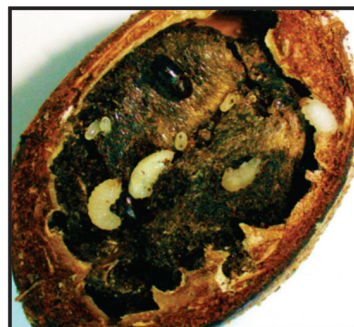


CIRCULAR TÉCNICA

93

Brasília, DF
Maio, 2018

Perfil de voláteis, constitutivos e induzidos por herbivoria, de frutos de diferentes variedades de café e sua influência sobre o comportamento de *Hypothenemus hampei*

Mirian Fernandes Furtado Michereff¹Maria Carolina Blassioli-Moraes²Miguel Borges³Samuel Divino de Moraes⁴Diego Martins Magalhães⁵Raúl Alberto Laumann⁶Cleonor Cavalcante da Silva⁷Ana Maria Meneghin⁸José Nilton Medeiros Costa⁹

Resumo

A broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae), é atualmente a principal ameaça à produção de café no mundo. Embora, alguns estudos tenham sido realizados com semioquímicos das plantas hospedeiras para identificar possíveis atrativos para *H. hampei*, ainda não se chegou a um consenso sobre quais voláteis emitidos pelos frutos de café poderiam ser responsáveis pela atratividade da broca. Adicionalmente, poucas variedades de café foram estudadas até hoje. Assim, a meta deste trabalho foi avaliar a produção de compostos orgânicos voláteis pelos frutos verdes de três variedades comerciais de café: Catuai, IBC-Palma e Obatã e a influência destes voláteis sobre o comportamento de busca de fêmeas de *H. hampei*. Para isto, foram conduzidas aerações de frutos verdes de cada uma das variedades. As amostras de aeração foram analisadas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas para identificação química dos compostos, e por cromatografia gasosa acoplada à detecção de ionização de chama para a quantificação dos compostos orgânicos voláteis. Para avaliar a atratividade de *H. hampei* aos voláteis emitidos pelos frutos, foram conduzidos bioensaios em olfatométrica em “Y”. As análises químicas dos frutos verdes de IBC-Palma, Catuai e Obatã mostraram que as três variedades produzem perfis diferentes de voláteis, mas com alguns compostos em comum. Os principais compostos em comum foram: limoneno, (*E*)-ocimeno, conofterina (7-Metil-1,6 dioxaspiro [4.5] decano), óxido de *trans*-linalol, óxido de *cis*-linalol, linalol, (*E*)-4,8-dimetil-1,3,7-nonatrieno (DMNT), salicilato de metila, geranilacetona, β -acoradieno, α -acoradieno, (*E,E*)- α -farneseno e trimetil-1,3,7,11-tridecatetraeno (TMTT). A principal diferença entre Catuai e as outras cultivares é a produção em maior quantidade dos monoterpenos α - e β -pineno, já as fêmeas de *H. hampei* responderam aos voláteis emitidos pelos frutos com e sem infestação de coespecíficos.

¹ Bióloga, Bolsista, Dra., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

² Química, Pesquisadora, Dra., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Biólogo, Pesquisador, Dr., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Biólogo, Colaborador, Dr., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵ Biólogo, Colaborador, Dr., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁶ Biólogo, Pesquisador, Dr., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁷ Agrônoma, Pesquisadora, MsG., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁸ Agrônoma, Pesquisadora, Dra., Instituto Agronômico do Paraná

⁹ Agrônomo, Pesquisador, Dr., Embrapa - Rondônia

Introdução

A broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae), é a praga mais importante do café em todo o mundo, causando perdas significativas para os agricultores. Embora a biologia desta espécie seja bem conhecida e várias estratégias de controle foram propostas, ainda são escassos e pontuais os estudos sobre o desenvolvimento de técnicas alternativas para seu monitoramento (Brun et al., 1989; Samuels et al., 2002; Fernandes et al., 2011; Vega et al., 2015). No Brasil, este inseto foi registrado pela primeira vez em 1913, no estado de São Paulo e todas as tentativas de impedir sua disseminação foram fracassadas. O Brasil é o maior produtor de café do mundo e as perdas econômicas decorrentes dos danos provocados por *H. hampei* foram estimadas entre 215 e 358 milhões de dólares por ano (Oliveira et al., 2012).

Os machos de *H. hampei*, em geral, não deixam os frutos e após completar o desenvolvimento, acasalam e morrem dentro do mesmo fruto. Já as fêmeas, após emergirem, podem ou não acasalar com irmãos no fruto em que emergiram, ou saírem em busca de outro fruto para acasalar e/ou ovipositar. Estas últimas são conhecidas como fêmeas migrantes (Mathieu et al., 2001). Desta forma, a janela de controle destes insetos é muito estreita e por isso a dificuldade para o controle com fungos, inseticidas ou armadilhas com atrativo alimentar. Atualmente, o uso de inseticidas é o principal método utilizado para controlar *H. hampei* que visa, principalmente, atingir as fêmeas migrantes, uma vez que os inseticidas têm pouco e/ou baixa eficiência para alcançar os insetos dentro dos frutos.

A agricultura moderna enfrenta o desafio de produção de alimentos mais saudáveis, que combinado com a resistência das populações de *H. hampei* aos inseticidas, (Brun et al., 1989); se faz necessário, desenvolver novas técnicas de controle. O uso de produtos baseados em semioquímicos para gerenciar e controlar as fêmeas migrantes poderia ser uma alternativa para minimizar a necessidade de aplicação de inseticidas, auxiliando no manejo integrado desta praga.

Sabe-se que as fêmeas migrantes respondem aos voláteis do café (Ortiz et al., 2004; Mendesil et al., 2009; Jaramillo et al., 2013; Cruz-López et al., 2016). Jaramillo et al. (2013) identificaram o perfil químico de frutos de café

verde e maduro de uma variedade (*Coffea arabica* var. Ruiru 11) e relataram que os espirocetais são compostos importantes na atração de fêmeas de *H. hampei*. No entanto, não há estudos que indiquem as diferenças nos voláteis de frutos de café de diferentes variedades, como a herbivoria pode alterar este perfil de voláteis e se os mesmos influenciam no comportamento de busca de *H. hampei*. Portanto, este estudo teve como objetivo avaliar a mistura de compostos voláteis produzidos por três diferentes variedades de *C. arabica*, com e sem infestação de fêmeas de *H. hampei*, e a influência destes voláteis sobre o comportamento de busca de fêmeas coespecíficas.

