

SÉRGIO TINÔCO VERÇOSA DE MAGALHÃES

EFEITO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE *Lycopersicon hirsutum* f.
glabratum (PI 134417) SOBRE A TRAÇA-DO-TOMATEIRO *Tuta absoluta*

Tese apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das
exigências do Curso de Agroquímica,
para obtenção do título de “Magister
Scientiae”.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
OUTUBRO - 1998

SÉRGIO TINÔCO VERÇOSA DE MAGALHÃES

EFEITO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE *Lycopersicon hirsutum* f.
glabratum (PI 134417) SOBRE A TRAÇA-DO-TOMATEIRO *Tuta absoluta*

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Curso de Agroquímica, para obtenção do título de “Magister Scientiae”.

APROVADA: 9 de fevereiro de 1998.

Aos meus pais Albino e Hílman,
Aos meus irmãos Ricardo e Ana Cristina,
À minha esposa e companheira Rosária,
À minha filha Amanda.

AGRADECIMENTO

À Universidade Federal de Viçosa, em especial aos seus Departamento de Química e Biologia Animal, pela oportunidade de realização do Mestrado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao professor Gulab Newandram Jham, pela orientação, pela amizade, pelo incentivo e pelas oportunidades oferecidas no decorrer de nossa convivência.

Ao professor Marcelo Coutinho Picanço, pela orientação, pela amizade, pelo incentivo e pelas oportunidades oferecidas.

Aos professores Antonio Jacinto Demuner, Marcelo Coutinho Picanço, Célia Regina Álvares Maltha e Fernando P. Reis, pelos ensinamentos, pelo entusiasmo das aulas, pelo profissionalismo e pelas experiências transmitidas.

À secretária da Pós-Graduação em Agroquímica, Solange Starling Brandão, pela compreensão, pelo apoio e pela amizade durante esses anos.

Aos funcionários do Departamento de Química, da Horta do Fundão e do Departamento de Biologia Animal, especialmente a Eduardo Monteiro, Francisco Ribeiro, Educar Rezende, Antônio, Onesina Batista e José Bering, pela agradável convivência e pelo inestimável apoio.

Ao meu amigo e companheiro de estudo e de curso Reinaldo Gramacho, pelo incentivo, pela compreensão e pelo apoio nos estudos das disciplinas de Química, bem como a Jerfeson, Malu, Remilson, Mauro, Almir e Flávia, pelas oportunidades de estudo em grupo.

Aos meus colegas dos Cursos de Mestrado em Agroquímica e Entomologia e aos alunos do Curso de Química, pelo companheirismo de todas as horas.

À minha esposa e aos meus pais e irmãos, pelos incentivos, pela presença e pela ajuda nos momentos difíceis do curso.

Aos meus “pais” professores Gulab e Alice, pela ajuda nas correções desta tese.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

A Deus, Pai, Filho e Espírito Santo, que me concedeu o potencial e as condições para chegar ao fim deste trabalho, bem como à Maria Santíssima, por todas as intercessões para que eu tivesse êxito nesta etapa da minha vida.

BIOGRAFIA

SÉRGIO TINÔCO VERÇOSA DE MAGALHÃES, filho de Albino Verçosa de Magalhães e Hílman Maria Tinôco Verçosa de Magalhães, nasceu em Sobradinho, Distrito Federal, em 22 de outubro de 1969.

Estudou em Brasília até completar o 2^o grau e em 1989, ingressou no Curso de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Durante a graduação, participou como membro da Câmara Curricular de Agronomia e foi bolsista de iniciação científica do CNPq, no Departamento de Economia Rural da UFV.

Em agosto de 1994, graduou-se Engenheiro-Agrônomo pela UFV.

Em seguida, estagiou no Laboratório de Resistências de Plantas do Departamento de Biologia Animal da UFV, onde desenvolveu uma metodologia para criação massal da traça-do-Tomateiro *Tuta absoluta*.

Em agosto de 1995, iniciou o Curso de Mestrado em Agroquímica na UFV, submetendo-se à defesa de tese em fevereiro de 1998.

CONTEÚDO

	Página
EXTRATO	viii
ABSTRACT	x
INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO 1	4
ATIVIDADE DE COMPOSTOS QUÍMICOS PRESENTES EM EXTRATO HEXÂNICO DE FOLHAS DE <i>Lycopersicon hirsutum</i> f. <i>glabratum</i> (PI 134417) SOBRE <i>Tuta absoluta</i>	4
1. INTRODUÇÃO	4
2. MATERIAL E MÉTODOS	8
2.1. Cultivo das plantas	8
2.2. Extração e fracionamento do extrato de folhas de <i>L. hirsutum</i> f. <i>glabratum</i> (PI 134417)	9
2.3. Avaliação da toxicidade de extrato hexânico fracionado a <i>T.</i> <i>absoluta</i>	10
2.4. Identificação parcial das subfrações através do cromatógrafo de fase gasosa/espectrômetro de massas (CG/EM)	12

	Página
2.5. Quantificação de tridecan-2-ona e undecan-2-ona, via padrão interno dodecano, nas subfrações do extrato hexânico, utilizando-se cromatógrafo de fase gasosa (CG)	14
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
3.1. Cultivo das plantas	17
3.2. Extração e fracionamento de folhas de <i>L. hirsutum</i> f. <i>glabratum</i> (PI 134417)	17
3.3. Avaliação da toxicidade de extrato hexânico fracionado a <i>T. absoluta</i>	19
3.4. Identificação parcial das subfrações através do cromatógrafo de fase gasosa/espectrômetro de massas (CG/EM)	22
3.5. Quantificação de tridecan-2-ona e undecan-2-ona, via padrão interno dodecano, nas subfrações do extrato hexânico, utilizando-se o cromatógrafo e fase gasosa	39
CAPÍTULO 2	42
TOXICIDADE DE TRIDECAN-2-ONA E UNDECAN-2-ONA A LARVAS DE <i>Tuta absoluta</i>	42
1. INTRODUÇÃO	42
2. MATERIAL E MÉTODOS	46
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
RESUMO E CONCLUSÕES	62
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64

EXTRATO

MAGALHÃES, Sérgio Tinôco Verçosa de, M. S., Universidade Federal de Viçosa, outubro de 1998. **Efeito da composição química de *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417) sobre a traça-do-tomateiro *Tuta absoluta*.** Orientador: Gulab Newandran Jham. Conselheiros: Marcelo Coutinho Picanço e Evaldo Ferreira Vilela.

Tridecan-2-ona (2-TD) e undecan-2-ona (2-UD), presentes no tomateiro-selvagem *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417), atuam como principais fatores de resistência a diversas pragas do gênero *Lycopersicon*, nos EUA. Entretanto, apesar de o tomateiro-selvagem demonstrar resistência contra *Tuta absoluta*, os aleloquímicos 2-TD e 2-UD ainda não são comprovadamente considerados fatores de resistência. O presente trabalho objetivou obter dados sobre fatores de resistência química desse tomateiro, através da identificação dos componentes presentes no extrato hexânico das folhas de *L. hirsutum* f. *glabratum*, bem como avaliar sua toxicidade sobre *T. absoluta*. Outro objetivo foi determinar curvas de concentração-mortalidade dos padrões 2-TD e 2-UD. Sementes do tomateiro-selvagem foram plantadas na Horta Nova da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG, e, aos 120 dias de idade, as folhas foram extraídas com hexano por seis horas. O hexano foi evaporado e o resíduo, fracionado por coluna cromatográfica de sílica-gel, usando-se solventes

de polaridades diversas. As frações com composição química similar foram agrupadas em 29 subfrações e analisadas, por cromatógrafo, em fase gasosa/espectrometria de massas (CG/EM), tendo sido possível identificar 2-TD, 2-UD, trans-cariofileno, α -humuleno e outros compostos. Verificou-se que, em 8 das 29 subfrações, os principais componentes foram 2-TD e 2-UD e uma subfração continha trans-cariofileno e α -humuleno. A toxicidade de todas as 29 subfrações foi avaliada mediante o emprego de larvas de 2^o ínstar de *T. absoluta*, verificando-se que 7 subfrações, das 8 que continham 2-TD e 2-UD, foram significativamente mais tóxicas do que as outras (Scott-Knott, $p < 0,05$). A partir desses resultados, bem como dos da literatura, pode-se concluir que 2-TD e 2-UD são os principais fatores de resistência a *T. absoluta* presentes no extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum*. A partir de dados das curvas de concentração-mortalidade, verificou-se que 2-TD é mais tóxico que 2-UD e que ocorreram interações antagonistas e neutras de 2-UD sobre 2-TD, dependendo das suas concentrações.

ABSTRACT

MAGALHÃES, Sérgio Tinôco Verçosa de, M. S., Universidade Federal de Viçosa, October 1998. **Effect of the chemical composition of *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417) on tomato leaf miner *Tuta absoluta*.** Adviser: Gulab Newandran Jham. Committee members: Marcelo Coutinho Picanço and Evaldo Ferreira Vilela.

Tridecan-2-ona (2-TD) and undecan-2-ona (2-UD) present in the wild tomato variety *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417) were shown to be resistance factors against several *Lycopersicon* pests found in the USA. However, despite the fact that the variety *L. hirsutum* f. *glabratum* is known to be resistant to *Tuta absoluta* attack, 2-TD and 2-UD have not been conclusively shown to be the major resistance factors. The objective of this work was to obtain data on chemical resistance factors by identifying the chemical constituents of the hexane extract of *L. hirsutum* f. *glabratum* leaves and determining its toxicity against *T. absoluta*. Another objective was to determine the mortality-concentration curves of 2-TD and 2-UD standards and their mixtures. The seeds of *L. hirsutum* f. *glabratum* were planted in Horta Nova of the Universidade Federal de Viçosa and at 120 days, the leaves were extracted with hexane for 6 hours. The residue obtained after evaporation of the solvent was fractioned on a silica gel column

using solvents of increasing polarities. Fractions of similar compositions (TLC) were combined to obtain a total of 29 subfractions which were analyzed by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). The compounds 2-TD, 2-UD, trans-carophyllene and α -humulene were identified along with other compounds. Also, 8 of 29 subfractions contained 2-TD and 2-UD as the principal compounds while only one contained trans-carophyllene and α -humulene. The toxicity of all the 29 subfractions was evaluated using 2^o instar *T. absoluta* larvae and it was found that 7 of 8 subfractions containing 2-TD and 2-UD were significantly more toxic than the other fractions (Scott-Knott test, $p < 0.05$). Based on this study and others in the literature it appears that 2-TD and 2-UD are the principal resistance factors present in the hexane extract of *L. hirsutum* f. *glabratum* leaves against *T. absoluta*. The mortality- concentration data on 2-TD and 2-UD and in mixtures showed that 2-TD is more toxic than 2-UD and that antagonistic and neutral interactions of 2-UD on 2-TD occurred, depending upon their concentrations.

INTRODUÇÃO

A traça-do-tomateiro, *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae), é um inseto de distribuição neotropical conhecido há alguns anos, em diversos países da América da Sul, como importante praga do tomateiro e da batatinha. Somente em 1981 foi feito o primeiro registro de sua ocorrência no Brasil (LOURENÇÃO et al., 1984).

