba de sucção foi posicionada no extremo oposto à entrada de ar e regulada com fluxo de 1 L min⁻¹ (Figura 4). Os testes foram conduzidos no LECB da Unimontes, no escuro já que os insetos testados são de hábito noturno, o olfatômetro foi iluminado por lâmpadas fluorescentes vermelhas (60 W) uma vez que os insetos não enxergam este comprimento de luz vermelho.

Os bioensaios foram divididos em três tratamentos, sendo tratamento 1 (extrato do fruto intacto versus acetato de etila), o tratamento 2 (extrato do fruto inoculado versus acetato de etila) e o tratamento 3 (extrato do fruto intacto versus extrato do fruto inoculado).

Para cada experimento foram testadas 60 fêmeas e cada indivíduo testado foi considerado como uma repetição. A fonte de odor foi trocada a cada fêmea testada. Os experimentos foram realizados entre 18 e 22 h, que é quando os insetos estavam em maior atividade. Cada indivíduo foi testado somente uma vez. Nos três tratamentos os insetos que não responderam aos testes no tempo de 10 minutos foram excluídos das análises estatísticas. Os insetos utilizados para realização do testes comportamentais foram provenientes de uma criação de manutenção conduzida no LECB.

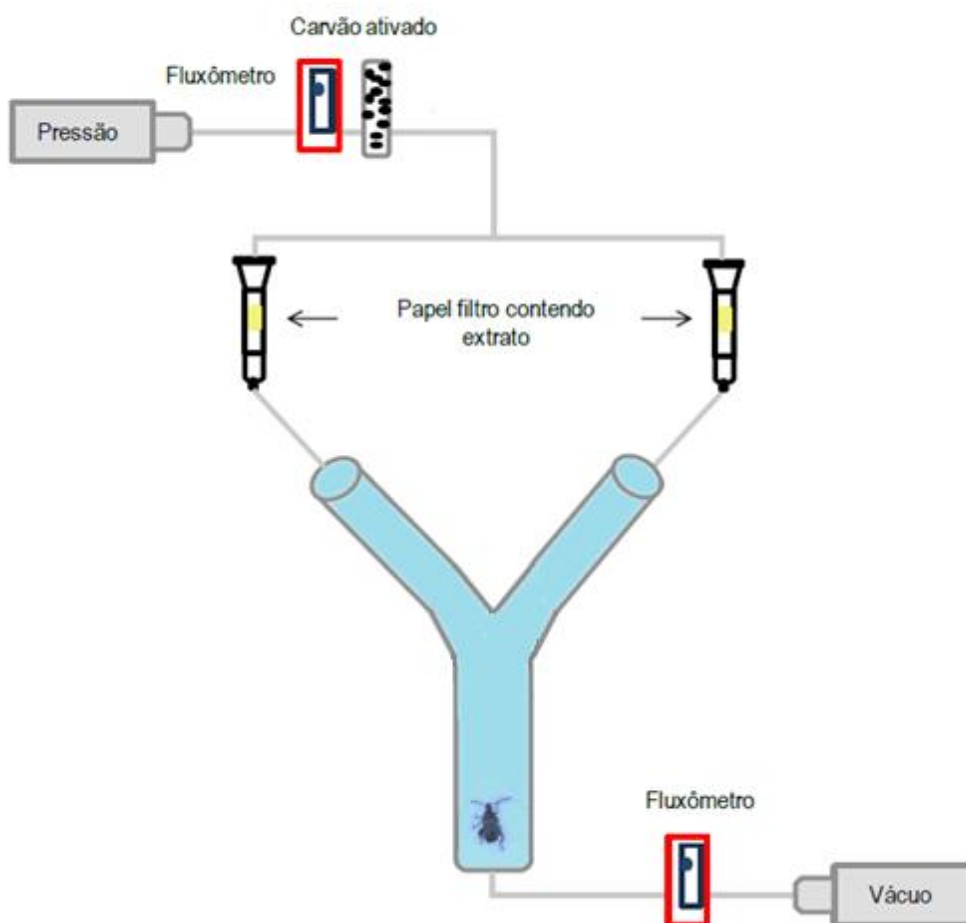


Figura 4. Esquema do diagrama do sistema de bioensaios em olfatômetro em “Y”. O ar entra no sistema é regulado por um fluxômetro (4 Lmin^{-1}), filtrado por carvão ativado. O fluxo é então dividido em dois, cada um se direciona para adaptadores contendo o papel filtro impregnado com os extratos do fruto de macaúba. No extremo oposto, uma bomba á vácuo conectada a um fluxômetro (1 Lmin^{-1}) permite a formação de um gradiente de odor dentro do sistema (Adaptado segundo Magalhães, 2012).

3.5. ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS

3.5.1 - Cromatografia em camada delgada (CCD).

Os extratos, dos frutos intactos e com inóculos, foram preparados a partir da maceração do mesocarpo (10 mg) em 100 mL solução de éter de petróleo e hexano (2:1). Os extratos foram armazenados em freezer (-4°C) até o momento da análise.

A CCD foi realizada em placas pré-fabricadas de alumínio e sílica (*Macherey Nögel*). A cuba cromatográfica (100 mL) foi preparada colocando uma tira de papel de

filtro (4,0 x 5,0 cm) juntamente com o acetato de etila como fase móvel (10 mL). Após a saturação da cuba, os extratos do mesocarpo dos frutos foram aplicados (3 μ L) na placa cromatográfica com o auxílio de uma micropipeta. A revelação dos compostos foi através de iodo ressublimado, lâmpadas de raio UV (254 nm) e observação visual da placa sem reativo. O fator de retenção foi calculado conforme a equação abaixo:

$$R_f = d_c/d_e$$

dc: distância percorrida pelos componente da amostra;

de: distância percorrida pelo eluente;

3.5.2 - Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM)

3.5.2.1 - Extração em solvente orgânico

As análises de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) foram realizadas no Laboratório de Química Instrumental do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais (ICA-UFMG).

Os mesocarpos (3,00 g) dos frutos intactos e inoculados foram removidos e submetido ao processo de maceração com 1 mL de acetato de etila (grau HPLC).

As amostras dos extratos foram, diluídas em acetato de etila (1 mg mL⁻¹) e transferidas para *vials* (2mL) e analisadas por CG-EM, nas condições descritas na Tabela 1.

Os dados gerados, de ambas análises, foram analisados utilizando o *software* MSD Chemstation juntamente com a biblioteca (*National Institute of Standards and Technology*, NIST 2002) e organizada de acordo com a ordem de eluição. A identificação dos compostos foi realizada por comparação do espectro de massas com o da biblioteca (NIST 2.0, 2009). O índice de retenção (IR) relativo de cada composto foi calculado segundo Van Den Dool and Kratz (1963), e comparado com informações da literatura (ADAMS, 2007).