Materiais e Métodos

Frutos de café: os frutos de café da var. IBC-Palma, foram obtidos de uma plantação de café no Núcleo Rural Cariru, DF, Brasil (15 ° 55 '06 "S, 47 ° 30' 09" W), da var. Catuai de uma plantação na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia em Brasília, DF, Brasil (15 ° 43 '44 "S, 47 ° 54' 22" W) e da var. Obatã do Instituto Agrônômico do Paraná (IAPAR), Londrina, PR, Brasil (IAPAR) (23 ° 21'19 "S, 51 ° 09 '46" W).

Insetos: a broca-do-café foi obtida de uma colônia mantida no IAPAR. Todos os insetos foram mantidos em salas com condições de temperatura 27±1 °C, umidade relativa 65±10% e fotoperíodo 14 L:10 E controlados.

Bioensaios comportamentais: para avaliar a influência dos voláteis constitutivos (grãos sem dano causado pelo *H. hampei*) e induzidos de frutos de café (grãos danificados pelo *H. hampei*) no comportamento de busca da broca-do-café, foram conduzidos bioensaios com fêmeas de *H. hampei* em olfatometria em "Y", sendo utilizado o olfatômetro descrito por Moraes et al. (2005) (Figura 1). O ar filtrado com carvão ativado e umidificado foi impelido para o interior do olfatômetro a 0,6 l min⁻¹ e retirado a 0,6 l min⁻¹. Antes da entrada do ar no olfatômetro este passou por seringas de vidro onde se encontravam as fontes de odor (5 frutos de café) a serem avaliadas. Uma única fêmea de *H. hampei* foi introduzida na base do tubo em "Y" e observada durante 600 s. Foi avaliada a primeira escolha, definida como o braço do olfatômetro no qual a fêmea entrou inicialmente e permaneceu por pelo menos 30 s. A cada cinco repetições, os odores avaliados foram substituídos e as posições dos braços do olfatômetro foram alteradas para evitar viés nas res-

postas das fêmeas de *H. hampei*. Cada fêmea foi utilizada apenas uma vez e foram realizadas 40 repetições para a seguinte combinação de tratamentos: (1) voláteis constitutivos de frutos verdes contrastados com ar; (2) voláteis de frutos infestados com *H. hampei*, após 24 horas, contrastado com ar; (3) voláteis constitutivos de frutos verdes contrastado com voláteis de fruto infestado com *H. hampei*. Os frutos com infestação foram obtidos colocando-se 50 frutos em uma câmara de vidro de 500 mL com 100 fêmeas de *H. hampei*. Os frutos só foram usados após 24 horas e antes do uso nos bioensaios, foram avaliados para observar se o inseto havia brocado os mesmos. Os bioensaios foram conduzidos somente com a variedade IBC-Palma.

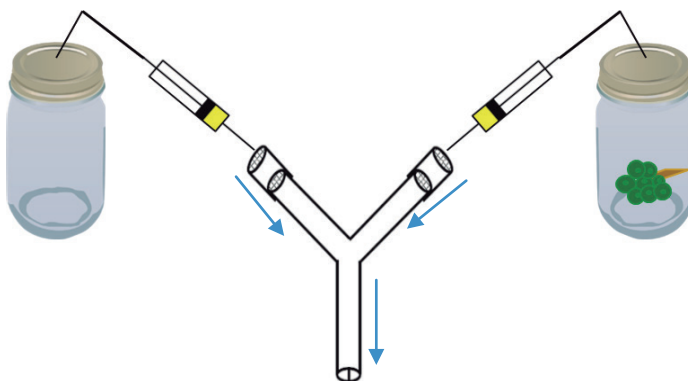


Figura 1. Desenho esquemático do olfatômetro em “Y” utilizado para testar a resposta de fêmeas de *H. hampei* aos voláteis de frutos de café. Setas indicando o sentido do fluxo de ar.

Coleta de voláteis: para a coleta de voláteis foi utilizado um sistema de aeração, com fluxo de ar contínuo. Os frutos (150 a 180 g de frutos verdes de cada variedade) foram colocados em câmaras de aeração após 24 horas da colheita. Os voláteis foram coletados a cada 24 h (var. IBC-Palma N = 14 repetições, var. Obatã N = 3 e var. Catuai N = 10, para cada tratamento). Na tampa das câmaras de aeração adaptaram-se dois tubos de vidro, um com carvão ativado por onde o ar filtrado ingressou no sistema e outro contendo o adsorvente Tenax GR (100 mg, 80-100 mesh, Alltech) que foi conectado através de um tubo de PTFE a uma bomba de vácuo, estabelecendo um fluxo de 0,6 L min⁻¹ (Moraes et al., 2009). Os voláteis adsorvidos no polímero Tenax

GR foram eluídos utilizando 500 µL de n-hexano e concentrados a 50 µL sob um fluxo de N₂. As amostras foram armazenadas a -20 °C até a serem usadas na análise por cromatografia gasosa acoplada a ionização de chamas (CG-DIC) e espectrometria de massas (CG-EM).

Análise química: as amostras de voláteis foram analisadas quantitativamente por cromatografia gasosa acoplada a um detector de ionização de chamas (Agilent 7890A) usando uma coluna apolar (60 m × 0,25 mm DI e 0,25 µm de espessura do filme (DB-5MS, J&W Scientific, Folsom, CA, EUA) (para as variedades IBC-Palma e Obatã) e uma coluna apolar (30 m × 0,25 mm DI e 0,25 µm de espessura do filme (DB-5MS, J&W Scientific, Folsom, CA, USA) (para a variedade Catuai). Os comprimentos das colunas utilizadas ao longo dos estudos foram diferentes, mas isto não comprometeu a resolução dos picos nas análises. A temperatura do forno foi mantida a 50 °C por 2 min. e teve um aumento programado de 5 °C min⁻¹ até atingir temperatura de 180 °C, e então um aumento de 10 °C min⁻¹ até 250 °C e mantido nesta temperatura por 20 min. O gás carreador foi o hélio. O detector foi mantido à temperatura de 270 °C. Um microlitro de tetracosano foi adicionado como padrão interno a cada amostra de aeração para uma concentração final de 9.8 µg mL⁻¹. Um microlitro de cada amostra de aeração foi injetado no modo sem divisão de fluxo (*splitless*). As quantidades dos voláteis liberados pelos frutos de café foram calculadas baseada na área do padrão interno em relação a área do pico no cromatograma de cada composto. Os dados foram analisados com o software EZChrom Elite (Agilent, Califórnia, EUA). Para a análise qualitativa, amostras selecionadas foram analisadas utilizando um CG-EM (Agilent 5975-MSD) equipado com um analisador quadrupolar, acoplado a uma coluna DB-5MS apolar (30 m x 0,25 mm ID e 0,25 µm, J&W Scientific, Folsom, CA, EUA). Com injeção no modo *splitless* e o hélio como gás de arraste. A ionização foi realizada por impacto de elétrons (70 eV e temperatura da fonte a 200 °C). O mesmo programa de temperatura utilizado nas análises quantitativas foi utilizado nas análises por CG-EM. Os dados foram analisados com o software ChemStation 2.1 (Agilent, Califórnia, EUA). Os compostos foram identificados por comparação do seu padrão de fragmentação dos espectros de massas, com os espectros das bases de dados de bibliotecas (NIST, 2008) ou de espectros publicados. As identificações dos compostos foram confirmadas utilizando padrões autênticos. A estereoquímica do linalol e do limoneno em cada uma das variedades foi determinada usando um equipa-