Segundo SOUZA e REIS (1986), a traça-do-tomateiro apresenta potencial destrutivo muito grande, atacando órgãos da planta em qualquer estágio de desenvolvimento, alimentando-se do parênquima foliar (situação em que provoca o aparecimento de minas nas folhas) e broqueando os ápices caulinares e frutos.

A traça-do-tomateiro constitui principal praga da tomaticultura nacional. Seu controle tem sido feito com aplicações de inseticidas organossintéticos, as quais chegam até três vezes por semana, ocasionando intoxicações em animais e seres humanos, poluição ambiental, eliminação de inimigos naturais e resistência a inseticidas (PICANÇO et al., 1995; MOREIRA, 1995).

A resistência de plantas constitui-se numa boa opção, dentro do manejo integrado, para reduzir a população da traça-do-tomateiro a níveis de não dano econômico. Essa tática apresenta as seguintes vantagens: facilidade de utilização,

baixo custo, harmonia com o meio ambiente, persistência e redução do nível de infestação em cultivares suscetíveis (LARA et al., 1986). Cultivares resistentes podem ser obtidos através do melhoramento genético, cruzando-se cultivares comerciais que apresentam as características agronômicas desejáveis com materiais selvagens que apresentam fatores de resistência (GIUSTOLIN, 1991).

Dentre as espécies de tomateiro resistentes à traça-do-tomateiro, destaca-se o *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum* Mull (PI 134417), o qual apresentou altos níveis de resistência a essa praga, alongando-se as fases larval e pupal, reduzindo a viabilidade larval e diminuindo o peso de pupas e a fecundidade das fêmeas, em testes biológicos com a própria folha (GIUSTOLIN e VENDRAMIM, 1994).

Esta espécie possui, comprovadamente, dois aleloquímicos associados à resistência a diversas pragas de *Lycopersicon* nos EUA: tridecan-2-ona (2-TD) (WILLIAMS et al., 1980) e undecan-2-ona (2-UD) (FARRAR e KENNEDY, 1987), presente nos tricomas glandulares tipo VI. Outras substâncias também podem estar associadas à resistência, como ácido clorogênico e alfa-tomatina (ELLIGER et al., 1981), estando a primeira nos tricomas tipo VI e a segunda na lamela média do folíolo. Além dessas, alfa-humuleno e beta-cariofileno (FARRAR e KENNEDY, 1990) e gama-elemeno (EINGENBRODE e TRUMBLE, 1993), presentes também nos tricomas tipo VI, bem como açúcares redutores (SILVA, 1995), têm sido encontrados nesse acesso. Assim, conclui-se que a maioria dos compostos já conhecidos no tomateiro-selvagem está presente nos tricomas glandulares tipo VI, os quais são encontrados na superfície foliar da planta.

A presença de fatores de resistência no *L. hirsutum* f. *glabratum* e os efeitos da toxicidade destes sobre *T. absoluta* têm sido pouco estudados no Brasil, sendo o trabalho de GIUSTOLIN e VENDRAMIM (1996) o único sobre este assunto. Esses estudos são importantes, pois a demonstração da existência de fatores de resistência química poderá fornecer parâmetros para aumentar a

resistência de variedades comerciais altamente suscetíveis ao ataque de *T. absoluta*, através de programas de melhoramento vegetal.

A presente pesquisa objetivou verificar se 2-TD e 2-UD são realmente fatores de resistência no tomateiro *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417), bem como encontrar outros fatores de resistência no extrato hexânico dessa planta, através de testes biológicos com *T. absoluta*; objetivou, ainda, estudar os efeitos da toxicidade de tridecan-2-ona (2-TD) e undecan-2-ona (2-UD), isoladamente e em misturas, para determinar curvas de concentração-mortalidade, o que permitiu prever o impacto dessas substâncias em populações de traça-do-tomateiro.

CAPÍTULO 1

ATIVIDADE DE COMPOSTOS QUÍMICOS PRESENTES EM EXTRATO HEXÂNICO DE FOLHAS DE *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417) SOBRE *Tuta absoluta*

1. INTRODUÇÃO

A traça-do-tomateiro *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) é considerada a principal praga da tomaticultura nacional. Seu controle tem sido feito basicamente através do uso abusivo de inseticidas, o que tem levado ao desenvolvimento de resistência aos inseticidas, à eliminação dos inimigos naturais, à intoxicação de aplicadores e à contaminação do meio ambiente (PICANÇO et al., 1995).

Existem diversas opções de controle da traça-do-tomateiro, destacando-se a resistência de plantas. Esse método de controle apresenta inúmeras vantagens: pode ser utilizado pelo agricultor com facilidade, tem baixo custo e harmonia com o meio ambiente, reduz o nível de infestação em cultivares suscetíveis, tem grande persistência e é compatível com as demais práticas culturais (LARA et al., 1986).

Dentre as espécies do gênero *Lycopersicon*, destaca-se o *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417), que apresenta altos níveis de resistência à traça-do-tomateiro, alongando-se as fases larval e pupal e reduzindo a viabilidade larval, o peso de pupas e a fecundidade das fêmeas (GIUSTOLIN e VENDRAMIM, 1994). Nessa espécie têm sido encontradas substâncias associadas à resistência: tridecan-2-ona (WILLIAMS et al., 1980) e undecan-2-ona (FARRAR e KENNEDY, 1987). Além dessas, têm sido encontradas outras substâncias, que podem estar associadas à resistência, como: ácido clorogênico e α -tomatina (ELLIGER et al., 1981), α -humuleno e β -cariofileno (FARRAR e KENNEDY, 1990) e γ -elemeno (EIGENBRODE e TRUMBLE, 1993), bem como açúcares redutores (SILVA, 1995).

KENNEDY e YAMAMOTO (1979) foram os primeiros a propor a existência de fatores químicos de resistência nos tricomas de folhas de *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417). Posteriormente, WILLIAMS et al. (1980) isolaram do extrato de folhas um inseticida não alcalóide e identificaram-no como sendo tridecan-2-ona. Este composto foi 72 vezes mais abundante nessa espécie que no tomate cultivado *L. esculentum*, sendo tóxico a *Manduca sexta* (L.) (Lepidoptera: Sphingidae), *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) e *Aphis gossypii* (Glover) (Lepidoptera: Noctuidae). Mais tarde, DIMOCK e KENNEDY (1983) encontraram tridecan-2-ona no extrato de tricomas glandulares retirados da folha desse mesmo tomateiro, sendo encontrados no interior da folha somente traços do referido composto.

ELLIGER et al. (1981) encontraram níveis altos de alfa-tomatina e médios de ácido clorogênico em extratos de *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417), em comparação com o cultivar 'Ace', sendo esses dois compostos tóxicos para *H. zea*. ISMAN e DUFFEY (1982) verificaram que alfa-tomatina oriunda de folhas de tomateiro foi mais tóxica que o ácido clorogênico e a rutina.

FARRAR e KENNEDY (1987) encontraram undecan-2-ona como constituinte dos tricomas glandulares de *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417). Esse composto, incorporado à dieta artificial, não aumentou a mortalidade das

larvas e pupas de *M. sexta*, mas sim a deformação e a mortalidade de pupas de *H. zea*. Esses autores verificaram, também, que a adição de undecan-2-ona combinada com tridecan-2-ona resultou em aumento da mortalidade larval de *H. zea* nas primeiras 48 horas. LIN et al. (1987) observaram que 95% do conteúdo dos tricomas tipo VI de *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417) foi formado por duas cetonas de cadeia simples, tridecan-2-ona (146 ng) e undecan-2-ona (47 ng), e por um sesquiterpeno desconhecido (5 ng). Em testes biológicos com *Keiferia lycopersicella* (Walsingham) (Lepidoptera: Gelechiidae) e *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), aqueles autores verificaram que a undecan-2-ona foi menos tóxica que a tridecan-2-ona e a mistura na proporção de 3:1 de tridecan-2-ona e undecan-2-ona demonstrou interação sinérgica entre essas duas substâncias.

FARRAR e KENNEDY (1990) avaliaram, em dieta artificial, quatro constituintes presentes em *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417), alfa-tomatina, ácido clorogênico, trans-cariofileno e alfa-humuleno, quanto à ação de inibição de crescimento de *H. zea*. Verificaram que todos esses compostos, à exceção do ácido clorogênico, provocaram redução no tempo de desenvolvimento e pequeno decréscimo no peso das pupas.

EIGENBRODE e TRUMBLE (1993) constataram que exsudados da superfície foliar de *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417), após a imersão de 30 cm² de folha em hexano por 1,5 h, com agitação contendo padrão interno dodecano, continham, em sua maioria, metilcetonas, tridecan-2-ona e undecan-2-ona e, ainda, γ -elemeno em menor quantidade. Quanto à sobrevivência de *S. exigua*, ela foi muito baixa quando larvas de primeiro ínstar foram colocadas sobre a folha. SILVA (1995) verificou correlação positiva entre a resistência de *L. hirsutum* f. *glabratum* e a presença de açúcares redutores nas folhas desse tomateiro.

O referido tomateiro tem sido foco de muitos estudos, sendo utilizado como fonte de resistência nos programas de melhoramento genético. Entretanto, até hoje não se tem um cultivar resistente à traça-do-tomateiro devido à genética

da resistência. Tal fato é decorrente do desconhecimento da genética da resistência, de fatores de resistência e das interações entre as causas da resistência para a traça-do-tomateiro, bem como de métodos biológicos inadequados para detecção de substâncias ativas (BARBOSA e MALUF, 1994).

A presença de fatores de resistência no *L. hirsutum* f. *glabratum* e os efeitos da toxicidade deles sobre *T. absoluta* têm sido pouco estudados no Brasil, conforme consta do único trabalho sobre o assunto (GIUSTOLIN e VENDRAMIM, 1996). Tais estudos são importantes, pois a demonstração da existência de fatores de resistência química poderá fornecer parâmetros para aumentar a resistência de variedades comerciais altamente suscetíveis ao ataque de *T. absoluta*, através de programas de melhoramento vegetal.

Assim, o presente trabalho objetivou confirmar se 2-TD e 2-UD são fatores de resistência, bem como identificar novas substâncias ativas contra a traça-do-tomateiro em *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417), através da análise de subfrações do extrato hexânico das folhas dessa planta no cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas (CG/EM) e de testes biológicos por contato com larvas de 2^o ínstar da traça-do-tomateiro. Os testes biológicos utilizados neste trabalho foram diferentes dos utilizados por GIUSTOLIN e VENDRAMIM (1996), pois estes autores utilizaram a dieta para avaliação dos efeitos dos aleloquímicos tridecan-2-ona e undecan-2-ona. Portanto, acredita-se que o tipo de teste utilizado na presente pesquisa seja mais adequado para avaliar os efeitos tóxicos dos aleloquímicos voláteis presentes nas folhas do tomateiro *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Cultivo das plantas

Em 13.12.1995 foram plantadas três sementes de *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417) por saquinho de jornal, dentro da casa de vegetação do Setor de Entomologia do Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa (UFV), totalizando-se 230 saquinhos de jornal com as sementes. O solo utilizado nesses saquinhos foi de barranco e adubado com 50 g de sulfato de amônio, 150 g de superfosfato simples e 17 g de cloreto de potássio para cada 50 kg de solo. Em 03.01.1996 foi feito o desbaste das mudas, deixando-se duas em cada saquinho. Em 16.01.1996 foi realizado o transplântio para o campo (espaçamento de 1,0 x 0,5 m) - Latossolo Vermelho-Amarelo, fase terraço -, na Horta Nova do Fundão, pertencente ao Departamento de Fitotecnia da UFV, situada na latitude 20°45', longitude 42°51' e altitude de 651 m.