3.5.2.2 - Extração por Headspace

Os frutos de macaúba maduros foram coletados em pré-dispersão com o auxílio de um podão, estes foram conduzidos em sacos plásticos para o LECB onde foram desinfetados em solução de hipoclorito. Metade dos frutos foi inoculada com o fungo *Fusarium* sp. e outra parte foi armazenado em freezer (-4°C) para serem utilizados como frutos intactos.

O mesocarpo maduro (3,00 g) dos frutos de macaúba, intacto e inoculado, foram coletados e transferidos para frasco de vidro (*Agilent Hp.*, 20 mL) e analisados por *headspace* estático (HE) . As condições selecionadas para o HE estão descritas na Tabela 1 (AGUIAR et al., 2014).

Tabela 1. Condições selecionadas para o amostrador automático de extração dos voláteis por *headspace* estático.

Sistema de auto amostrador para <i>headspace</i>	
Volume de injeção	1000 μ L
Temperatura de incubação	75°C
Tempo de incubação	5 min (300 s)
Temperatura da seringa	75°C
Velocidade de agitação	500 rpm
Fill speed	500 μ L s ⁻¹
Fill strokes	0
Pullup delay	500 s
Velocidade de injeção	500 μ L s ⁻¹
Tempo de espera pré- injeção	0 ms
Tempo de espera pós- injeção	0 ms
Tempo de corrida no CG	47 min
Quantidade de amostra	3,00 g

Para a análise cromatográfica foi utilizado o sistema “Agilent Technologies” (7890A) acoplado ao espectrômetro de massas (MS 5975C) dotado de coluna capilar de sílica fundida HP-5 MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m) e hélio (fluxo 1 mL·min⁻¹) como gás de arraste. O injetor foi mantido a 220 °C, com divisão de fluxo (split) na razão de 1:5, seguindo a programação da temperatura de 60 °C - 240 °C (3 °C min⁻¹). O sistema

foi operado no modo scan (monitoramento) com impacto eletrônico a 70 eV, em uma faixa de 29 a 550 (m/z). O índice de retenção de todos os compostos foi calculado a partir do tempo de retenção de uma mistura de *n*-alcanos (C8- C32, Sigma USA) 20 ppm, split 1:100.

3.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados obtidos no experimento de escolha e comportamento de oviposição para os diferentes tratamentos no olfatômetro foram agrupados de acordo com as repetições e comparados com uma hipótese nula de escolha aleatória usando teste Qui-quadrado. Todos os dados foram analisados com o programa R 2.14.0 (R Development Core Team, 2009).

4. RESULTADOS

As fêmeas foram atraídas para os voláteis liberados pelo extrato do fruto intacto quando comparadas com o controle (acetato de etila): 27 fêmeas escolheram o extrato do fruto intacto, 13 escolheram o controle, e 20 fêmeas não fizeram escolha, permanecendo durante os 10 minutos do teste paradas no tubo principal do olfatômetro ($\chi^2 = 4.9$, gl = 1, p = 0.02686), (Figura 5).

As fêmeas responderam ao extrato do fruto inoculado com fungo: 27 fêmeas escolheram o tratamento 12 escolheram o controle (acetato de etila) e 21 fêmeas não fizeram escolha ($\chi^2 = 5.7692$, gl= 1, p= 0.01631), (Figura 6).

As fêmeas não responderam ao extrato do fruto intacto em comparação ao extrato do fruto inoculado com o fungo *Fusarium* sp., 19 fêmeas escolheram o extrato do fruto intacto, 22 escolheram o extrato do fruto inoculado e 20 fêmeas não fizeram escolha ($\chi^2 = 1$ gl = 1, p= 0.3173).

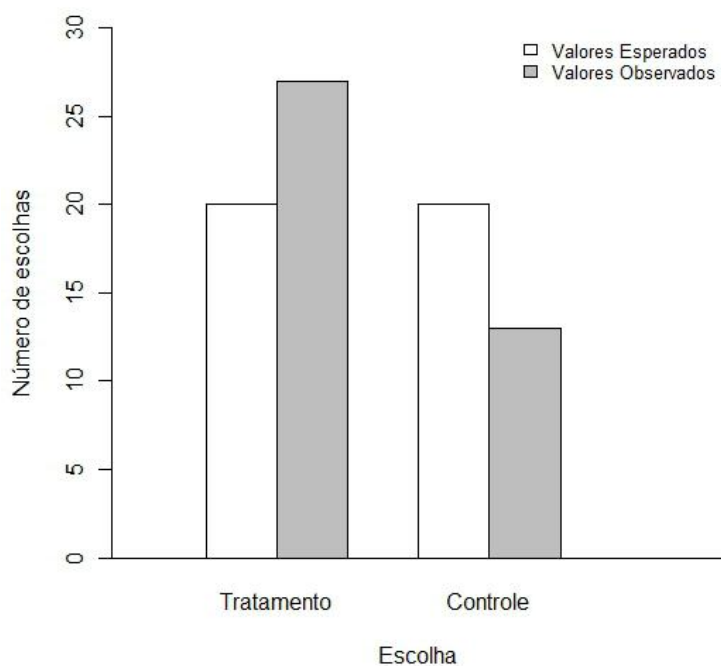


Figura 5. Resposta olfativa de fêmeas de *Pachymerus cardo* aos odores de frutos de macaúba intacto (Tratamento) versus acetato de etila (controle), em olfatômetro tipo “Y”: Valores esperados observados.

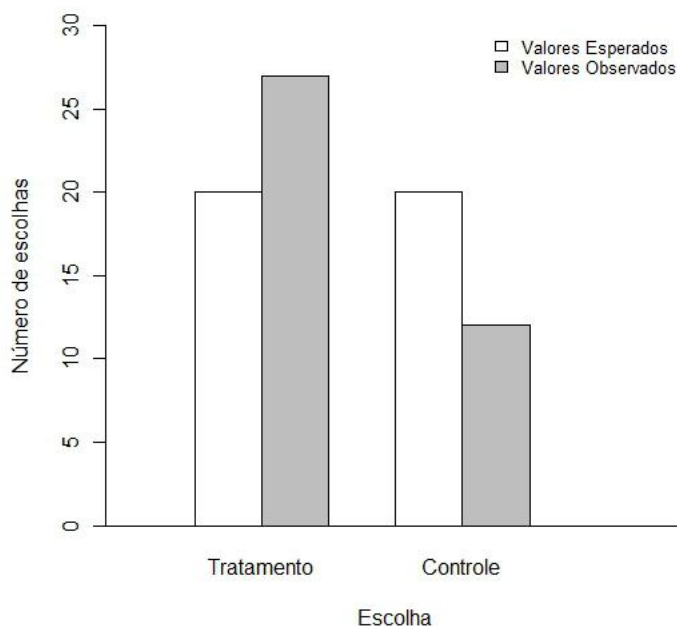


Figura 6. Resposta olfativa de fêmeas de *Pachymerus cardo* aos odores de frutos de macaúba inoculado com fungo *Fusarium* sp. (Tratamento) versus acetato de etila (controle), em olfatômetro tipo “Y”: Valores esperados e observados.