mento de cromatografia gasosa, acoplada a um detector de espectrometria de massas com analisador quadrupolar (Agilent 5975-MSD, EUA) equipado com uma coluna quiral Beta DEX -325 (30 m x 0,25 mm DI 0,5 µm de espessura do filme, Supelco, EUA). No programa de temperatura usado, a temperatura inicial do forno foi de 50 °C por 2 min e foi programado para aumentar 2 °C min⁻¹ até atingir 210 °C, onde foi mantida por 10 min. O gás carreador foi o hélio. Um microlitro da solução contendo ambos isômeros, *R*- e *S*-linalol ou *R*- e *S*-limoneno, foi injetada na coluna quiral para estabelecer a separação dos enantiômeros. Esta foi seguida pela coinjeção das amostras de aeração contendo os voláteis das variedades de café aqui estudadas.

Químicos: n-Hexano (95%) e Tenax GR foram obtidos da Restek (Bellefonte, EUA). hexanal (99%), octanal (95%), nonanal (95%), decanal (98%), dodecano (99%), tridecano (99%), verbenona (99%), ácido nonanoico (96%), acetato de isobornila (95%), ácido decanoico (98%), α-copaeno (90%), nerolidol (mistura de isômeros 98%), 6-metil-5-hepten-2-ona (98%), α-canfeno (95%), nonano (99%), α-pineno (99%), benzaldeído (99%), β-pineno (99%), benzo-tiazol (96%), 3-metilanisol (99%), sabineno (75%), α-terpineol (90%), geranil acetona (97%) e ocimeno (mistura de isômeros > 90%) foram obtidos da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha). Linalol (97%) e limoneno (95%) foram obtidos da TCI America (Portland, EUA). (*E,E*)-α-farneseno, (*E*)-4,8-dimetil-1,3,7-nonatrieno (DMNT) e (*E,E*)-4,8,12-trimetil-1-,3,7,11-tridecatetraeno (TMTT) foram sintetizados do geraniol e (*E,E*)-farnesol, respectivamente e fornecidos pelo Dr. Michael Birkett do Rothamsted Research (UK).

Análise estatística: os dados da resposta de primeira escolha de fêmeas de *H. hampei* para cada tratamento nos bioensaios com olfatômetro em “Y”, foram analisados usando regressão logística para estimar a probabilidade de cada escolha. O modelo ajustou a escolha do inseto (esquerda ou direita) em que o odor teste foi apresentado como a variável independente. A hipótese de não preferência (isto é, a proporção de escolha de cada odor = 0,5) foi analisada pelo teste de Chi-quadrado de Wald.

A quantidade total de voláteis foi analisada usando modelos lineares generalizados com distribuição Gama e função de ligação inversa, seguida pela análise de variância. As diferenças nos perfis químicos de frutos com e sem injúria de herbivoria, entre as variedades foram acessadas através da análise de componentes principais usando o software PAST versão 2.17.

Resultados

Estudos comportamentais

Os bioensaios conduzidos no olfatômetro em “Y” mostraram que as fêmeas de *H. hampei* preferem os voláteis constitutivos liberados pelos frutos verdes quando contrastados ao ar ($\chi^2 = 6,092$, $p = 0,005$), e também preferem os voláteis emitidos pelos frutos verdes infestados por *H. hampei* em relação ao ar ($\chi^2 = 6,09$, $p = 0,005$). No entanto, as fêmeas preferem os voláteis de frutos sadios em relação aos voláteis de frutos infestados por coespecíficos ($\chi^2 = 3,01$, $p = 0,05$) (Figura 2).

Análise de voláteis

A análise química das amostras de voláteis de aeração das três diferentes variedades de *C. arabica*, mostrou a presença de 33 compostos majoritários na variedade Catuai (Tabela 1, Figura 3), 26 compostos majoritários na variedade IBC-Palma (Tabela 1, Figura 4) e 19 compostos na variedade Obatã (Tabela 1, Figura 5). A quantidade total de voláteis constitutivos produzidos não diferiu entre as três variedades (ANODEV, $\chi^2 = 3,377$, $df = 2$, $p = 0,184$) (Figura 6). Já a quantidade total de voláteis produzida pelos frutos infestados por *H. hampei* diferiu (ANODEV, $\chi^2 = 12,503$, $df = 2$, $p = 0,002$). Os frutos infestados da variedade IBC-Palma e Obatã produziram mais voláteis que os frutos da variedade Catuai ($t = -2,77$, $df = 26$, $p = 0,01$ para a variedade IBC-Palma e $t = 2,9$, $df = 26$, $p = 0,007$ para a variedade Obatã) (Figura 6). Quando os voláteis produzidos pelos frutos infestados e não infestados por *H. hampei* foram comparados, somente a variedade IBC-Palma não diferiu entre os tratamentos (ANODEV, $\chi^2 = 0,205$, $df = 1$, $p = 0,650$) (Figura 6). Os frutos sadios da variedade Catuai produziram mais voláteis do que os frutos infestados (ANODEV, $\chi^2 = 6,418$, $df = 1$, $p = 0,011$), para variedade Obatã os frutos sadios produziram mais voláteis do que frutos não infestados (ANODEV, $\chi^2 = 46,229$, $df = 1$, $p < 0,001$) (Figura 6).

A análise de componentes principais separou as três variedades pelo perfil químico dos voláteis produzidos (Figura 7). As duas primeiras componentes da análise explicam 64% da variabilidade dos dados. A separação ocorreu

devido à presença de compostos específicos na mistura de voláteis de cada uma das variedades estudadas. Os compostos benzaldeído, ácidos deca-noico e hexanoico, sabineno, 6-metil-5-hepten-2-ona, verbenona, α -copaeno e dois sesquiterpenos não identificados estão associados com a variedade IBC-Palma (Tabela 1, Figura 7). Os compostos cânfora, hexanal, α -tujeno, α -pineno, octanal, β -pineno, 2-pentilfurano, α -terpineol e acetato de isobornila foram identificados na variedade Catuai. Os compostos 6-metil-5-hepten-2-ona e 3-metil anisol estão associados com a variedade Obatã, e a ausência dos monoterpenos α -pineno e β -pineno foi responsável pela separação na PCA no lado negativo do eixo Y (Tabela 1, Figura 7). Além dos compostos discriminantes, vários compostos foram comuns às três variedades como: limoneno, (*E*)-ocimeno, conofterina, óxido de (*E*)-linalol, óxido de (*Z*)-linalol, linalol, (*E*)-4,8-dimetil-1,3,7-nonatrieno (DMNT), salicilato de metila, geranil acetona, α -acoradieno, β -acoradieno, (*E,E*)- α -farneseno e trimetil-1,3,7,-11-tridecatetraene (TMTT) (Figura 7).