O sistema de tutoramento foi o convencional, uma planta por cova com uma haste por planta, com um mínimo de desbrota. Foram adotadas práticas convencionais de cultivo, como amontoa, tutoramento e amarrio. Além dessas práticas, foram realizadas irrigações e adubações [30 g/planta da mistura NPK (12:6:12) em 13.02.1996 e 30 g/planta da mistura (12:0:12)].

2.2. Extração e fracionamento do extrato de folhas de *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417)

As folhas de plantas do tomateiro *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417), aproximadamente aos 120 dias de idade, foram coletadas de forma parcelada, durante 12 dias, e levadas ao Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais (LPPN) do Departamento de Química da UFV. Os folíolos foram colocados em béqueres de cinco litros, aos quais se adicionou o solvente hexano destilado até encher os béqueres, onde permaneceram por seis horas. O extrato dissolvido em hexano foi filtrado, sendo os folíolos extraídos descartados. Novos folíolos foram cortados e imersos nos béqueres com o extrato dissolvido em hexano. Após o término das extrações, o extrato bruto foi desidratado com sulfato de sódio anidro, secado em rotavapor (40°C) e armazenado no congelador. O solvente utilizado foi o hexano, por suas características de solvente que permite extrair substâncias menos polares e por estas substâncias, que normalmente são relatadas estarem presentes no tomateiro em estudo e terem ação inseticida em diversas pragas.

Efetuuou-se a extração de 73,570 kg de matéria fresca, constituída por folíolos do tomateiro *L. hirsutum* f. *glabratum*. Após a extração, secagem com sulfato de sódio anidro e evaporação do solvente no rotavapor, obteve-se a massa total de 26,084 g de extrato bruto. A seguir, fez-se o fracionamento do extrato hexânico bruto de *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417), em uma coluna de 165 cm de comprimento e 7 cm de diâmetro, tendo como fase estacionária a sílica-gel (0,2-0,5 mm, 35-70 mesh ASTM, Kieselgel 100 e art. 10185), na proporção de 40:1. A fase móvel foi constituída por 1.000 mL de cada uma das seguintes misturas dos solventes destilados: hexano/acetato de etila (100:0, 98:2, 90:10, 80:20, 70:30, 50:50, 30:70 e 10:90), acetato de etila/diclorometano (100:0, 90:10, 30:70, 50:50, 30:70 e 10:90), diclorometano/etanol (100:0 e 0:100) e metanol.

Frações de 100 mL de volume foram coletadas e secadas no rotavapor a 40°C, e pequena quantidade de cada fração foi colocada sobre placas de

dimensões de 2,5 cm x 7,5 cm x 0,25 mm de cromatografia, em camada delgada (CCD), contendo sílica da marca “*Baker-flex*”. Em seguida, essas placas foram colocadas dentro de frasco de boca larga contendo hexano/acetato de etila destilados na proporção de 80:20, por ser a melhor fase móvel para separar as substâncias do extrato bruto. Ao final da corrida, essas placas foram secadas à temperatura ambiente, reveladas por imersão em ácido fosfomolibdico diluído (32 g/250 mL de etanol) e aquecidas em estufa a 60°C. As frações com o mesmo fator de resposta (Rf) foram agrupadas e secadas no rotavapor a 40°C. Foram obtidas 21 subfrações, denominadas: A, A1, A2, A3, A4, B, C, D, E, E1, F, G, H, H1, I, J, L, MA, MI, N e O.

Como a subfração I continha grande quantidade do extrato bruto (14,752 g), realizou-se novo fracionamento dela, mediante o emprego de uma coluna de 90,0 cm de comprimento e 3,1 cm de diâmetro, sendo utilizada como fase estacionária a sílica (0,2-0,5 mm, 35-70 mesh ASTM, Kieselgel 100 e art. 10185), na proporção de 40:1. A fase móvel utilizada foi constituída de 300 mL de cada uma das proporções das seguintes misturas de solventes: hexano/diclorometano (80:20, 60:40, 40:60, 20:80 e 0:100), diclorometano/clorofórmio (80:20, 60:40, 40:60, 20:80 e 0:100) e clorofórmio/metanol (90:10, 80:20, 70:30, 60:40, 50:50, 20:80 e 0:100). Frações de 300 mL foram coletadas, secadas no rotavapor e analisadas por cromatografia de camada delgada (CCD), como anteriormente descrito; todavia, nesse caso, a fase móvel foi constituída de hexano/diclorometano na proporção de 30:70. As subfrações resultantes desse subfracionamento foram denominadas IA, IB, IC, ID e IE.

2.3. Avaliação da toxicidade de extrato hexânico fracionado a *T. absoluta*

Os bioensaios foram conduzidos no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas do Departamento de Biologia Animal da UFV, utilizando-se larvas de 2º ínstar de *Tuta absoluta*. Essas larvas, provenientes de criação massal, foram

retiradas de folhas do cultivar “Santa Cruz”, com a ajuda de uma lupa, e colocadas sobre uma placa de Petri (9 cm de diâmetro por 2 cm de altura). Com a ajuda de um paquímetro, selecionaram-se as larvas que mediam 1,8 a 2,2 mm de comprimento (CASTELO BRANCO et al., 1987; COELHO e FRANÇA, 1987).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições, e consistiram de pelo menos uma das concentrações (2,0 e, ou, 6,0 mg/mL de hexano) do extrato das subfrações A, A1, A2, A3, A4, B, C, D, E, E1, F, G, H, H1, I, J, L, MA, MI, N, O, IA, IB, IC, ID e IE, dependendo da disponibilidade de material. Essas concentrações foram estabelecidas, considerando-se o resultado de teste biológico com o uso de apenas tridecan-2-ona, composto presente nas subfrações em grande concentração; utilizando apenas 1,3 mg/mL dessa substância, obteve-se 90% de mortalidade de larvas de 2^o ínstar da traça-do-tomateiro. Também, foi feito um tratamento contendo somente hexano, a fim de avaliar a mortalidade das larvas diante da presença do solvente apenas, que constituiu o grupo-testemunha (branco).

O experimento tinha início com a pesagem dos extratos das subfrações na quantidade de cinco vezes a desejada, os quais foram dissolvidos em 5,0 mL de hexano, e cada 1,0 mL dessa solução foi espalhado sobre uma das cinco placas de Petri (9 cm de diâmetro e 2 cm de altura) que continham folha de papel-filtro redonda, constituindo esta a parcela experimental. Após a evaporação do hexano (cerca de 5 min.), 10 larvas foram colocadas sobre esse papel-filtro, sendo as placas de Petri vedadas com filme transparente de PVC. A seguir, as placas foram transferidas para estufas incubadoras do tipo BOD, a $25 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, por quatro horas.

As avaliações foram feitas após as quatro horas de incubação, contando-se o número de larvas vivas e mortas contidas na placa de Petri; avaliaram-se a sobrevivência e a mortalidade, conforme ABBOT (1925).

2.4. Identificação parcial das subfrações através do cromatógrafo de fase gasosa/espectrômetro de massas (CG/EM)

As subfrações do extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum* foram injetadas no cromatógrafo a gás A-17 acoplado ao espectrômetro de massas QP-5000 (CG/EM) da *Shimadzu* com auto-injetor. A caracterização dos componentes dessas subfrações foi baseada nas probabilidades de similaridade dos espectros de massas gerados pelo CG/EM, com os espectros de massas de 160.000 compostos contidos na biblioteca “John Wiley” do equipamento e nas comparações dos tempos de retenção e áreas dos picos desses compostos com os de tridecan-2-ona, undecan-2-ona, trans-cariofileno, alfa-humuleno, parafinas C10, C12 a C36, heptanol, octanol e nonanol (Figura 1).

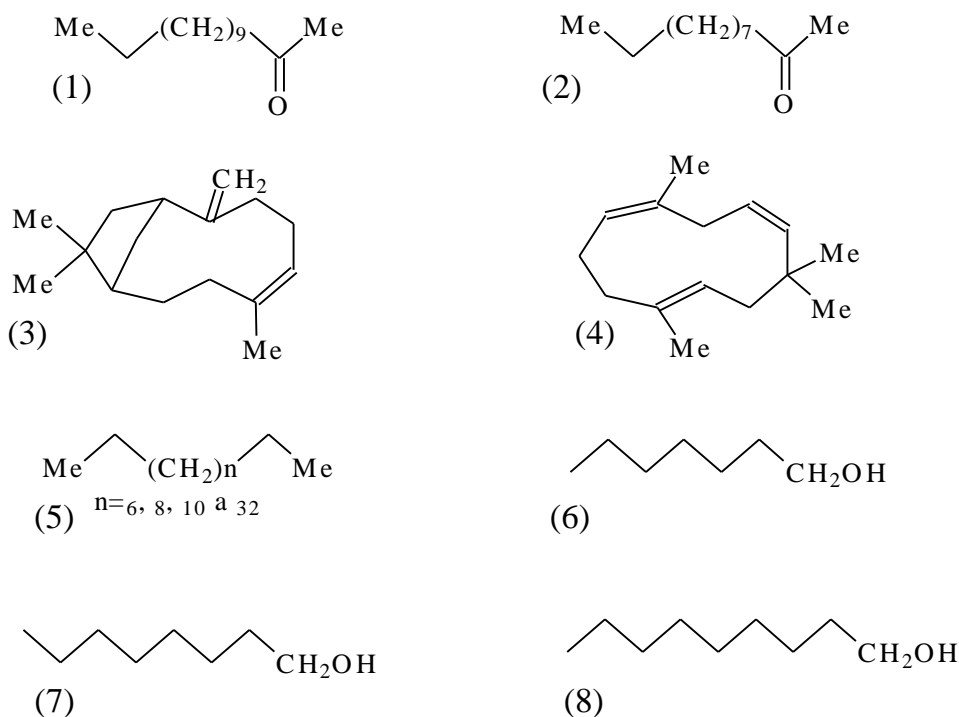


Figura 1 - Estruturas químicas dos padrões disponíveis em laboratório: tridecan-2-ona (1), undecan-2-ona (2), trans-cariofileno (3), alfa-humuleno (4), parafinas C10, C12 a C36 (5), heptanol (6), octanol (7) e nonanol (8).