Na CCD feita com os extratos do fruto intacto e extrato do fruto inoculado com *Fusarium* sp. o fator de retenção (Rf) da 1^o mancha do composto 1 (extrato do fruto intacto) foi 0,32, e o Rf da 1^o mancha do composto 2 (extrato do fruto inoculado) foi 0,36.

Na análise por cromatografia gasosa acoplada ao espectrometria de massas (CG-EM) feita com os extratos dos frutos intactos (TFS) e dos frutos com inóculo (TFI) de *A. Aculeata* permitiu detectar 26 compostos (Tabela 2 e Figura 7). Ao todo foram 5 classes de compostos sendo 8 ácidos carboxílicos (31%), 3 ésteres (11%), 4 alcoóis (15%), 2 cetonas (8%), 3 terpenos (12%). Além destes, 6 compostos não foram identificados (23%). Perfis das seis variedades estavam presentes tanto no fruto intacto quanto no fruto inoculado com o fungo *Fusarium* sp., mas diferiram entre os frutos intactos e infestados. Destes, 7 foram comuns aos dois tratamentos, enquanto que 8 compostos foram exclusivos do TFS e 11 compostos foram exclusivos do TFI.

Tabela 2. Compostos detectados no extrato do mesocarpo de frutos de macaúba intactos e inoculados com o fungo *Fusarium* sp.

Nº	TR	Composto	Íons característicos	IRM (%)		Classes	Referências
				TFS	TFI		
1	6,4	Octano - 4,5 - diol	75(14), 73(57), 55(50), 55(100), 45(40)	22,6	2,16	Alc.	Garcia et al., 2011
2	6,7	n. i.	73(54), 72(29), 55(100), 45(39)	19,8	2,48	Dsc.	-
3	8,2	2 - etilexan -1- ol	83(20), 69(11), 57(100), 56(22), 55 (31)	1,21	-	Alc.	Lu et al., 2012
4	12,7	n. i.	166(M ⁺ , 3), 88(87), 70(36), 56(76), 55(100)	1,5	-	Dsc.	-
5	13,6	Octano - 2,3 - diol	101(28), 83(88), 57(27), 56 (18), 55(100),	0,57	-	Alc.	Peng et al., 2008
6	31,8	Farnesol	222(M ⁺ , 2), 123(19), 109(29), 69(100)	1,06	-	Alc.	Su et al., 2009
7	32,4	Cedr-8-eno	204(M ⁺ , 23), 147(13), 119(100), 107(21), 105(33), 93(39)	-	0,5	Sesq.	El-Sawi et al., 2008
8	37,3	Ácido tetradecanóico	228(M ⁺ , 21), 129(53), 73(100), 60(81),	-	0,52	Acd.	Pino et al., 2005
9	38,1	Laurato de butila	256(M ⁺ , 5), 201(61), 183(46), 69(100)	0,76	-	Est.	Vallat et al., 2005
10	42,0	Heptadecan-2-ona	254(M ⁺ , 6), 85(18), 71(46), 59(67), 58(100)	1,96	0,3	Cet.	Pino et al., 2005
11	42,8	Ácido hexadecanóico	270(M ⁺ , 11), 87(71), 74(100), 69(13), 55(22)	-	0,27	Acd.	Abiodun et al., 2014
12	43,5	CIS- ácido (Z) - hexadec - 9 - enoico	254(M ⁺ , 3), 97(47), 73(43),83 (57), 55(100)	-	7,11	Acd.	Ayodele & Akintudire, 2011
13	44,9	Ácido n- hexadecanóico	256(M ⁺ , 11), 129(47), 73(100), 55(60)	5,65	53,26	Acd.	Ayodele & Akintudire, 2011
14	45,1	Ácido hexadecanóico, éster etílico	284(M ⁺ , 10), 101(58), 88(100), 55(24)	2,9	4,1	Acd.	Reis et al., 2014

15	48,3	Octadec-9-enoato de metila	296 (M ⁺ , 4), 265(25), 96(47), 87(46), 55(100)	-	0,96	Acd.	Yayli, et al., 2001
16	48,4	Nonadecan-2-ona	282(M ⁺ , 8), 96(15), 59(84), 58(100), 5(25)	2,78	0,45	Cet.	Wahab et al., 2011
17	49,5	Ácido (Z) -octadec-9-enoico	282(M ⁺ , 2), 69(76), 67(40), 57(36), 55(100)	20,61	-	Acd.	Abiodun et al., 2014
18	50,3	Oleato de etila	310(M ⁺ , 6), 97(67), 88(73), 83(78), 55(100)	3,39	-	Est.	Pino et al., 2005
19	50,7	Geranilgeraniol	93(32), 81(47), 69(100), 67(21), 55(21)	11,2	-	Ditp	Siriwardena & Arambewela, 2014
20	51,0	Ácido octadecanóico	284(M ⁺ , 44), 241(24), 73(100), 69(74)	-	5,96	Acd.	Pino et al., 2005
21	55,8	Octadec-9-enoato de butila	338(M ⁺ , 6), 265(44), 69(78), 55(100)	1,95	4,23	Est.	Pérez-Camino et al., 2002
22	57	Tetracosano	113(11), 85(57), 71(75), 57(100)	-	4,75	Sest.	Yang et al. 2010
23	58,8	n.i.	131(60), 130(100), 129(44), 117(63), 55(62)	-	2,09	Desc.	-
24	59,8	n.i.	85(100), 84(65), 69(48), 55(63)	-	1,42	Desc.	-
25	60,9	n.i.	264(29), 97(58), 83(66), 57(48), 55(100)	-	0,94	Desc.	-
26	65,7	n.i.	264(40), 98(63), 95(44), 83(51), 69(66), 55(100)	-	8,41	Desc.	-
				Total:	Total:		
				97,9	99,9		

TFS: tratamento com o extrato do fruto *Acrocomia aculeata* intacto - TFF: tratamento com o extrato do fruto *Acrocomia aculeata* inoculado com o fungo *Fusarium* sp. TR.: tempo de retenção - N^o.: número do composto - Alc: Álcool - Acd: Ácidos Carboxílicos - Sesq.: Sesquiterpenos - Ditp.: Diterpenos - Cet.: Cetonas - Est.: Ésteres - IMR.: intensidade média relativa de cada composto.