A análise por cromatografia gasosa com coluna quiral mostrou que as três variedades de café produzem ambos os isômeros de linalol (*R* e *S*) e o isômero *R* do composto limoneno (Figuras 8 A-C).

Discussão

As fêmeas de *H. hampei* reconheceram os voláteis constitutivos dos frutos de café e dos frutos infestados por coespecíficos, preferindo os voláteis dos frutos não infestados. Esse comportamento pode estar relacionado a uma estratégia de sucesso na reprodução, onde as fêmeas preferem ovipositar em frutos ainda não infestados para evitar superpopulação e consequentemente competição pelo alimento.

A análise de componentes principais revelou que os perfis de voláteis das três variedades de *C. arabica* avaliadas foram diferentes. Alguns compostos, tais como limoneno (↓), (*E*)-ocimeno (↑), conofterina(↑), DMNT(↑) e TMTT(↑) tiveram sua produção alterada quando os frutos de café sofreram injúria por herbivoria. O perfil químico de voláteis de frutos de café das variedades analisadas diferem dos apresentados em trabalhos anteriores (Mathieu et al., 2001; Cantergiani et al., 2001; Ortiz et al., 2004; Mendesil et al., 2009; Jaramillo et al., 2013). Estas diferenças, podem estar relacionadas à variabilidade da constituição genética das variedades, dos estágios fenológicos e de diferenças nos processos de cultivo adotados pelos agricultores, uma vez que todos esses fatores podem alterar o perfil químico de voláteis e não voláteis das plantas. Adicionalmente, foram identificados compostos comuns às três variedades de café aqui estudadas e com trabalhos prévios, como os compostos limoneno, (*E*)-ocimeno, conofterina, linalol, óxido de *cis*- e *trans*-linalol, salicilato de metila e DMNT. O homoterpeno TMTT foi identificado nas variedades IBC-Palma, Catuai e Obatã, e foi a primeira vez que este composto foi identificado em frutos de café.

O perfil químico de voláteis obtidos nas variedades brasileiras de café mostrou similaridade com o perfil químico identificado por Jaramillo et al. (2013). Interessante notar que na variedade IBC-Palma, que foi usada nos bioensaios, a quantidade de DMNT e TMTT aumentou em relação aos frutos não infestados. Esses compostos são conhecidos por agirem como repelente aos herbívoros (Moraes et al. 2009; Oluwafemi et al. 2011; Hegde et al. 2011; 2012; Magalhães et al., 2012, 2016) e atraente de inimigos naturais (Bruce et al. 2008; Moraes et al. 2009; Tamiru et al. 2011). Deste modo, esses compostos podem ser os responsáveis pela preferência de fêmeas de *H. hampei*

pelos voláteis dos frutos constitutivos, quando estes foram contrastados a frutos infestados nos bioensaios em olfatometria em Y.

Os resultados mostraram que os frutos infestados possuem diferentes perfis químicos de voláteis e que influenciam o comportamento de *H. hampei*. Estudos futuros, deveriam se concentrar na avaliação dos semioquímicos sintéticos em diferentes combinações para estabelecer seu potencial para o manejo de *H. hampei*. Além disso, diferentes variedades de café poderiam ser avaliadas para caracterizar um espectro mais amplo da variabilidade na produção dos metabólitos secundários voláteis e os principais fatores que influenciam a produção desses compostos.

Referências

- BRUCE, T. J.; MATTHES, M.; CHAMBERLAIN, K.; WOODCOCK, C. M.; MOHIB, A.; WEBSTER, B.; SMART, L. E.; BIRKETT, M. A.; PICKETT, J. A.; NAPIER, J. A. Multitrophic interactions involving *Arabidopsis thaliana* investigated by means of *cis*-jasmonate defence activation. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, p. 4553-4558, 2008.
- BRUN, L. O.; MARCILLAUD, C.; GUADICHON, V.; SUCLIKNG, D. M. Endosulfan resistance in *Hypothenemus hampei* (coleoptera: Scolytidae) in new Caledonia. **Journal of Economic Entomology**, v. 82, p. 1311-1316, 1989.
- CANTERGIANI, E.; BREVARD, H.; KREBS, Y.; FERIA-MORALES, A.; AMADO, R.; YERETZIAN, C. Characterisation of the aroma of green Mexican coffee and identification of mouldy/earthy defect. **European Food Research and Technology**, v. 212, p. 648-657, 2001.
- CRUZ-LOPES, L.; DÍAZ-DÍAZ, B.; ROJAS, J. C. Coffee volatiles induced after mechanical injury and beetle herbivory attract the coffee berry borer and two of its parasitoids. **Arthropod-Plant Interactions**, v. 10, n. 2, p.151-159, 2016.
- FERNANDES, F. L.; PICANÇO, M. C.; CAMPOS, S. O.; BASTOS, C. S.; CHEDIAK, M.; GUEDES, R. N. C.; SILVA, R. S. Economic injury level for the coffee berry borer (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) using attractive traps in Brazilian coffee fields. **Journal of Economic Entomology**, v. 104, p. 1909-1917, 2011.
- HEGDE, M.; OLIVEIRA, J. N.; COSTA, J. G. da; BLEICHER, E.; SANTANA, A. E. G.; BRUCE, T. J. A.; CAULFIELD, J.; WOODCOCK, C. M.; PICKETT, J. A.; BIRKETT, M. A. Identification of semiochemicals involved in tritrophic interactions between cotton, *Gossypium hirsutum*, cotton aphids, *Aphis gossypii*, and the predatory lacewing, *Chrysoperla lucasina*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 37, p. 741-750, 2011.
- HEGDE, M.; OLIVEIRA, J. N.; COSTA, J. G. da; BLEICHER, E.; SANTANA, A. E. G.; BRUCE, T. J. A.; CAULFIELD, J.; WOODCOCK, C. M.; PICKETT, J. A.; BIRKETT, M. A. Aphid antixenosis in cotton is activated by the natural plant activator *cis*-jasmonate. **Phytochemistry**, v. 72, p. 81-88, 2012.
- JARAMILLO, J.; TORTO, B.; MWENDA, D.; TROEGER, A.; BORGEMESITER, C.; POEHLING, H-M.; FRANCKE, W. Coffee berry borer joins bark beetles in coffee klatch. **Plos One**, v. 8, n. 9, p. e74277, 2013.
- MAGALHÃES, D. M.; BORGES, M.; LAUMANN, R. A.; SUJII, E. R.; MAYON, P.; CAULFIELD, J. C.; MIDEGA, C. A. O.; KHAN, Z. R.; PICKETT, J. A.; BIRKETT, M. A. 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. 38, p. 1528-1538, 2012.
- MAGALHÃES, D. M.; BORGES, M.; LAUMANN, R. A.; WOODCOCK, C. M.; PICKETT, J. A.; BIRKETT, M. A.; BLASSIOLI-MORAES, M. C. Influence of two acyclic homoterpenes (tetranorterpenes) on the foraging behavior of *Anthonomus grandis* Boh. **Journal of Chemical Ecology**, v. 42, p. 305-313, 2016.
- MATHIEU, F.; GAUDICHON, V.; BRUN, L. O.; FRÉTOT, B. Effect of physiological status on olfactory and visual responses of female *Hypothenemus hampei* during host plant colonization. **Physiological Entomology**, v. 26, p. 189-193, 2001.