As condições de operação do aparelho CG/EM estão especificadas no Quadro 1. Entretanto, para se obter uma melhor resolução dos picos, as subfrações A, A1, A3, A4, B, C, D, E, E1, F, G, H, H1, I, J, L, O, IA, IB, IC e ID foram injetadas, utilizando-se para elas 73,60 kPa de pressão do gás de arraste, enquanto as subfrações A2, MA, MI, N e IE o foram, utilizando-se para estas 100kPa de pressão do gás de arraste.

Quadro 1 - Parâmetros de funcionamento do cromatógrafo de fase gasosa acoplado ao espectrômetro de massas (CG/EM) utilizados para identificação parcial das subfrações de *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417)

Parâmetros de Funcionamento do CG/EM	Condições
Temperatura inicial	40°C por 1,75 min
Programa de temperatura	20°C/min até 80°C; 5°C/min até 250°C; 2 min
Temperatura do injetor	220°C
Temperatura da interface	230°C
Controlador do fluxo	“Splitless”
Razão de “split”	40
Pressão do gás de arraste	73,60 ^a e 100 ^b kPa
Tempo com o “split” fechado	1,75 min
Tipo de coluna	DB1 da “W & J Scientific”
Diâmetro/comprimento da coluna	0,25 mm / 30 m
Corte do solvente	6,0 min
Tempo de aquisição	7,0 min
Faixa de massas analisadas	40 – 300
Largura do pico na altura média	2,00 seg
Inclinação do ângulo do pico	1500,0 (1.000/min)
Área mínima	200.000

Obs.: a = pressão do gás de arraste usada para as subfrações (A, A1, A3, A4, B, C, D, E, E1, F, G, H, H1, I, J, L, O, IA, IB, IC e ID) e b = pressão do gás de arraste usado nas subfrações (A2, MA, MI, N e IE).

Após a análise no CG/EM das subfrações do extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417), verificou-se que as subfrações (B, C, D, E, E1 e F) indicavam a presença de trans-cariofileno e, ou, alfa-humuleno, e as subfrações (G, H, H1, I, J e L) indicavam a presença undecan-2-ona e tridecan-2-

ona. Assim, injetaram-se os padrões disponíveis nas mesmas condições de análise, e verificou-se que os tempos de retenção dos padrões trans-cariofileno, alfa-humuleno, tridecan-2-ona e undecan-2-ona foram bem semelhantes aos dos picos observados nas correntes totais de íons das subfrações.

Para confirmar que essas substâncias estavam presentes nessas subfrações, adicionaram-se 6,0 ng de trans-cariofileno e 2,0 ng de alfa-humuleno às subfrações (B, C, D, E, E1 e F) e 8,0 ng de tridecan-2-ona e 3,0 ng de undecan-2-ona às subfrações (G, H, H1, I, J e L). Injetaram-se novamente essas subfrações com os mesmos parâmetros de funcionamento do CG/EM, utilizando o tempo de corrida de 21,7 min, uma vez que todos os picos dessas substâncias apresentavam tempos de retenção inferiores a este. Assim, pelo aumento do número de íons detectados no CG/EM desses picos, trans-cariofileno, alfa-humuleno, tridecan-2-ona e undecan-2-ona, foi confirmada a identificação dessas substâncias nessas subfrações.

O método de análise das subfrações utilizando o CG/EM possui algumas limitações: substâncias com elevado peso molecular, por não ser possível a sua volatilização, acabam não sendo detectadas pelo espectrômetro de massas, o mesmo ocorrendo com substâncias que perdem alguma parte da sua estrutura devido às elevadas temperaturas do injetor. Entretanto, trata-se de um método muito interessante, por unir duas técnicas de análise, o que permite que substâncias ainda impuras possam ser analisadas de maneira rápida e eficiente.

2.5. Quantificação de tridecan-2-ona e undecan-2-ona, via padrão interno dodecano, nas subfrações do extrato hexânico, utilizando-se cromatógrafo de fase gasosa (CG)

A partir dos dados de CG/EM, obtidos das frações do extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417), selecionaram-se as frações G, H, H1, L, J, I, IA e IB, que continham tridecan-2-ona e undecan-2-ona. A presença dessas substâncias nas referidas frações foi quantificada, utilizando-se cromatógrafo de

fase gasosa (CG) A-17 da “Shimadzu”, com os parâmetros de funcionamento do cromatógrafo mostrado no Quadro 2.

Quadro 2 - Parâmetros de funcionamento do cromatógrafo gasoso (CG) para quantificação de tridecan-2-ona e undecan-2-ona nas subfrações do extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417)

Parâmetros de Funcionamento do CG	Condições
Temperatura inicial	60°C
Programa de temperatura	7°C/min até 170°C
Temperatura do injetor / detector	215°C / 225°C
Pressão do gás de arraste	100,0 kPa
Controlador do fluxo	“split”
Razão de “split”	10
Tipo de coluna	DB-23 da “W & J Scientific”
Comprimento / diâmetro da coluna	30 m / 0,25 mm
Largura do pico na altura média	1,00 Seg
Inclinação do ângulo do pico	300,0 (1.000/min)
Área mínima	70
Programação de tempo para não integração	0,01 a 4,16; 4,50 a 11,00; 11,60 a 14,00; e 14,57 a 15,97
Tipo de curva	Linear

Portanto, quantidades crescentes dos padrões 2-TD e 2-UD com o padrão interno dodecano constante foram injetadas, com a finalidade de construir uma curva de calibração para tridecan-2-ona e outra para undecan-2-ona, abrangendo as quantidades contidas nas frações (Quadro 3).

Em seguida, foi calculada a razão das áreas dos picos dos padrões (2-TD e 2-UD) pela área do padrão interno (variável X), bem como a razão das concentrações dos padrões (2-TD e 2-UD) pela concentração do padrão interno (variável Y). Por fim, foi efetuada a regressão linear para construção da curva de calibração de 2-TD e 2-UD.

Quadro 3 - Quantidades de tridecan-2-ona (2-TD), undecan-2-ona (2-UD) e dodecano (padrão interno) usadas nas injeções para desenvolvimento das curvas de calibração para 2-TD e 2-UD

Mistura	Tridecan-2-ona (ng)	Undecan-2-ona (ng)	Dodecano (ng)
1	4,899	0,739	11,16
2	25,194	3,800	11,16
3	35,272	5,320	11,16
4	58,790	8,870	11,16
5	88,180	13,300	11,16

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Cultivo das plantas

O plantio das sementes resultou em 280 mudas do tomateiro. As mudas mais vigorosas foram transplantadas de forma satisfatória para o campo, obtendo-se mais de 90% de pegamento das mudas. Assim, foram obtidas 230 plantas transplantadas no campo, situado na Horta Nova do Fundão da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG.

O sistema de condução tradicional, uma planta por cova com uma haste por planta com um mínimo de desbrota, bem como as adubações e irrigações, foi adequado à produção de grande quantidade de folhas bem desenvolvidas, para serem utilizadas na extração dos aleloquímicos com o hexano.

3.2. Extração e fracionamento de folhas de *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417)

Fracionaram-se 26,084 g de extrato bruto, uma vez que foi perdido um pouco de material quando se preparava a coluna para o fracionamento. Obtiveram-se 176 frações de 100 mL cada, as quais foram agrupadas com base no fator de resposta (Rf) e no número de manchas nas placas de cromatografia em camada delgada, o que resultou nas 21 subfrações relacionadas no Quadro 4.

Quadro 4 - Frações obtidas do extrato hexânico bruto de *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417) agrupadas em subfrações, com as respectivas massas e porcentagens em relação ao total fracionado

Frações Obtidas	Agrupamento das Frações em Subfrações	Massa das Subfrações	Porcentagens em Relação à Massa Total
1 a 4	-	-	-
5	A	0,01 g	0,13%
6 e 7	A1	2,22 g	7,57%
8 a 10	A2	4,20 g	14,33%
11 e 12	A3	0,07 g	0,23%
13 e 14	A4	0,10 g	0,35%
15	B	0,03 g	0,11%
16 a 19	C	0,15 g	0,49%
20 a 23	D	0,11 g	0,36%
24	E	0,02 g	0,07%
25	E1	0,02 g	0,05%
26 a 36	F	0,08 g	0,27%
37 a 44	G	1,32 g	4,50%
45 a 53	H	2,97 g	10,12%
45 a 53	H1	0,06 g	0,21%
54 a 139	I	14,75 g	50,36%
140	J	0,01 g	0,03%
141 a 149	L	0,37 g	1,27%
150	MA e MI	2,37 g	8,10%
151 a 170	N	0,40 g	1,35%
171 a 176	O	0,06 g	0,19%
Total		29,30 g	100%

Obs.: (-) frações iniciais que continham apenas o solvente hexano.

Na subfração H, verificou-se a presença de um precipitado não-solúvel em hexano, sendo solúvel somente em acetato de etila. Portanto, a parte insolúvel dessas subfrações foi separada na subfrações H1. A subfração M, que foi insolúvel em hexano, continha duas fases líquidas: uma amarela e outra incolor, sendo também separadas nas subfrações MA e MI, respectivamente.

O fracionamento da subfração I justificou-se devido ao fato de essa subfração ter concentrado grande quantidade de extrato (14,752 g), resultando em 50,36% do seu conteúdo total. Foram subfracionados 4,005 g da subfração I, obtendo-se 51 frações de 300 mL, as quais foram dessecadas e submetidas à cromatografia de camada delgada. As frações que tinham o mesmo comportamento foram agrupadas em cinco subfrações (IA, IB, IC, ID e IE), que foram desidratadas e secadas no rotavapor, sendo medida sua massa (Quadro 5).

Quadro 5 - Frações obtidas da subfração I do extrato fracionado de *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 1334417), que foram agrupadas em subfrações, com as respectivas massas e porcentagens em relação à massa total

Frações obtidas	Agrupamento das Frações em Subfrações	Massa das Subfrações	Porcentagens em Relação à Massa Total
1 a 13	IA	0,42 g	13,62%
14 a 27	IB	0,78 g	24,93%
28 e 29	IC	0,39 g	12,64%
30 a 33	ID	0,76 g	24,13%
34 a 36	IE	0,77 g	24,52%
37 a 51	-	-	-
Total		3,09 g	100%

3.3. Avaliação da toxicidade de extrato hexânico fracionado a *T. absoluta*

A metodologia utilizada para avaliação da toxicidade das subfrações mostrou-se muito boa, prática e rápida. Portanto, substâncias voláteis produzidas pelo PI 1334417, que atuam naturalmente pelo contato externo e que tornam esta

planta resistente à traça-do-tomateiro, puderam ser avaliadas quanto à sua toxicidade. Entretanto, existem outras substâncias que atuam de forma negativa nessa praga que não puderam ser avaliadas em virtude de atuarem no metabolismo quando ingeridas por essa traça. Assim, concluiu-se que para as substâncias que atuam por contato na traça-do-tomateiro essa metodologia se mostrou muito eficiente; para substâncias que atuam no metabolismo do inseto quando a traça as ingere, tal metodologia não se mostrou eficiente.