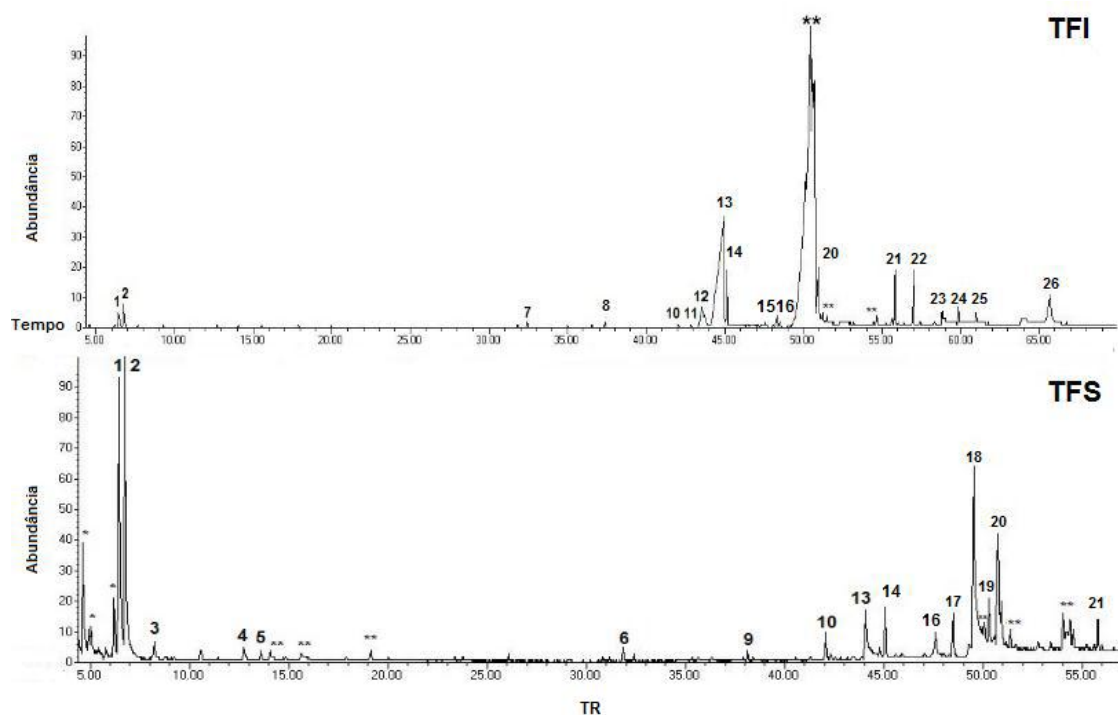


Figura 7. Cromatogramas de íons totais de frutos de macaúba submetidos a diferentes tratamentos: TFI: tratamento com o extrato mesocarpo do fruto com inóculo e TFS: tratamento com o extrato mesocarpo do fruto intacto em acetato de etila. Os números correspondem aos compostos da Tabela 2.

* Contaminação por solvente- ** Coeluição de dois ou mais compostos- TR: tempo de retenção

Na análise dos compostos voláteis dos frutos de *A. Aculeata* por *headspace* seguida da CG-EM permitiu a detecção 7 compostos (Tabela 3 e Figura 8 e 9). Sendo que os compostos (3-hidroxiбутан-2-ona, butano-2,3-diol (isômero1) e butano-2,3-diol (isômero2) foram comuns aos dois tratamentos, enquanto que o hep-1-en-4-ol, ácido acético e o α -Santaleno foram detectados no TFS e o composto ácido propanóico no TFI.

Tabela 3. Compostos voláteis coletados do mesocarpo dos frutos de macaúba intactos e inoculados com o fungo *Fusarium* sp.

Nº	TR	Composto	Íons característicos	IMR (%)		Classes	Referências
				TFS	TFI		
1	5.1	3-hidroxiбутан-2-ona	88(M ⁺ , 20), 73(4), 56(3), 46(3), 45(100)	6,85	10,7	Cet.	Barata et al., 2000
2	6.9	Butano-2,3-diol (isômero1) RR	90(M ⁺ , 1), 75 (6), 57(13), 55(5), 46(4), 45(100)	39,96	60,4	Álc.	Stensmyr et al., 2001
3	7.2	Butano-2,3-diol	90(M ⁺ , 1), 75(4),	28,91	13,9	Álc.	Nout &

		(isômero2)	57(13), 47(6), 45(100)				Bartelt, 1998
4	10.9	Hept-1-en-4-ol	114(M ⁺ , 2), 83(4), 74(13), 73(53), 72(16), 71(32), 56(10), 55(100),	22,02	-	Álc.	Laothawornkitkul, et al., 2000
5	37.4	Ácido acético, 1,7,7-trimetilbicclico [2,2,1] hept-2-il-éster	136(45), 121(86), 108(28), 95(68), 93(100), 91(37), 79(32), 55(50)	1,61	-	Ácd.	Li et al. 2011
6	38.9	α-Santaleno	161(16), 133(24), 121(51), 119(40), 95(47), 94(100), 91(82), 79(47)	0,62	-	Sesq.	Borges et al., 2011
7	44.7	Ácido pronóico, 2-metil-, 1(1,1-dimetil)-2- metil éster 1,3-propanodil	286(M ⁺ , 0), 243(5), 159(9), 155(4), 143(4), 111(11), 83(5), 71(100)		14,89	Ácd.	Andrade et al., 2011
Total:				99,9	99,8		

TFS: tratamento com o mesocarpo do fruto de *Acrocomia aculeata* intacto - TFI : tratamento com o mesocarpo do fruto de *Acrocomia aculeata* com inóculo - TR: tempo de retenção - N°: número do composto - Álc: Álcool - Acd: Ácidos Carboxílicos - Sesq.: Sesquiterpeno - Cet.: Cetonas - IMR: intensidade média relativa de cada composto- n.i: Compostos não identificados

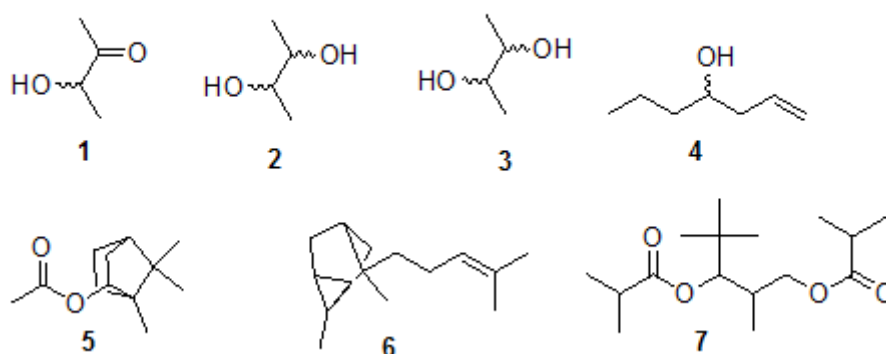


Figura 8. Estruturas químicas dos compostos voláteis dos frutos maduros de *Acrocomia aculeata* extraídos por *headspace* e analisados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas.