MENDESIL, E.; BRUCE, T. J. A.; WOODCOCK, C. M.; CAUFIELD, J. C.; SEYOUM, E.; PICKETT, J. A. Semiochemicals used in host location by the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 35, p. 944-950, 2009.

MORAES, M. C. B.; LAUMANN, R. A.; SUJII, E. R.; PIRES, C.; BORGES, M. Induced volatiles in soybean and pigeon pea plants artificially infested with the neotropical brown stink bug, *Euschistus heros*, and their effect on the egg parasitoid, *Telenomus podisi*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 115, p. 227-237, 2005.

MORAES, M. C. B.; SERENO, F. T. P. S.; MICHEREFF, M. F. F.; PAREJA, M.; LAUMANN, R. A.; BIRKETT, M. A.; PICKETT, J. A. BORGES, M. Attraction of the stink bug egg parasitoid, *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae) to defence signals from soybean, *Glycine max* (Fabaceae), activated by treatment with *cis*-jasmone. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 131, p. 178-188, 2009.

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. **Nist/Epa/Nih Mass Spectral Library (NIST 08) and NIST Mass Spectral Search Program (Version 2.0f) for use with Microsoft Windows**: user's guide. Gaithersburg: NIST, 2008. Disponível em: <<http://www.nist.gov/srd/upload/Ver20Man.pdf>>. Acesso em: 10 fev. 2016.

OLIVEIRA, C. M.; AUAD, A. M.; MENDES, S. M.; FRIZZAS, M. R. Economic impact of exotic pests in Brazilian agriculture. **Journal of Applied Entomology**, v. 137, p. 1-15, 2012.

OLUWAFEMI, S.; BRUCE, T. J. A.; PICKETT, J. A.; TON, J.; BIRKETT, M. A. *Behavioural Responses of the Leafhopper, Cicadulina storeyi* China, a Major Vector of Maize Streak Virus, to Volatile Cues from Intact and Leafhopper-Damaged Maize. **Journal of Chemical Ecology**, v. 37, p. 40-48, 2011.

ORTIZ, A.; ORTIZ, A.; VEJA, F. E.; POSADA, F. Volatile composition of coffee berries at different stages of ripeness and their possible attraction to the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 5914-5918, 2004.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: a Language and Environment for Statistical Computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2009.

SAMUELS, R. I.; PEREIRA, R.; GAVA, C. A. T. Infection of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) by Brazilian isolates of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisoplae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes). **Biocontrol Science and Technology**, v. 12, p. 631-635, 2002.

TAMIRU, A.; BRUCE, T. J. A.; WOODCOCK, C. M.; CAULFIELD, J. C.; MIDEGA, C. A. O.; OGOL, C. K. P. O.; MAYON, P.; BIRKETT, M. A.; PICKETT, J. A.; KHAN, Z. R. Maize landraces recruit egg and larval parasitoids in response to egg deposition by a herbivore. **Ecological Letters**, v. 14, p. 1075-1083, 2011.

VEGA, F. E.; BROWN, S. M.; CHEN, H.; SHEN, E.; NAIR, M. B.; CEJA-NAVARRO, J. A.; BRODIE, E. L.; INFANTE, F.; DOWD, P. F.; PAIN, A. Draft genome of the most devastating insect pest of coffee worldwide: the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. **Scientific Reports**, v. 5, p. 12525, 2015.

Tabela 1. Média $\pm$ erro padrão da quantidade de voláteis liberada em 24 horas (ng /24 h/g de fruto) pelos frutos sem injúria e frutos infestados com *Hyphotenemus hampei* em diferentes variedades de café.