As subfrações resultantes dos fracionamentos foram avaliadas quanto à toxicidade sobre a traça-do-tomateiro. Verificou-se que as subfrações G, H, IA, IB e L não diferiram entre si, mas sim das demais subfrações, inclusive da testemunha, sendo estas as mais tóxicas. Tais resultados foram obtidos quando se utilizaram as seguintes concentrações: 2,0 mg/mL para as subfrações G e H e 6,0 mg/mL para as subfrações IA, IB e L. Já as subfrações I e H1 não diferiram entre si, mas sim das demais subfrações, inclusive da testemunha, sendo estas subfrações as segundas mais tóxicas, depois das subfrações G, H, IA, IB e L. Esses resultados foram obtidos quando se utilizaram as seguintes concentrações: 2,0 mg/mL para a subfração H1 e 6,0 mg/mL para a subfração I. Por fim, as subfrações A, A1, A2, A3, A4, B, C, D, E, E1, F, IC, ID, IE, J, L, MA, MI, N, O e a testemunha não diferiram entre si, nas concentrações utilizadas. As frações A, A3, A4, B, E, E1 e J, por insuficiência de amostra, não foram submetidas ao teste biológico, utilizando-se a concentração de 6,0 mg/mL (Quadro 6). Assim, conclui-se que somente as subfrações G, H, H1, I, IA, IB e L possuem aleloquímicos capazes de provocar toxicidade à traça-do-tomateiro, tomando-se por base os resultados preliminares e utilizando a mesma metodologia, na qual, para se ter 90% de mortalidade, é necessário colocar apenas 1,3 mg/mL de tridecan-2-ona.

Quadro 6 - Toxicidade das subfrações resultantes do extrato hexânico bruto de folhas de *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum* a *Tuta absoluta*

Tratamentos*	Mortalidade (%)**
Testemunha	6,62 C
Subfração A (0,4 mg/ mL)	16,67 C
Subfração A1(2 mg/mL)	8,44 C
Subfração A1(6 mg/mL)	0,00 C
Subfração A2 (2 mg/mL)	11,17 C
Subfração A2 (6 mg/mL)	0,00 C
Subfração A3 (2 mg/mL)	9,00 C
Subfração A4 (2 mg/mL)	21,27 C
Subfração B (2 mg/mL)	12,44 C
Subfração C (2 mg/mL)	8,44 C
Subfração C (6 mg/mL)	0,00 C
Subfração D (2 mg/mL)	10,22 C
Subfração D (6 mg/mL)	11,17 C
Subfração E (2 mg/mL)	10,00 C
Subfração E1 (2 mg/mL)	2,00 C
Subfração F (2 mg/mL)	11,11 C
Subfração F (6 mg/mL)	12,24 C
Subfração G (2 mg/mL)	100,00 A
Subfração H (2 mg/mL)	100,00 A
Subfração H1 (2 mg/mL)	76,44 B
Subfração I (2 mg/mL)	16,00 C
Subfração I (6 mg/mL)	59,18 B
Subfração IA (6 mg/mL)	100,00 A
Subfração IB (6 mg/mL)	100,00 A
Subfração IC (6 mg/mL)	22,22 C
Subfração ID (6 mg/mL)	22,00 C
Subfração IE (6 mg/mL)	15,11 C
Subfração J (2 mg/mL)	18,00 C
Subfração L (2 mg/mL)	18,22 C
Subfração L (6 mg/mL)	90,80 A
Subfração M1A (2 mg/mL)	2,22 C
Subfração M1A (6 mg/mL)	8,67 C
Subfração M1I (2 mg/mL)	2,00 C
Subfração M1I (6 mg/mL)	4,22 C
Subfração N (2 mg/mL)	4,00 C
Subfração O (2 mg/mL)	12,00 C
Subfração O (6 mg/mL)	2,00 C

* Os valores entre parênteses correspondem à concentração do extrato em que foi avaliada sua toxicidade.

** As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a $p < 0,05$.

3.4. Identificação parcial das subfrações através do cromatógrafo de fase gasosa/espectrômetro de massas (CG/EM)

A identificação parcial dos componentes das subfrações do extrato hexânico de folhas de *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417) foi baseada na sugestão fornecida pelo maior índice de similaridade fornecido pelo CG/EM, bem como pela injeção do padrão correspondente nas mesmas condições de análise. No Quadro 7 são apresentadas as subfrações analisadas no CG/EM, com a indicação da correspondente corrente total de íons (Figuras) e as respectivas intensidades relativas de cada pico correspondentes a uma substância. São, ainda, apresentadas as substâncias que foram confirmadas pelos padrões quando houve aumento no número de íons para o pico correspondente ao composto após a adição do padrão. Para as substâncias confirmadas pelos padrões são apresentados os seus espectros de massas de undecan-2-ona, tridecan-2-ona, trans-cariofileno e alfa-humuleno dessas substâncias presentes nas subfrações, conforme mostrado nas Figuras 28, 29, 30 e 31.

As subfrações G, H, H1, I, J, L, IA e IB apresentaram tridecan-2-ona como o seu composto de maior quantidade (intensidade relativa > 82,40%) e, em segundo lugar, undecan-2-ona (intensidade relativa > 5,03%), com índices de similaridade superiores a 96% e 93%, respectivamente (Quadro 7). Essa composição foi confirmada pelo aumento das áreas dos picos relativos a tais substâncias nas correntes totais de íons das subfrações obtidas. Já os outros componentes presentes nessas subfrações, em pequenas quantidades (intensidades relativas que variam de 2,56 a 10,28%), podem ser álcoois e outras substâncias não identificadas. Portanto, o conteúdo das frações G, H, H1, I, J, L, IA e IB é formado basicamente por duas substâncias em variadas proporções: tridecan-2-ona e undecan-2-ona, conforme citado na literatura (WILLIAM et al., 1980; FARRAR e KENNEDY, 1987).

Quadro 7 - Identificação parcial dos componentes das subfrações (Sf.) do extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum* através da corrente total de íons (Figura), com o n^o de pico e a intensidade relativa, utilizando-se o maior índice de similaridade entre o espectro de massas de cada pico e os espectros da biblioteca do CG/EM e de padrões

Sf.	Figura	N ^o do Pico (Intensidad e Relativa)	Compostos com Maior Índice de Similaridade Sugeridos pelo CG/EM	Confirmação da Identificação por Meio dos Padrões
A	2	1 (2,97%)	.	-
		2 (3,16%)	.	-
		3 (14,52%)	dodecano (93%)	-
		4 (8,76%)	tridecano ou 2,6-dimetil-heptadecano (89%)	-
		5 (21,31%)	dodecano, tridecano, tetradecano ou pentadecano (94%)	-
		6 (12,56%)	dodecano ou heptadecano (90%)	-
		7 (3,01%)	.	-
		8 (10,97%)	pentadecano (92%)	-
		9 (2,92%)	.	-
		10 (19,82%)	pentadecano (89%)	-
A1	3	1 (13,25%)	.	-
		2 (13,75%)	.	-
		3 (11,75%)	.	-
		4 (61,63%)	.	-
A2	4	1 (12,13%)	.	-
		2 (81,55%)	dodecano ou pentadecano (89%)	-
		3 (6,32%)	.	-
A3	5	1 (10,26%)	.	-
		2 (60,81%)	alfa-copaeno ou alfa-cubebeno 80%	-
		3 (6,65%)	.	-
		4 (22,28%)	.	-
A4	6	1 (13,80 %)	.	-
		2 (86,20 %)	dodecano ou pentadecano (87%)	-
B	7	1 (5,06%)	.	-
		2 (5,64%)	.	-
		3 (40,64%)	trans-cariofileno (87%)	trans-cariofileno
		4 (48,66%)	pentadecano (90%)	-
C	8	1 (0,57%)	.	-
		2 (0,97%)	.	-
		3 (91,21%)	trans-cariofileno (91%)	trans-cariofileno
		4 (1,79%)	.	-
		5 (1,86%)	.	-
		6 (0,76%)	.	-
		7 (0,56%)	.	-
		8 (0,66%)	.	-
		9 (0,48%)	.	-
		10 (1,15%)	.	-

Continua...

Quadro 7, Cont.

Sf.	Figura	Nº do Pico (Intensidad e Relativa)	Compostos com Maior Índice de Similaridade Sugeridos pelo CG/EM	Confirmação da Identificação por Meio dos Padrões
D	9	1 (92,01%)	trans-cariofileno (91%)	trans-cariofileno
		2 (7,99%)	.	-
E	10	1 (55,29%)	trans-cariofileno (90%)	trans-cariofileno
		2 (6,94%)	.	-
		3 (2,77%)	.	-
		4 (6,07%)	.	-
		5 (2,13%)	.	-
		6, 19,34%	.	-
		7 (7,47%)	.	-
E1	11	1 (60,37%)	trans-cariofileno (90%)	trans-cariofileno
		2 (10,18%)	alfa-humuleno ou trans-cariofileno (84%)	-
		3 (6,79%)	.	-
		4 (11,83%)	.	-
		5 (10,83%)	.	-
F	12	1 (24,96%)	trans-cariofileno (88%)	trans-cariofileno
		2 (59,84%)	alfa-humuleno (90%)	alfa-humuleno
		3 (3,46%)	.	-
		4 (5,44%)	.	-
		5 (2,08%)	.	-
		6 (4,23%)	.	-
G	13	1 (9,36%)	undecan-2-ona (96%)	undecan-2-ona
		2 (0,33%)	.	-
		3 (87,84%)	tridecan-2-ona (97%)	tridecan-2-ona
		4 (2,48%)	decan-2-ona, dodecan-2-ona (91%)	-
H	14	1 (9,51%)	undecan-2-ona (96%)	undecan-2-ona
		2 (0,28%)	.	-
		3 (87,93%)	tridecan-2-ona (97%)	tridecan-2-ona
		4 (2,28%)	decan-2-ona, dodecan-2-ona (90%)	-
H1	15	1 (5,03%)	undecan-2-ona (96%)	undecan-2-ona
		2 (92,27%)	tridecan-2-ona (97%)	tridecan-2-ona
		3 (2,70%)	decan-2-ona, dodecan-2-ona (91%)	-
I	16	1 (10,28%)	undecan-2-ona (94%)	undecan-2-ona
		2 (1,92%)	.	-
		3 (87,80%)	tridecan-2-ona (96%)	tridecan-2-ona
IA	17	1 (9,18%)	undecan-2-ona (96%)	undecan-2-ona
		2 (0,30%)	.	-
		3 (88,15%)	tridecan-2-ona (96%)	tridecan-2-ona
		4 (2,36%)	decan-2-ona ou dodecan-2-ona (91%)	-

Continua...

Quadro 7, Cont.