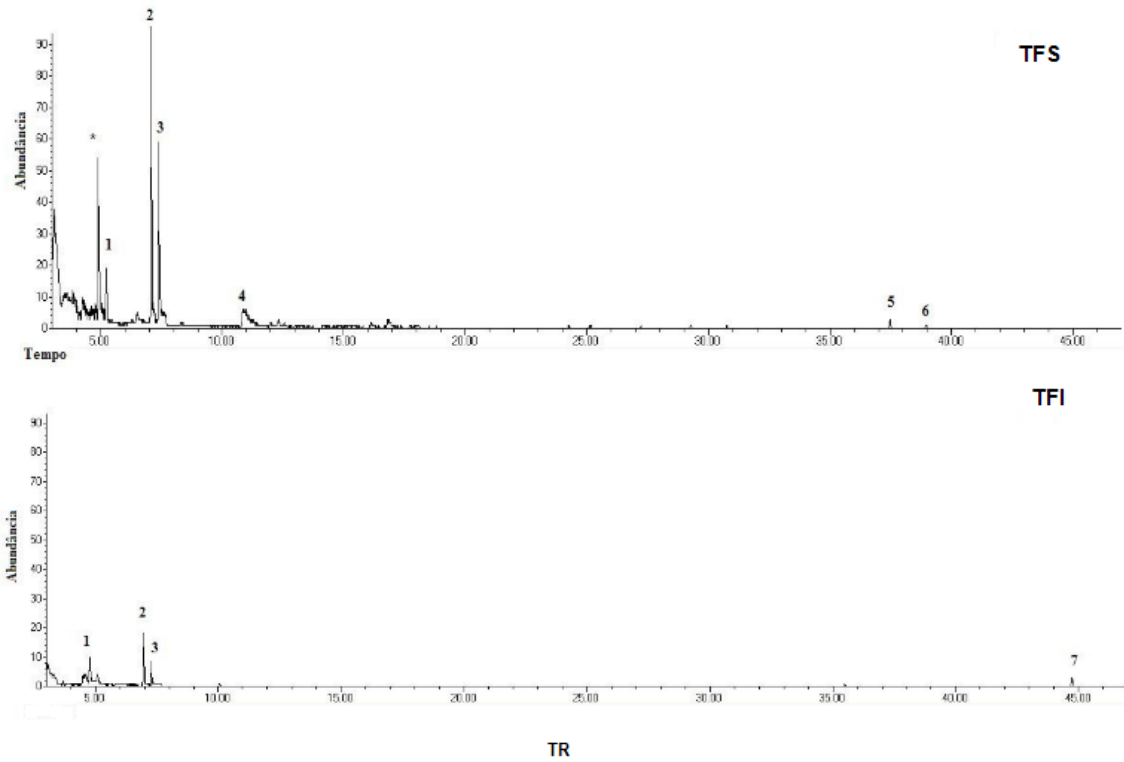


Figura 9. Cromatogramas de íons totais de frutos de macaúba submetidos a diferentes tratamentos: TFI: tratamento com o mesocarpo do fruto com inóculo e TFS: tratamento com o mesocarpo do fruto intacto. Os cromatogramas mostram a eluição dos compostos na coluna ao longo do tempo de análise.

5. DISCUSSÃO

Voláteis liberados por plantas desempenham um papel significativo na orientação dos insetos fêmeas para suas plantas hospedeiras ou órgãos alvos no processo de oviposição (ANGIOY et al., 2003; MITCHELL et al., 2008). Estudos demonstram que os voláteis de plantas induzem respostas específicas em fêmeas de várias espécies de insetos, tanto em laboratório (TASIN et al., 2005, 2007; CASADO et al., 2008; TASIN et al. 2009;) quanto em campo (CHA et al., 2008; ANFORA et al., 2009; BRUCE et al., 2011; ZHANG et al., 2011).

A atratividade de odores de partes da planta hospedeira foi demonstrada para muitas famílias de insetos. O Curculionidae *Conotrachelus psidii* é atraído por odores do botão floral da *Psidium guajava* (FILHO, 2005). Bioensaios em olfatômetro em “Y” confirmaram que adultos de *Anthonomus grandis* são atraídos por voláteis liberados *Gossypium hirsutum*, as fêmeas do bicudo-do-algodoeiro utiliza o botão floral da planta para os processos de alimentação e oviposição (MAGALHÃES et al., 2012). Fêmeas de Tortricidae testadas em olfatômetro demonstraram uma resposta significativa aos voláteis emitidos por vagens da soja quando comparado ao solvente hexano (HORAS, 2009).

Os resultados dos bioensaios em olfatômetro em "Y" mostraram que as fêmeas de *P. cardo* foram atraídas por voláteis de frutos de macaúba intactos quando contrastados com acetato de etila. Recentemente Pereira et al. (2014) mostrou que *P. cardo* tem clara preferência pelo fruto intacto.

As fêmeas também foram atraídas por voláteis liberados pelo extrato do fruto de macaúba inoculado com *Fusarium* sp. Quando as fêmeas foram expostas aos voláteis liberados pelo extrato do fruto de macaúba intacto em contraste aos voláteis emanados pelo extrato do fruto infestado com o fungo estas não demonstraram preferência por nenhum dos tratamentos. Este resultado foi diferente dos encontrados por Pereira et al. (2014) uma vez que no trabalho da mesma as fêmeas de *P. cardo* não demonstraram ter nenhuma preferência por frutos infestados por fungos decompositores. Da mesma forma que também foi diferente dos resultados mostrado por Kruess (2001) que observou que o Chrysomelidae Cassidinae teve o comportamento alimentar dos adultos e comportamento de oviposição alterados negativamente pela presença de fungos nas folhas sua planta hospedeira.

Os resultados obtidos nos testes comportamentais feitos com as fêmeas de *P. cardo* no olfatômetro em “Y” foram inconclusivos. Nos bioensaios, 34 % das fêmeas testadas não responderam aos tratamentos. Esta ausência de respostas pode estar relacionada às condições do olfatômetro tais como: fluxo de ar utilizado, tempo de escolha, qualidade da fonte de odor que podem não estar adequadas para promover uma percepção olfativa no inseto em questão frente ao estímulo oferecido. Devido à diluição utilizada no preparo dos extratos as concentrações dos voláteis que são importantes para o inseto no processo de diferenciação do fruto intacto do fruto infestado podem ter ficado insuficientes para promover um estímulo nas fêmeas de *P. cardo*. Modificações no preparo do extrato ou mesmo a substituição deste pelo fruto em natura podem melhorar a qualidade das respostas dos insetos no olfatômetro.