Compounds	RI	Palma	Palma infestada	Obatã	Obatã infestada	Catuai	Catuai infestada
Hexanal	805	-				0,032 $\pm$ 0,006	0,064 $\pm$ 0,017
Nonano	900	traços	traços	traços	traços	0,098 $\pm$ 0,012	0,217 $\pm$ 0,074
α -Tujano*	929	-				0,077 $\pm$ 0,027	0,051 $\pm$ 0,009
α -Pinoeno	937	0,111 $\pm$ 0,046	0,113 $\pm$ 0,036	traços	traços	1,316 $\pm$ 0,539	0,794 $\pm$ 0,249
Canfeno	954	-				0,366 $\pm$ 0,059	0,151 $\pm$ 0,047
Benzaldeído	961	0,104 $\pm$ 0,037	0,045 $\pm$ 0,014				
Sabineno	977	-				0,094 $\pm$ 0,042	0,032 $\pm$ 0,007
Ácido hexanoico	979	0,300 $\pm$ 0,112	0,074 $\pm$ 0,022				
β -Pinoeno	980	-		traços	traços	0,606 $\pm$ 0,213	0,321 $\pm$ 0,085
6-Metil-5-hepten-2-ona	986	0,446 $\pm$ 0,158	0,248 $\pm$ 0,086	0,304 $\pm$ 0,076	0,122 $\pm$ 0,024	traços	traços
2-Pentilfurano*	990	-	-	-		0,456 $\pm$ 0,131	0,236 $\pm$ 0,078
Octanal	1003	-	-	-		0,541 $\pm$ 0,227	0,188 $\pm$ 0,057
3-Metilanisol*	1022	0,100 $\pm$ 0,036	0,187 $\pm$ 0,092	0,521 $\pm$ 0,025	0,322 $\pm$ 0,069		
R-Limoneno	1032	1,114 $\pm$ 0,320	0,385 $\pm$ 0,133	0,543 $\pm$ 0,045	0,122 $\pm$ 0,017	0,324 $\pm$ 0,127	0,121 $\pm$ 0,031
(E)-Ocimeno	1049	0,105 $\pm$ 0,043	0,979 $\pm$ 0,361	0,017 $\pm$ 0,003	0,008 $\pm$ 0,001	0,143 $\pm$ 0,047	0,049 $\pm$ 0,011
Conoforina**	1057	0,107 $\pm$ 0,051	0,878 $\pm$ 0,253	0,484 $\pm$ 0,030	0,366 $\pm$ 0,046	0,077 $\pm$ 0,022	0,227 $\pm$ 0,076
Óxido de (Z)-linalol *	1073	0,186 $\pm$ 0,109	0,064 $\pm$ 0,016	0,144 $\pm$ 0,027	0,096 $\pm$ 0,008	0,231 $\pm$ 0,073	0,063 $\pm$ 0,011
Óxido de (E)-linalol*	1088	0,111 $\pm$ 0,056	0,096 $\pm$ 0,018	0,453 $\pm$ 0,028	0,466 $\pm$ 0,074	0,161 $\pm$ 0,041	0,058 $\pm$ 0,012
R,S-Linalol	1099	0,239 $\pm$ 0,089	0,032 $\pm$ 0,092	0,861 $\pm$ 0,163	0,596 $\pm$ 0,237	0,927 $\pm$ 0,268	0,099 $\pm$ 0,018
Nonanal	1103			0,300 $\pm$ 0,053	0,175 $\pm$ 0,073	0,889 $\pm$ 0,194	0,329 $\pm$ 0,066
Éster desconhecido	1105	1,694 $\pm$ 0,369	0,617 $\pm$ 0,145				
DMNT	1114	0,178 $\pm$ 0,051	0,518 $\pm$ 0,094	0,178 $\pm$ 0,039	0,050 $\pm$ 0,021	0,306 $\pm$ 0,071	0,076 $\pm$ 0,016
Cânfora*	1143					0,092 $\pm$ 0,023	0,021 $\pm$ 0,001
Salicilato de metila	1193	0,184 $\pm$ 0,092	0,135 $\pm$ 0,069	0,067 $\pm$ 0,023	0,013 $\pm$ 0,001	0,391 $\pm$ 0,093	0,023 $\pm$ 0,001
α -Terpineol	1197					0,078 $\pm$ 0,023	0,135 $\pm$ 0,021
Dodecano	1200	0,085 $\pm$ 0,031	0,038 $\pm$ 0,015	0,086 $\pm$ 0,048	0,074 $\pm$ 0,046	0,156 $\pm$ 0,051	0,003 $\pm$ 0,002
Verbenono	1203	1,049 $\pm$ 0,168	1,027 $\pm$ 0,235				
Decanal	1205			0,246 $\pm$ 0,096	0,111 $\pm$ 0,067	0,501 $\pm$ 0,091	0,021 $\pm$ 0,001
Benzotiazol	1237	0,148 $\pm$ 0,058	0,137 $\pm$ 0,062			0,006 $\pm$ 0,004	0,012 $\pm$ 0,004
Ácido nonanoico	1274	0,073 $\pm$ 0,020	0,066 $\pm$ 0,031			0,044 $\pm$ 0,019	0,014 $\pm$ 0,001
Acetato de isobornila*	1288					0,114 $\pm$ 0,041	0,047 $\pm$ 0,014

Compounds	RI	Palma	Palma infestada	Obatã	Obatã infestada	Catuai	Catuai infestada
Tridecano	1300	0,396 ± 0,101	0,163 ± 0,051	-	-	0,364 ± 0,113	0,063 ± 0,021
Ácido decanoico	1382	0,021 ± 0,021	0,022 ± 0,007	-	-	-	-
α-Copaeno	1386	0,003 ± 0,002	0,032 ± 0,013	-	-	-	-
Sesquiterpeno não identificado	1406	0,269 ± 0,053	0,068 ± 0,022	-	-	-	-
Geranilacetona	1449	0,571 ± 0,139	0,227 ± 0,072	0,089 ± 0,037	0,024 ± 0,001	0,111 ± 0,036	0,044 ± 0,001
β-Acoradieno*	1471	0,021 ± 0,012	0,025 ± 0,011	-	-	0,007 ± 0,001	0,106 ± 0,038
α-Acoradieno*	1478	0,124 ± 0,037	0,179 ± 0,084	0,033 ± 0,004	0,037 ± 0,003	0,026 ± 0,013	0,233 ± 0,044
Sesquiterpeno não identificado	1487	0,004 ± 0,002	0,035 ± 0,013	-	-		
E,E-α-farneseno	1507	0,079 ± 0,032	0,495 ± 0,244	0,019 ± 0,011	0,011 ± 0,125	0,032 ± 0,028	0,002 ± 0,001
TMTT	1573	0,111 ± 0,026	0,285 ± 0,079	0,029 ± 0,003	0,068 ± 0,032	0,413 ± 0,075	0,069 ± 0,019

*Tentativa de identificação usando o padrão de fragmentação da biblioteca NIST (2008) e índice de retenção. Padrões autênticos não estavam disponíveis.

**A configuração absoluta não foi confirmada neste estudo. Para isto, veja Jaramillo et al. (2013).

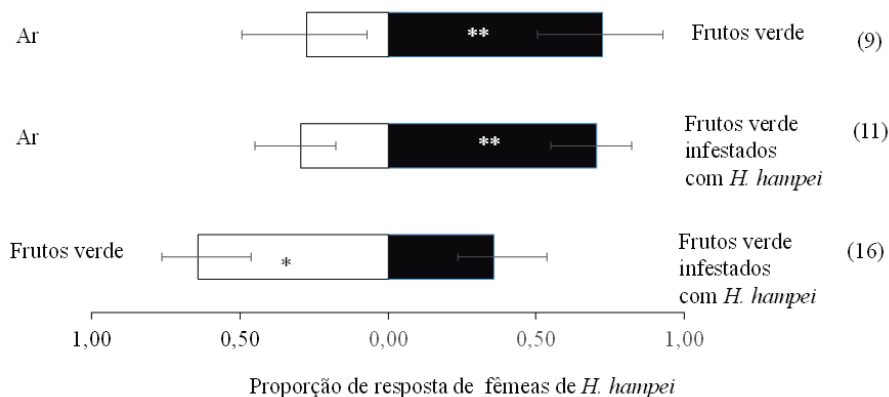


Figura 2. Resposta das fêmeas de *Hypothenemus hampei* nos bioensaios em olfatometria em “Y” aos voláteis emitidos por frutos verdes de café da variedade IBC palma com e sem infestação de coespecíficos. Asteriscos, indicam diferenças significativas entre os tratamentos, usando o teste de Wald com distribuição χ^2 e nível de significância de 5%. Os números entre parênteses, representam a quantidade de insetos que não responderam aos estímulos avaliados.