Sf.	Figura	Nº do Pico (Intensidad e Relativa)	Compostos com Maior Índice de Similaridade Sugeridos pelo CG/EM	Confirmação da Identificação por Meio dos Padrões
IB	18	1 (10,46%)	undecan-2-ona (95%)	undecan-2-ona
		2 (0,54%)	.	-
		3 (85,93%)	tridecan-2-ona (96%)	tridecan-2-ona
		4 (1,13%)	2-heptanol, 3-metil-2-heptanol, 5-metil-2-heptanol ou 6metil-2-heptanol (88%) decan-2-ona ou dodecan-2-ona (89%)	-
		5 (1,95%)	.	-
IC	19	1 (6,40%)	.	-
		2 (29,58%)	.	-
		3 (15,19%)	2-metil-pentanal (89%)	-
		4 (18,34%)	2-heptanol, 2-octanol, 2-nonanol, 3-metil-2-heptanol, 5-metil-2-heptanol, ou 6-metil-2-heptanol (88%)	-
		5 (6,44%)	.	-
		6, 19,71%)	.	-
		7 (4,33%)	.	-
ID	20	1 (47,60%)	.	-
		2 (10,89%)	.	-
		3 (30,68%)	.	-
		4 (10,83%)	.	-
IE	21	1 (46,42%)	.	-
		2 (53,58%)	.	-
J	22	1 (5,43%)	undecan-2-ona (93%)	undecan-2-ona
		2 (1,36%)	.	-
		3 (0,71%)	.	-
		4 (1,96%)	.	-
		5 (87,21%)	tridecan-2-ona (96%)	tridecan-2-ona
		6 (0,82%)	.	-
		7 (2,52%)	.	-
L	23	1 (9,27%)	undecan-2-ona (94%)	undecan-2-ona
		2 (1,65%)	.	-
		3 (0,69%)	.	-
		4 (2,68%)	.	-
		5 (82,40%)	tridecan-2-ona (96%)	tridecan-2-ona
		6 (1,23%)	.	-
		7 (2,09%)	.	-
M A	24	1 (5,07%)	.	-
		2 (4,16%)	.	-
		3 (8,93%)	.	-
		4 (55,78%)	octano, undecano, dodecano, pentadecano (89%)	-
		5 (26,06%)	2,7-dimetil-octano (88%)	-

Continua...

Quadro 7, Cont.

Sf.	Figura	Nº do Pico (Intensidad e Relativa)	Compostos com Maior Índice de Similaridade Sugeridos pelo CG/EM	Confirmação da Identificação por Meio dos Padrões
MI	25	1 (4,99%)	.	-
		2 (79,46%)	dodecano, tridecano ou pentadecano (92%)	-
		3 (5,40%)	.	-
		4 (10,15%)	.	-
N	26	1 (76,80%)	.	-
		2 (23,20%)	.	-
O	27	1 (10,99%)	2-heptanol (83%)	-
		2 (11,10%)	.	-
		3 (36,91%)	2-heptanol, 2-octanol, 2-nonanol, 3-metil- 2-heptanol, 5-metil-2-heptanol ou 6-metil- 2-heptanol 89%	-
		4 (19,02%)	.	-
		5 (15,62%)	.	-
		6 (6,37%)	.	-

Obs.: (.) Compostos não apresentados por terem baixo índice de similaridade no CG/EM.

(-) Compostos não confirmados pelos padrões devido à não-correlação, com os tempos de retenção.

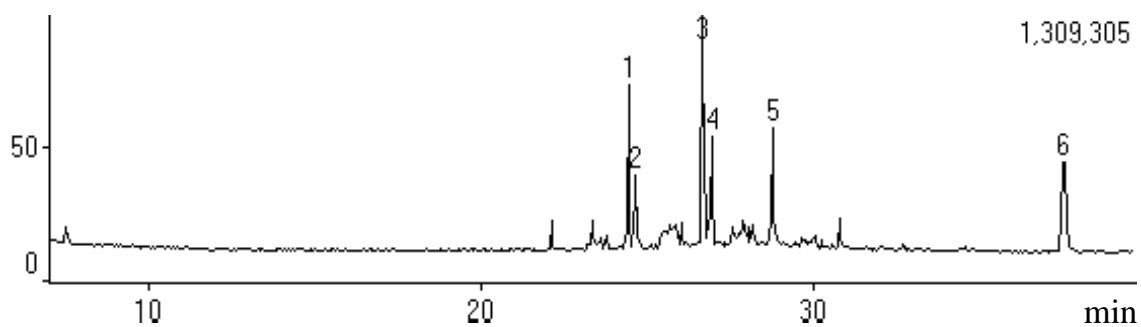


Figura 2 - Corrente total de íons da subfração A do extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum*.

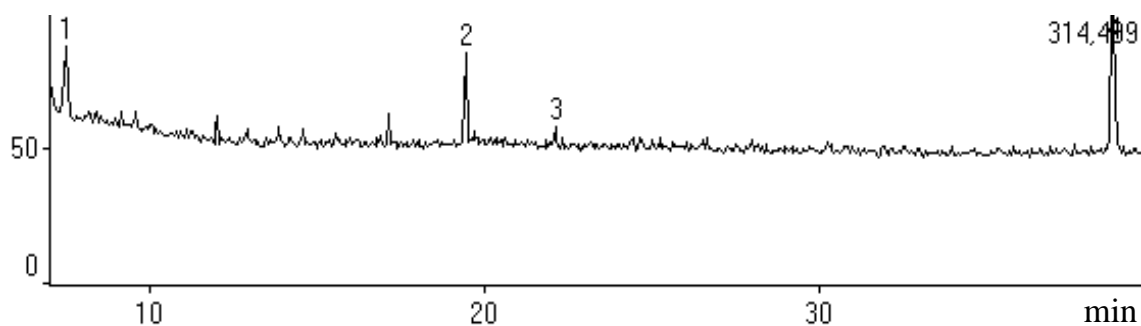


Figura 3 - Corrente total de íons da subfração A1 do extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum*.

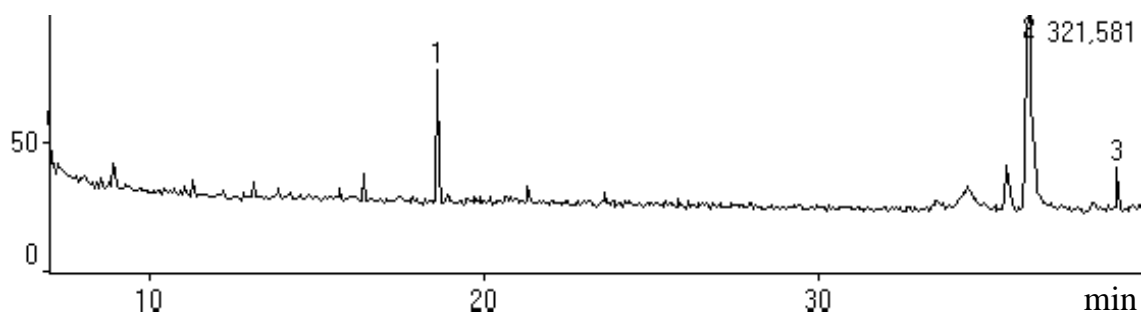


Figura 4 - Corrente total de íons da subfração A2 do extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum*.

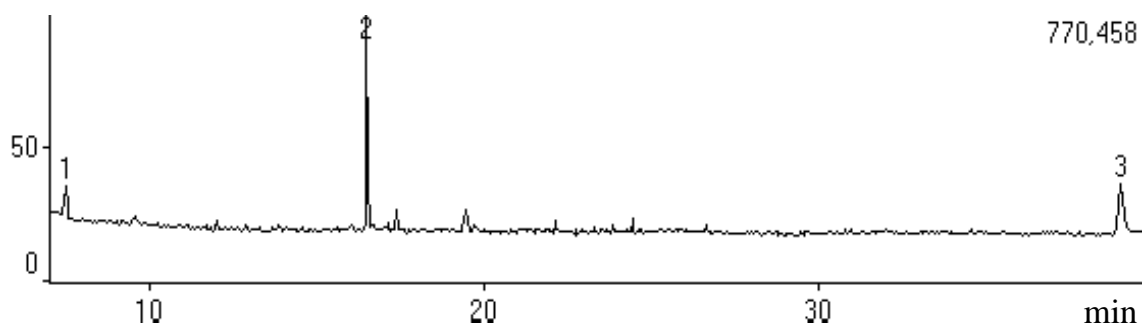


Figura 5 - Corrente total de íons da subfração A3 do extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum*.

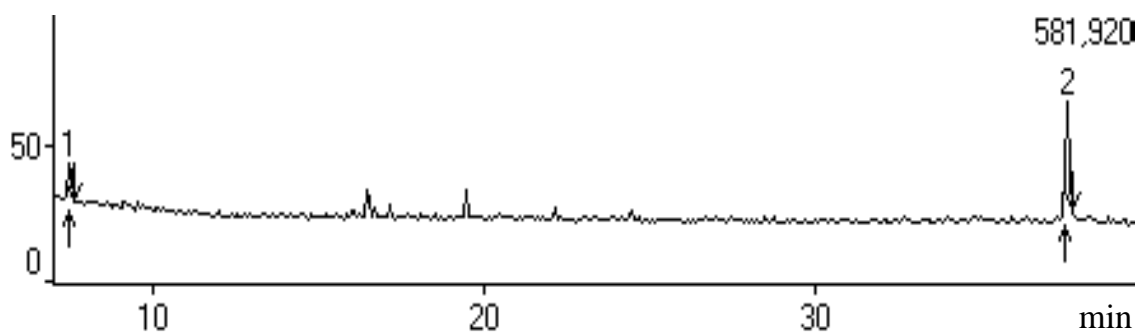


Figura 6 - Corrente total de íons da subfração A4 do extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum*.

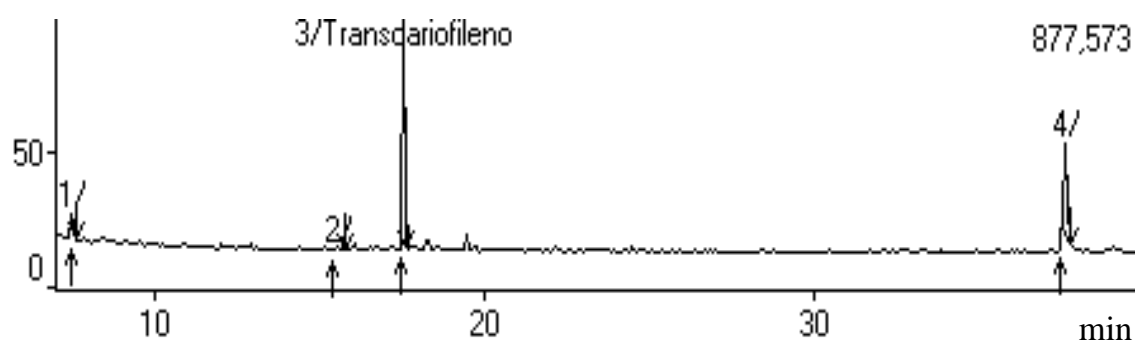


Figura 7 - Corrente total de íons da subfração B do extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum*.