Apesar de várias outras espécies de Chrysomelidae serem atraídas por voláteis de suas plantas hospedeiras (FEENY et al., 1970; & ANDERSEN METCALF, 1986; VISSER, 1986; MITCHELL, 1994; MULLER & HILKER, 2000, 2001; KALBERER et al., 2001, 2005), pistas olfativas podem ser estímulos fracos no processo de reconhecimento de plantas hospedeiras por *P. cardo*. O Chrysomelidae *Cassida canaliculata* utiliza a combinação de pistas visuais e olfativas para se direcionar para a planta hospedeira (HEISSWOLF et al., 2007). As fêmeas de Bruchinae, antes de ovipor, examinam a superfície do fruto com seu ovipositor dotado de receptores tácteis e quimiorreceptores que receberão informações da superfície do fruto, como sua umidade e seu conteúdo químico (BIRCH et al., 1989). Da mesma forma o *P. cardo* pode utilizar uma combinação de pistas tácteis e olfativas para encontrar o fruto de macaúba em meio à diversidade de sinais encontrados em ambiente natural. Além de poderem utilizar as pistas visuais já que insetos noturnos têm uma excelente visão noturna, com a capacidade de discriminar cores (WARRANT & DACKER, 2011), com isso *P. cardo* pode estar diferenciando os frutos por estímulos visuais, já que o fruto infestado possui um aspecto bem diferente do fruto intacto.

Muitos fungos são bem conhecidos por produzirem toxinas que podem reduzir a colonização de sementes por outros microorganismos e o consumo por animais (CRIST & FRIESE 1993; KREMER 1993). Alternativamente, os fungos podem ter um efeito tóxico sobre os ovos de Bruchinae, semelhante ao que foi descrito para fungos do gênero *Phomopsis* em ovos de besouros Scolitidae (WEBBER, 1981). Nesse caso, os fungos exerciam um duplo efeito

sobre os besouros ao diminuir o número de ovos viáveis por ninhada e ainda por inviabilizarem o local potencial para reprodução dos besouros.

Através da cromatografia em camada delgada foram detectados a presença de compostos apolares nos extratos do mesocarpo dos frutos de *A. aculeata* possibilitando, desta forma, assegurar a análise por CG-EM sem ser submetida ao processo de derivatização.

Na análise do extrato dos frutos testados (saudável e inoculado com o *Fusarium* sp.) oito ácidos carboxílicos, três alcoóis, três esterese, três terpenos e duas cetonas, foram citados em outros estudos como compostos voláteis liberados por diferentes partes das plantas (folhas, frutos, sementes, raiz). O álcool 2-etilexan-1-ol foi citado com sendo volátil mediador de interação inseto planta (LU et al., 2012).

Dos voláteis detectados dos frutos intactos e inoculados, 3-hidroxiбутан-2-ona e butano-2,3-diol foram citados em outros trabalhos como sendo mediadores de interação inseto-planta (NOUT & BARTELT, 1998; BARATA et al., 2000 & STENSMYR et al., 2001). O hept-1-en-4-ol, e o α -santaleno foram descritos na literatura (LAOTHAWORNKITKUL et al., 2008; BORGES, et al., 2011) como sendo compostos liberados por plantas (frutos e folhas). Alguns dos voláteis liberados pelo fruto de macaúba são comuns também em outras espécies vegetais, e podem mediar as interações do tipo inseto-planta neste sistema de estudo.

Diante dos resultados das análises cromatográficas dos frutos de macaúba, intactos e infestados por fungo, em CG-EM e dos testes comportamentais feitos com as fêmeas de *P. cardo* em olfatômetro em "Y", podemos inferir que os compostos que foram exclusivos do TFS podem auxiliar no reconhecimento dos frutos por *P. cardo*. No entanto, somente os bioensaios comportamentais podem não ser suficientes para o entendimento da percepção química de um determinado inseto, isso devido a influência das variáveis exógenas. Experimentos eletrofisiológicos, que são feitos apenas com antena do inseto, são necessários para se confirmar a importância dos compostos identificados na ecologia química do inseto em questão (CORREA & VIEIRA, 2007).

Com isso mais estudos serão necessários para investigação de quais são as pistas que estariam sendo utilizadas pelos insetos da subfamília Bruchinae para escolha efetiva

do sitio de oviposição, e para a não escolha dos frutos infestado com fungo. Esta informação é de suma importância, já que a presença de fungos nos frutos altera o comportamento de oviposição dos principais predadores de sementes de *A. aculeata*, beneficiando assim, o recrutamento da planta e promovendo um melhor aproveitamento do fruto que é principal produto de exploração para a produção do biodiesel.

6. REFERÊNCIAS

ABIODUN, O. A.; AKINOSO R.; OLOSUNDE, O. O.; ADEGBITE, J. A.; OMOLOLA, O. A. **Nutritional quality and essential oil compositions of *Thaumatococcus danielli* (Benn.) tissue and seed.** Food Chemistry, v. 160, p. 286-291, 2014.

ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/ Mass Spectrometry.** N^o. Ed. 4. Allured publishing corporation, 2007.

ANDERSEN, J. F. & METCALF, R. L. **Identification of a volatile attractant for *diabrotica* and *acalymma* spp. from blossoms of *cucurbita maxima* duchesne.** Journal of Chemical Ecology, v. 12, n. 3, p. 687-699, 1986.

ANDRADE, M. J.; CÓRDOBA J. J.; SÁNCHEZ B.; CASADO E. M., RODRÍGUEZ M. **Evaluation and selection of yeasts isolated from dry-cured Iberian ham by their volatile compound production.** Food Chemistry, v. 113, n. 2, p. 457-463, 2009.

ANFORA, G.; TASIN, M.; CRISTOFARO, A. D.; IORIATTI, C., & LUCCHI, A. **Synthetic grape volatiles attract mated *Lobesia botrana* females in laboratory and field bioassays.** Journal of chemical ecology, v. 35, n. 9, p. 1054-1062, 2009.

ANGIOY, A. M.; DESOGUS, A.; BARBAROSSA, I. T.; ERSON, P. & HANSSON, B. S. **Extreme sensitivity in an olfactory system.** Chemical Senses, v. 28, n. 4, p. 279-284, 2003.

BARATA, E. N.; PICKETT, J. A.; WADHAMS, L. J.; WOODCOCK, C. M. & MUSTAPARTA H. **Identification of host and nonhost semiochemicals of eucalyptus woodborer *Phoracantha semipunctata* by gas chromatography-electroantennography.** Journal of Chemical Ecology, p. 1877-1895, 2000.

BORGES, R. M.; RANGANATHAN Y.; KRISHNAN A.; GHARA M.; PRAMANIK G. **When should fig fruit produce volatiles? Pattern in a ripening process.** Acta Oecologica, p. 611-618, 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.

BRUYNE M. & BAKER T. C. **Odor Detection in Insects: Volatile Codes.** Journal of Chemical Ecology. v. 34, n. 7, p. 882-897, 2008.