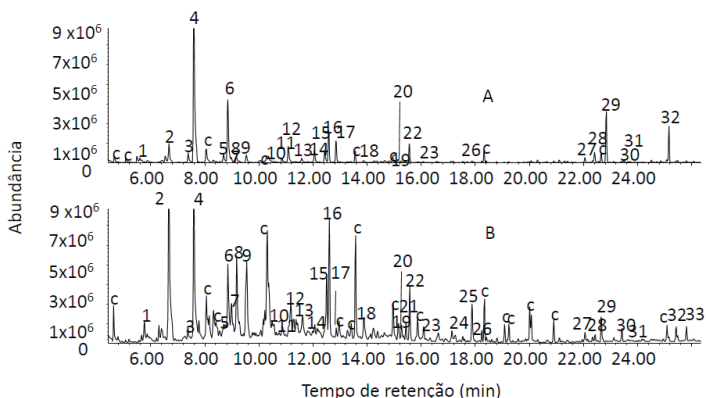


Figura 3. Perfil químico do CG-EM dos voláteis obtidos da aeração de 150 g de frutos de café da variedade Catuai. A. sem injúria (sádios) e B. infestados com *Hyphotenemus hampei*. 1) Hexanal, 2) nonano, 3) α -tujeno, 4) α -pineno, 5) sabineno, 6) β -pineno, 7) 6-metil-5-hepten-2-ona, 8) 2-pentilfurano, 9) octanal, 10) limoneno, 11) (*E*)-ocimeno, 12) conofterina, 13) óxido de *cis*-linalol 14) óxido de *trans*-linalol, 15) linalol, 16) nonanal, 17) DMNT, 18) canfora, 19) salicilato de metila, 20) α -terpineol, 21) dodecano, 22) decanal, 23) benzotiazol, 24) ácido nonanoico, 25) acetate de isobornila, 26) tridecano, 27) geranilacetona, 28) β -acoradieno, 29) α -acoradieno, 30) pentadecano, 31) (*E,E*)- α -farneseno, 32) TMTT, 33) hexadecano..

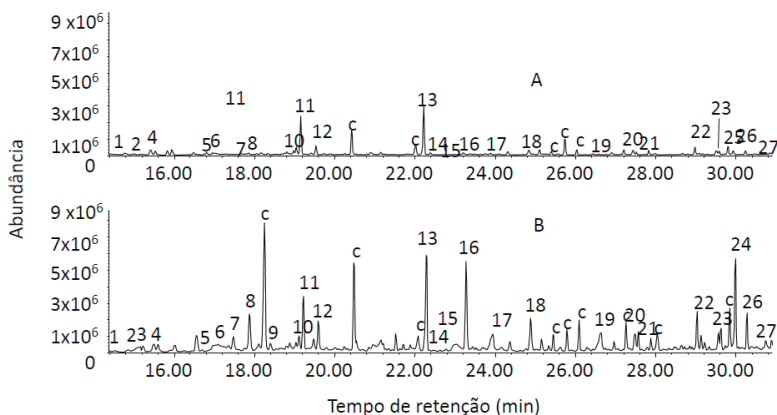


Figura 4. Perfil químico do CG-EM dos voláteis obtidos da aeração de 150 g de frutos de café da variedade IBC-Palma. A. sem injúria (sádios) e B. infestados com *Hyphotenemus hampei*. 1) α -pineno, 2) benzaldeído, ácido hexanoico, 3) 6-metil-5-hepten-2-ona, 4) 3-metil-anisól, 5) limoneno, 6) (*E*)-ocimeno, 7) conofterina, 8) óxido de *cis*-linalol, 9) óxido de *trans*-linalol, 10) linalol, 11) DMNT, 12) salicilato de metila, 13) dodecano, 14) verbenona, 15) benzotiazol, 16) ácido nonanoico, 17) tridecano, 18) ácido decanoico, 19) α -copaeno, 20) sesquiterpeno não identificado, 21) geranilacetona, 22) β -acoradieno, 23) α -acoradieno, 24) pentadecano, 25) (*E,E*)- α -farneseno, 26) TMTT.

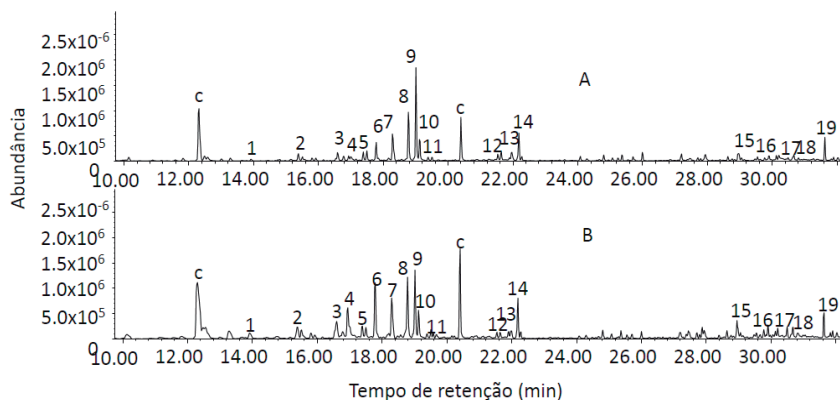


Figura 5. Perfil químico do CG-EM dos voláteis obtidos da aeração de 150 g de frutos de café da variedade Obatã. A. sem injúria (sadios) e B. infestados com *Hyphotenemus hampei* 1) α -pineno, 2) 6-metil-5-hepten-2-one, 3) 3-metil-anisol, 4) limoneno, 5) (*E*)-ocimeno, 6) conoforina, 7) óxido de *cis*-linalol, 8) óxido de *trans*-linalol, 9) linalol, 10) nonanal, 11) DMNT, 12) α -terpineol, 13) dodecano, 14) salicilato de metila, 15) geranilacetona, 16) β -acoradieno, 17) α -acoradieno, 18) (*E,E*)- α -farneseno, 19) TMTT.