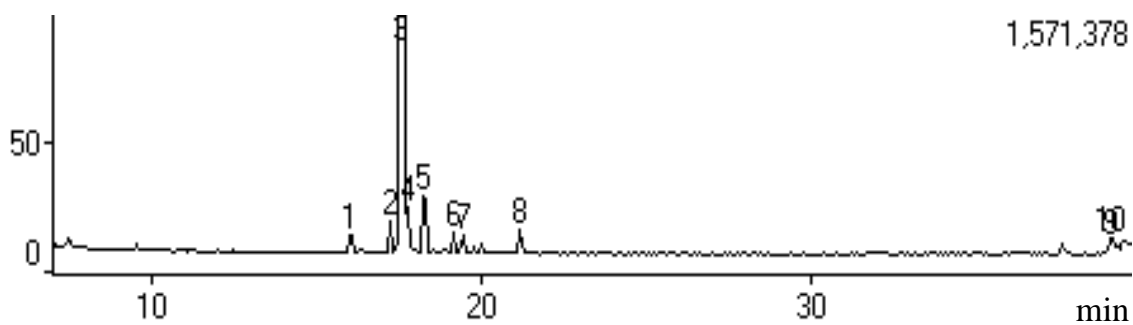


Figura 8 - Corrente total de íons da subfração C do extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum*.

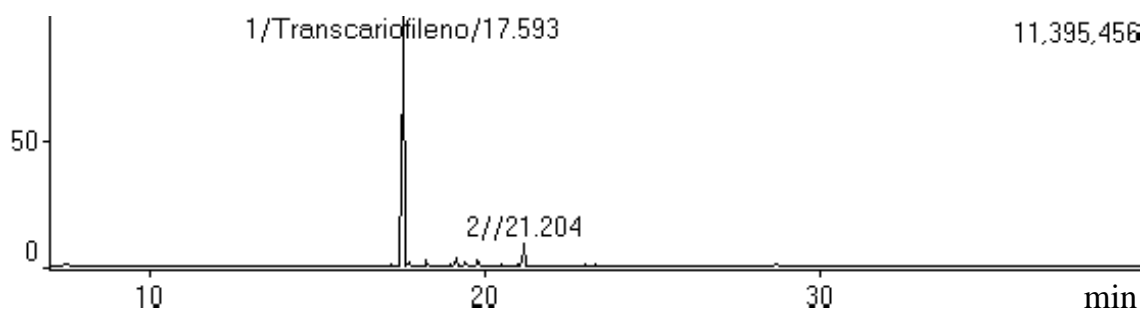


Figura 9 - Corrente total de íons da subfração-D do extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum*.

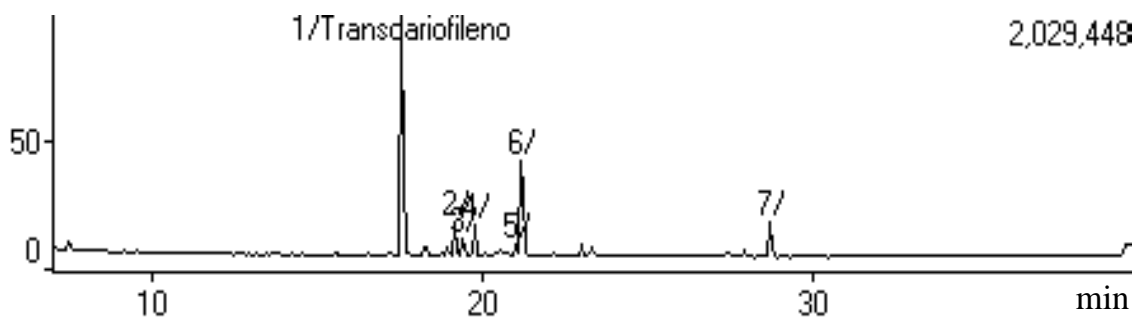


Figura 10 - Corrente total de íons da subfração E do extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum*.

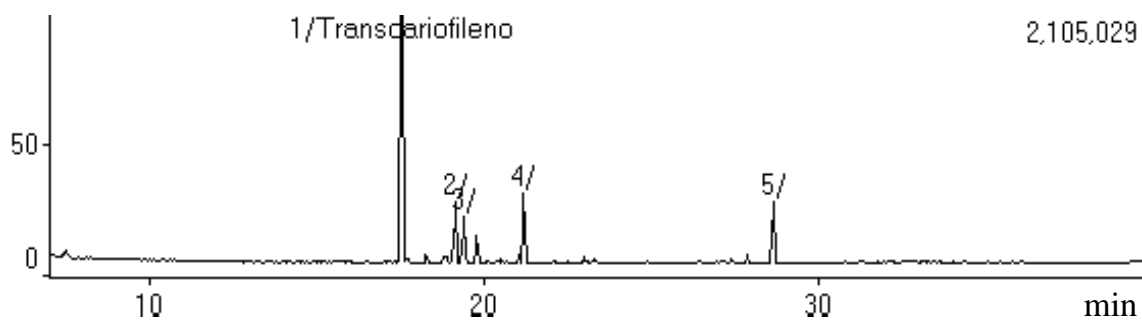


Figura 11 - Corrente total de íons da subfração E1 do extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum*.

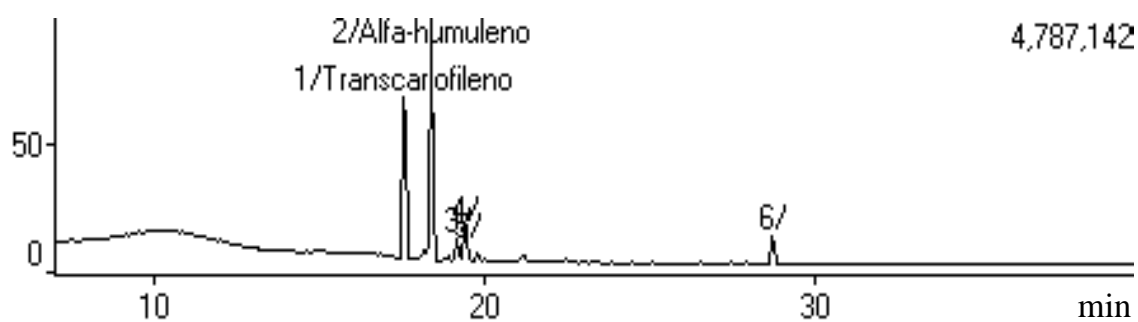


Figura 12 - Corrente total de íons da subfração F do extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum*.



Figura 13 - Corrente total de íons da subfração G do extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum*.

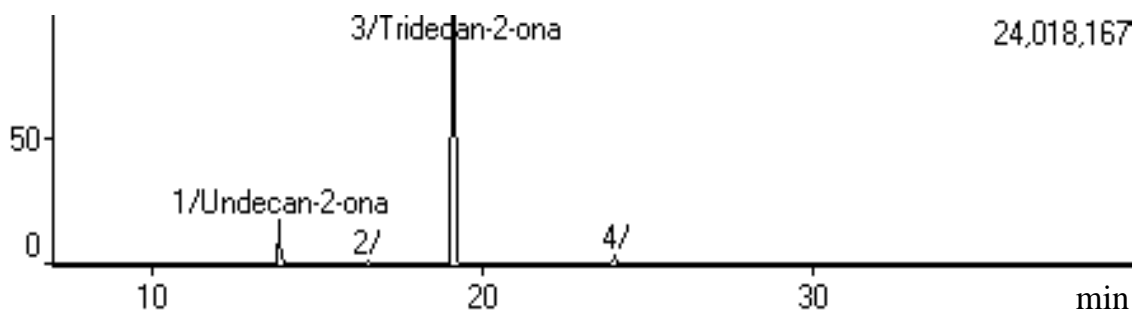


Figura 14 - Corrente total de íons da subfração H do extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum*.



Figura 15 - Corrente total de íons da subfração H1 do extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum*.

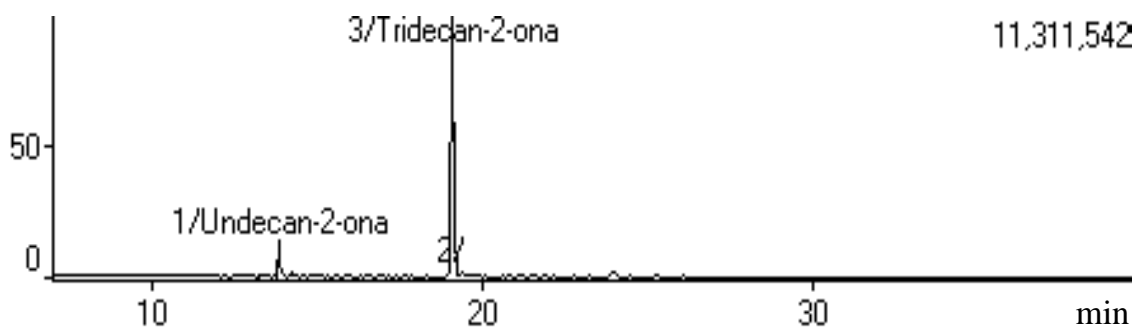


Figura 16 - Corrente total de íons da subfração I do extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum*.

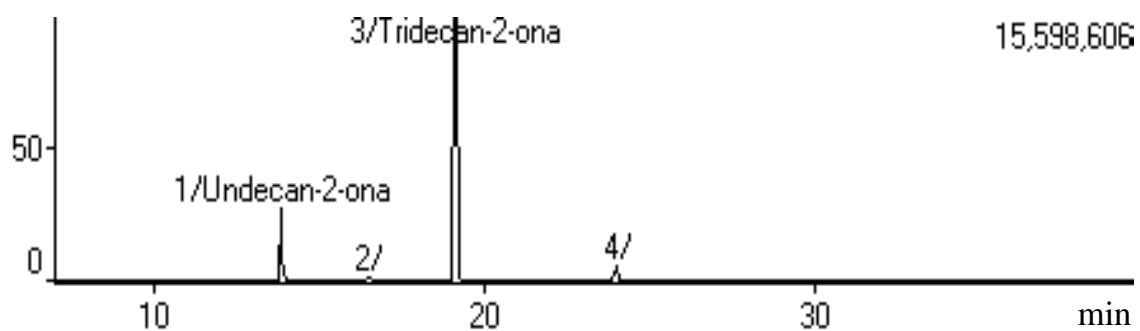


Figura 17 - Corrente total de íons da subfração IA oriunda do refractionamento da subfração I do extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum*.



Figura 18 - Corrente total de íons da subfração IB oriunda do refractionamento da subfração I do extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum*.

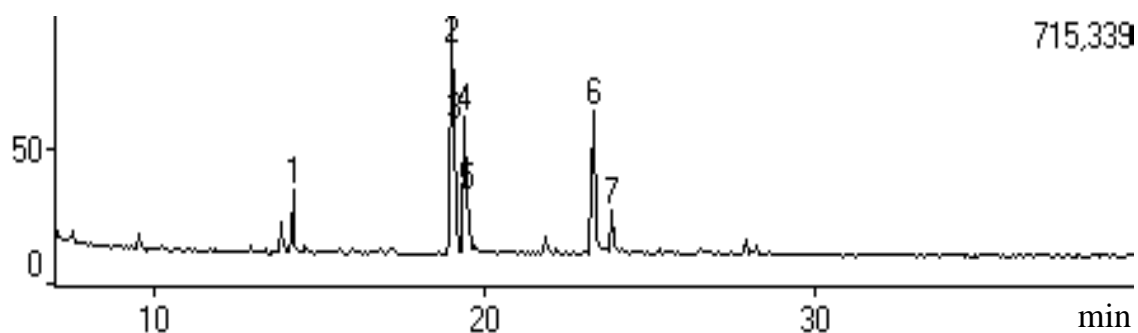


Figura 19 - Corrente total de íons da subfração IC oriunda do refractionamento da subfração I do extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum*.