CASADO, D.; GEMENO, C.; AVILLA, J., & RIBA, M.. **Diurnal variation of walnut tree volatiles and electrophysiological responses in *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae).** Pest management science, v. 64, n. 7, p. 736-747, 2008.

CHA, D. H.; NOJIMA, S.; HESLER, S. P.; ZHANG, A. J.; LINN J. R., C. E.; ROELOFS, W. L. & LOEB, G. M. **Identification and field evaluation of grape shoot volatiles attractive to female grape berry moth (*Paralobesia viteana*).** Journal of chemical ecology, v. 34, n. 9, p. 1180-1189, 2008.

CRAWLEY, M.J. **Seed predators and plant population dynamics.** Seeds: the ecology of regeneration in plant communities. Wallingford: CABI, p. 157-191, 1992.

CORREA ,G. A. & VIEIRA, P. C.. **Produtos naturais no controle de insetos.** EdUFSCar. 150 p., 2007.

EL-SAWI, S. A.; MOTAWAE, H. M., & ALI, A. M. **Chemical composition, cytotoxic activity and antimicrobial activity of essential oils of leaves and berries of *Juniperus phoenicea* L. grown in Egypt.** African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, v. 4, n. 4, p. 417-426, 2008.

ESTRADA, C. & GILBERT, L. E. **Host plants and immatures as mate-searching cues in *Heliconius* butterflies.** Animal Behaviour, v. 80, n. 2, p. 231-239, 2010.

DICKE, M. & SABELIS, M. W. **Infochemical terminology: based on cost-benefit analysis rather than origin of compounds?** Functional ecology, v, 9, p. 131-139, 1988.

FARIA, G. **Caracterização morfoanatômico da planta, fruto, semente e plântula de macaúba [*Acrocomia aculeata* (Jacq Lodd. ex. Martius)].** Dissertação de Mestrado (Agronomia/Fitotecnia) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

FONSECA, F. S. A. **Padrões de ataque de insetos herbívoros em frutos de *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex. Martius (Arecaceae)**. Dissertação de Mestrado (Ciências Biológicas), Universidade Estadual de Montes Claros, Montes Claros. 2008.

FEENY, P.; PAAUWE, K. L. & DEMONG, N. J. **Flea beetles and mustard oils: Host plant specificity of *Phyllotreta cruciferae* and *P. striolata* adults (Coleoptera: Chrysomelidae)**. *Annals of the Entomological Society of America*, v. 63, n. 3, p. 832-841, 1970.

GARCIA, C. V.; QUEK, S. Y.; STEVENSON, R. J. & WINZ, R. A. **Characterization of the Bound Volatile Extract from Baby Kiwi (*Actinidia arguta*)**. *Annals of the Entomological Society of America*, v. 63, n. 3, p. 832-841, 1970.

HOLL, K.D. & LULLOW, M.E. **Effect of species habitat and distance from edge on post dispersal seed predation**. *Biotropica*, v. 29, n. 4, p. 459-468, 1997.

HORAS, V. R. ***Crociosema aporema* (walsingham, 1914) (Lepidoptera: Tortricidae): resposta olfativa aos voláteis da soja e comportamento de acasalamento**. Dissertação de Mestrado. Curitiba (Entomologia, PGCB). Universidade Federal do Paraná. 2009.

JANZEN, D.H. **Escape of *Cassia grandis* L. beans from predators in time and space**. *Ecology*, v. 52, p. 964-979, 1971.

KRUESS A. **Indirect interaction between a fungal plant pathogen and a herbivorous beetle of the weed *Cirsium arvense***. *Oecologia*, v. 130, n. 4, p. 563-569, 2002.

LANDOLT, P. J. & PHILIPS, T. W. **Host plant influences on sex pheromone behavior of phytophagous insects**. *Annual review of entomology*, v. 42, n. 1, p. 371-391, 1997.

LAOTHAWORNKITKUL J., TAYLOR J. E., NIGEL D. P. & HEWITT C. N. **Discrimination of plant volatile signatures by an electronic nose: a potential technology for plant pest and disease monitoring**. *Environmental science & technology*, v. 42, n. 22, p. 8433-8439, 2008.

LEWINSOHN, T. M. & PRADO P. I. **How Many Species Are There in Brazil?** *Conservation Biology*, v. 19, n. 3, p. 619-624, 2005.

LEWIS, B. & GOWER, M. **Biology of communication.** Blackie, London, 1980.

LI X. F.; WANG J.; HUANG D.; WANG, L. X. & WANG, K. **Allelopathic potential of *Artemisia frigida* and successional changes of plant communities in the northern China steppe.** Plant and soil, v. 341, n. 1-2, p. 383-398, 2011.

LU P. F.; HUANG L.Q.; WANG C. Z. **Identification and Field Evaluation of Pear Fruit Volatiles Attractive to the Oriental Fruit Moth, *Cydia molesta*.** Journal of chemical ecology, v. 38, n. 8, p. 1003-1016, 2012.

MAGALHÃES, D. M.; BORGES, M.; LAUMANN, R. A.; SUJII, E. R.; MAYON, P.; CAULFIELD, J. C.; ... & BLASSIOLI-MORAES, M. C. **Semiochemicals from Herbivory Induced Cotton Plants Enhance the Foraging Behavior of the Cotton Boll Weevil, *Anthonomus grandis*.** Journal of Chemical Ecology, v. 12, n. 38, p. 1528-1538, 2012.

MITCHELL, B. K. **The chemosensory basis of host-plant recognition in Chrysomelidae.** In: Novel aspects of the biology of Chrysomelidae. Springer Netherlands, p. 141-151. 1994.

MITCHELL, V. J.; MANNING, L. A.; COLE, L.; SUCKLING, D. M.; & EL-SAYED, A. M. **Efficacy of the pear ester as a monitoring tool for codling moth *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) in New Zealand apple orchards.** Pest management science, v. 64, n. 3, p. 209-214, 2008.

MÜLLER, C. & HILKER, M. **The effect of a green leaf volatile on host plant finding by larvae of a herbivorous insect.** Naturwissenschaften, v. 87, n. 5, p. 216-219, 2000.

MÜLLER, C. & HILKER, M. **Host finding and oviposition behavior in a chrysomelid specialist – the importance of host plant surface waxes.** Journal of chemical ecology, v. 27, n. 5, p. 985-994, 2001.

NOUT, M. J. R. & BARTELT, R. J. **Attraction of a flying Nitidulid (*Carpophilus humeralis*) to volatiles produced by yeasts grown on sweet corn and a corn-based medium.** Journal of chemical ecology, v. 24, n. 7, p. 1217-1239, 1998.

OMOTOSO M. A.; AYODELE M. J. & AKINTUDIRE A. O. **Comparative Study of the properties of biodiesel prepared from *Jatropha curcas* oil and palm oil.** Journal of Chemistry and Material Sciences, v. 1, n. 1, p. 1-13, 2011.