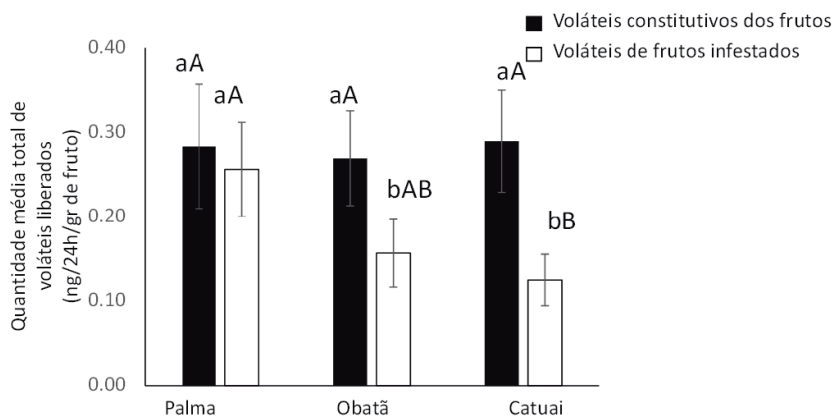


Figura 6. Quantidade média total de voláteis produzidos por frutos sadios (voláteis constitutivos) e por frutos infestados por *Hyphotenemus hampei* em três variedades de *Coffea arabica*. Letras diferentes, indicam diferenças, entre os tratamentos (ANODEV seguindo pela análise de contraste). As letras maiúsculas indicam diferenças entre as variedades, enquanto as letras minúsculas mostram diferenças nos tratamentos na mesma variedade.

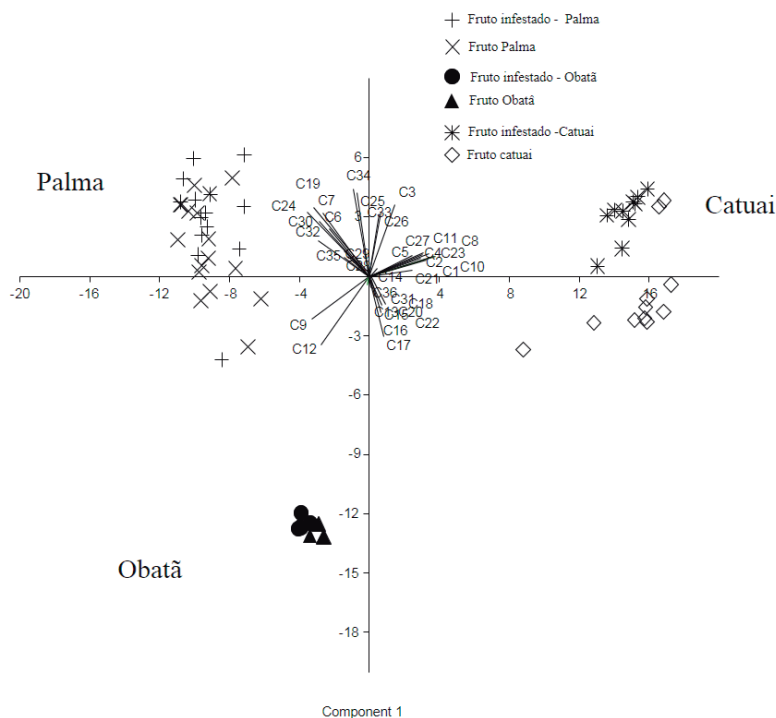


Figura 7. Análise de componentes principais mostrando a separação de três variedades de café devido, às diferenças na composição química dos voláteis produzidos. C1) hexanal, C2) α -tujeno, C3) α -pineno, C4) canfeno, C5) sabineno, C6) benzaldeído, C7) ácido hexanoico, C8) β -pineno, C9) 6-metil-5-hepten-2-ona, C10) 2-pentilfurano, C11) octanal, C12) 3-metilanisol, C13) limoneno, C14) (*E*)-ocimeno, C15) conofterina, C16) óxido de cis-linalol, C17) óxido de trans-linalol, C18) linalol, C19) éster não identificado, C20) DMNT, C21) canfora, C22) salicilato de metila, C23) α -terpineol, C24) verbenona, C25) benzotiazol, C26) ácido nonanoico, C27) acetate de isobornila, C28) ácido decanoico, C29) α -copaeno, C30) sesquiterpeno não identificado, C31) geranilacetona, C32) sesquiterpeno não identificado, C33) β -acoradieno, C34) α -acoradieno, C35) (*E,E*)- α -farneseno, C36) TMTT.

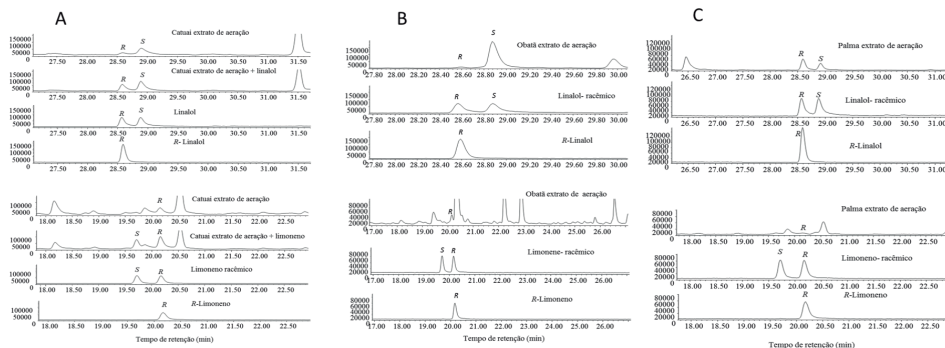


Figura 8. Perfil cromatográfico de amostras de aeração contendo os voláteis de fruto de café das variedades A. Catuai, B. Obatã e C. IBC-Palma, obtidos usando uma coluna quiral para confirmar a configuração absoluta dos compostos linalol (os três cromatogramas superiores) e limoneno (os três cromatogramas inferiores).

Exemplares desta edição
podem ser adquiridos na:

**Embrapa Recursos Genéticos e
Biotecnologia**

Parque Estação Biológica
PqEB, Av. W5 Norte (final)
70970-717, Brasília, DF
Fone: +55 (61) 3448-4700
Fax: +55 (61) 3340-3624
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

1ª edição

1ª impressão (ano): tiragem

Impressão e acabamento



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



Comitê Local de Publicações
da Unidade Responsável

Presidente

Marília Lobo Burle

Secretário-Executivo

Ana Flávia do N. Dias Côrtes

Membros

Antonieta Nassif Salomão; Diva Maria Alencar
Dusi; Francisco Guilherme V. Schmidt; João
Batista Teixeira; João Batista Tavares da Silva
Maria Cléria Valadares Inglis; Tânia da Silveira
Agostini Costa

Supervisão editorial

Ana Flávia do N. Dias Côrtes

Revisão de texto

Marina Rito

Normalização bibliográfica

Rosameres Rocha Galvão

Tratamento das ilustrações

Adilson Werneck

Projeto gráfico da coleção

Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica

Adilson Werneck

Foto da capa

Ana Meneghin e José Nilton Costa