PENG, B.; YUE, T. & YUAN, Y. **A fuzzy comprehensive evaluation for selecting yeast for cider making.** International journal of food science & technology, v. 43, n. 1, p. 140-144, 2008.

PEREIRA A. C. F.; FONSECA F. S.; MOTA G. R.; FERNANDES A. K.; FAGUNDES M.; REIS-JÚNIOR R.; FARIA M. L. **Ecological Interactions Shape the Dynamics of Seed Predation in *Acrocomia aculeata* (Arecaceae).** PloS one, v. 9, n. 5, p. e98026, 2014.

PINO, J. A.; MESA, J.; MUNÑOZ, Y.; MARTIÄ, M. P. & MARBOT, R. **Volatile Components from Mango (*Mangifera indica* L.) Cultivars.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 53, n. 6, p. 2213-2223, 2005.

RAMOS, F. A.; MARTINS, I.; FARIAS, J. M.; SILVA, I. C. S.; COSTA, D. C. & MIRANDA, A. P. **Oviposition and predation by *Speciomerus revoili* (Coleoptera, Bruchidae) on seeds of *Acrocomia aculeata* (Arecaceae) in Brasília, DF, Brazil.** Brazilian Journal of Biology, v. 61, n. 3, p. 449-454, 2001.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2009.

REIS, J. M.; DA COSTA, W. F.; MINGUZZI, S. & DA SILVA, R. C. D. L. **Avaliação da composição química e da toxicidade do óleo essencial de folhas e frutos da *Jatropha gossypifolia* L.** Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas, v. 34, n. 2, p. 185-192, 2014.

RENWICK, J. A. A. & CHEW, F. S. **Oviposition behaviour in Lepidoptera.** Annual Review of Entomology, Palo Alto, v. 39, p. 377-400, 1994.

SANT'ANA, J., STEIN, K. Extração e identificação de substâncias bioativas de insetos. In: Ferreira, J.T.B., Correia, A.G., Vieira, P.C. **“Produtos naturais no controle de insetos”.** Série textos da Escola de Verão em Química, número 3. Editora da UFSCAR, São Carlos, p: 47-74, 2001.

SCARIOT, A. O.; LLERAS, E. & HAY, J. D. **Reproductive Biology of the Palm *Acrocomia aculeata* in Central Brazil.** Biotropica, p. 12-22, 1991.

SILVA FILHO, G. **Semioquímicos envolvidos na interação gorgulho-da-goiaba (*Conotrachelus psidii* Marshall) - goiabeira (*Psidium guajava* L.)**. Tese de Mestrado. Produção Vegetal, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; Campos dos Goytacazes. 2005.

SIRIWARDENA, V. S. & ARAMBEWELA, L. S. R. **Determination of Volatile Constituents of the Essential Oil and Absolute of *Nyctanthes arbortristis* L. Flowers Grown in Sri Lanka**. *Journal of Tropical Forestry and Environment*, v. 4, n. 2, 2014.

STENSMYR, M.; LARSSON, M.; BICE, S. & HANSSON, B. **Detection of fruit-and flower-emitted volatiles by olfactory receptor neurons in the polyphagous fruit chafer *Pachnoda* (Coleoptera: Cetoninae)**. *Journal of Comparative Physiology A*, v. 187, n. 7, p. 509-519, 2001.

SU J. W.; ZENG J. P. ; QIN X. W.; GE F. **Effect of needle damage on the release rate of Masson pine (*Pinus massoniana*) volatiles**. *Journal of plant research*, v. 122, n. 2, p. 193-200, 2009.

TASIN, M.; ANFORA, G.; IORIATTI, C.; CARLIN, S.; & DE CRISTOFARO, A. **Antennal and behavioral responses of grapevine moth *Lobesia botrana* females to volatiles from grapevine**. *Journal of chemical ecology*, v. 31, n. 1, p. 77-87, 2005.

TASIN, M.; BÄCKMAN, A. C.; CORACINI, M.; CASADO, D.; IORIATTI, C. & WITZGALL, P. **Synergism and redundancy in a plant volatile blend attracting grapevine moth females**. *Phytochemistry*, v. 68, n. 2, p. 203-209, 2009.

TASIN, M.; BÄCKMAN, A. C.; ANFORA, G.; CARLIN, S.; IORIATTI, C. & WITZGALL, P. **Attraction of female grapevine moth to common and specific olfactory cues from host plants**. *Chemical senses*, p. bjp082, 2009.

VALLAT A.; GU H. & DORN S. **How rainfall, relative humidity and temperature influence volatile emissions from apple trees in situ**. *Phytochemistry*, v. 66, n. 13, p. 1540-1550, 2005.

VAN DEN DOOL, H. & KRATZ, D. J. **A generalization of the retention index system including liner temperature programmed gas-liquid partition chromatography**. *Journal of Chromatography A*, v. 11, p. 463-471, 1963.

VISSER, J. H. **Host odor perception in phytophagous insects.** Annual Review of Entomology, v. 31, n. 1, p. 121-144, 1986.

WAHAB, I. R. A.; BLAGOJEVIĆ, P. D.; RADULOVIĆ, N. S. & BOYLAN, F. **Volatiles of *Curcuma mangga* Val. & *Zizip* (Zingiberaceae) from Malaysia.** Chemistry & biodiversity, v. 8, n. 11, p. 2005-2014, 2011.

WARRANT, E. & DACKER, M. **Vision and Visual Navigation in Nocturnal Insects.** Annual review of entomology, v. 56, p. 239-254, 2011.

WILSON, E.O. **The insects societies.** Harvard University Press, Cambridge, 1971.

YAN, F.; BENGTSSON, M.; WITZGALL, P. **Behavioral response of female codling moths, *Cydia pomonella*, to apple volatiles.** Journal of Chemical Ecology, New York, v. 25, p. 1343-1351, 1999.

YANG, Z.; MAO, H.; LONG, C.; SUN, C. & GUO, Z. **Rapid determination of volatile composition from *Polygala furcata* Royle by MAE-HS-SPME followed by GC-MS.** European Food Research and Technology, v. 230, n. 5, p. 779-784, 2010.

YAYLI, N.; KIRAN, Z.; SEYMEN, H.; GENÇ, H. & KÜÇÜKİSLAMOĞLU, M. **Characterization of lipids and fatty acid methyl ester contents in leaves and roots of *Crocus vallicola*.** Turkish Journal of Chemistry, v. 25, n. 4, p. 391-396, 2001.

ZHANG, Q. H.; MA, J. H.; YANG, Q. Q.; BYERS, J. A.; KLEIN, M. G.; ZHAO, F. Y. & LUO, Y. Q. **Olfactory and visual responses of the long-legged chafer *Hoplia spectabilis* Medvedev (Coleoptera:Scarabaeidae) in Qinghai Province, China.** v. 67, n. 2, p. 162-169, 2011.