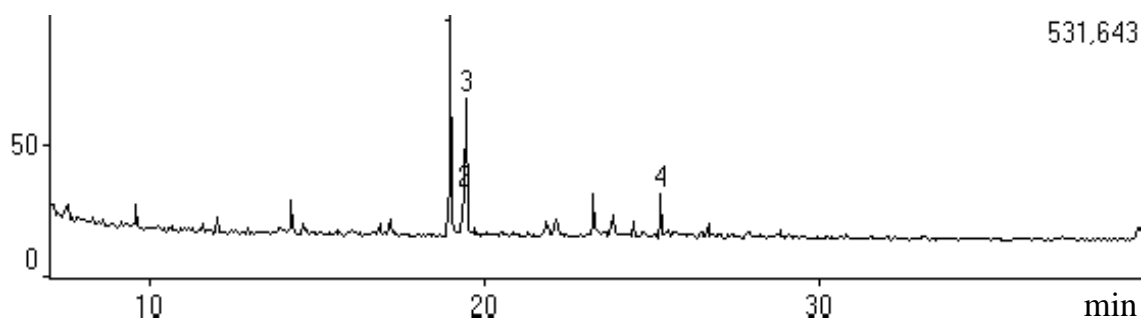


Figura 20 - Corrente total de íons da subfração ID oriunda do refractionamento da subfração I do extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum*.

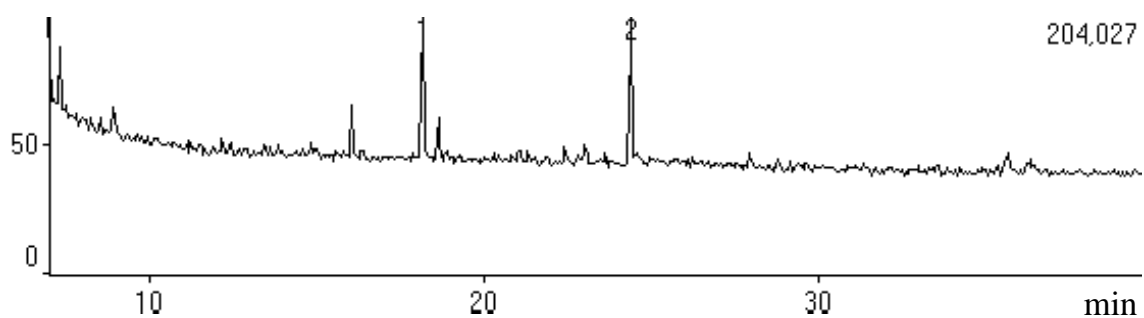


Figura 21 - Corrente total de íons da subfração IE oriunda do refractionamento da subfração I do extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum*.



Figura 22 - Corrente total de íons da subfração J do extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum*.

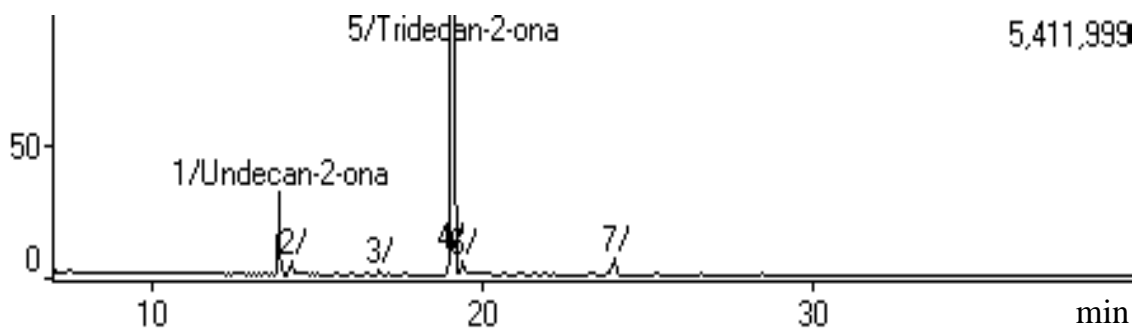


Figura 23 - Corrente total de íons da subfração L do extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum*.

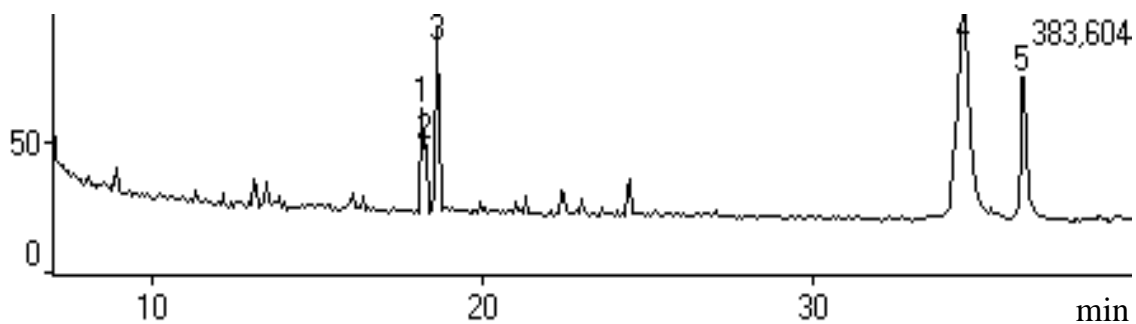


Figura 24 - Corrente total de íons da subfração MA do extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum*.

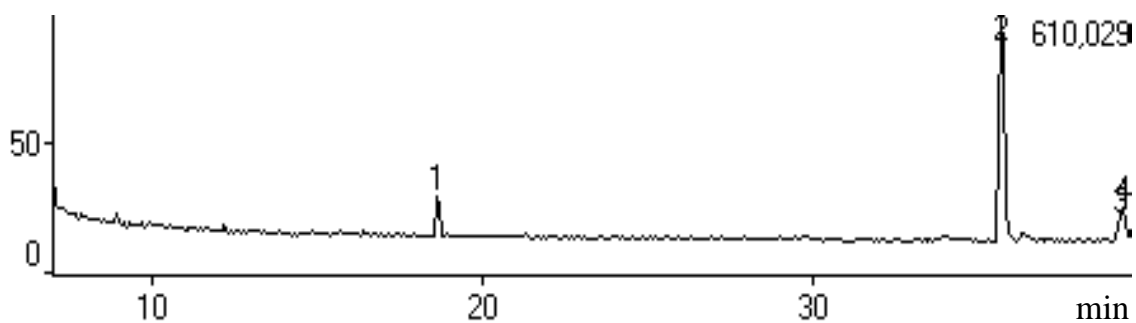


Figura 25 - Corrente total de íons da subfração MI do extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum*.

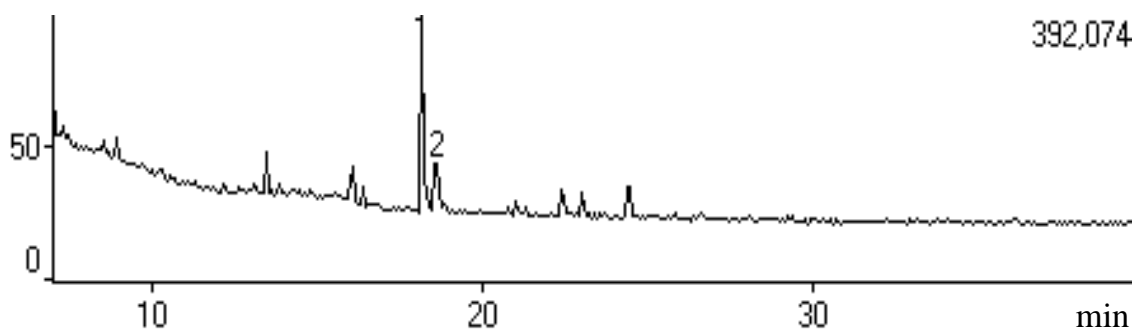


Figura 26 - Corrente total de íons da subfração N do extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum*.

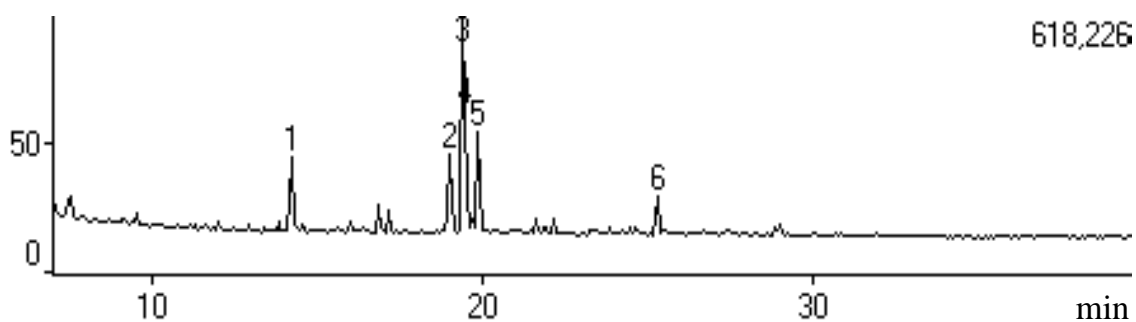


Figura 27 - Corrente total de íons da subfração O do extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum*.

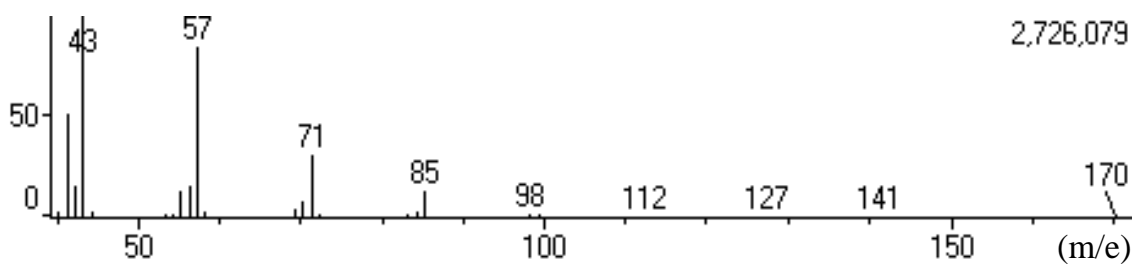


Figura 28 - Espectro de massas de undecan-2-ona oriundo da corrente total de íons da subfração H no tempo de retenção de 13,895 min, em que os principais íons têm intensidade: 43(100), 58(84,09), 71(16,83), 85(3,70) e 170(1,12).

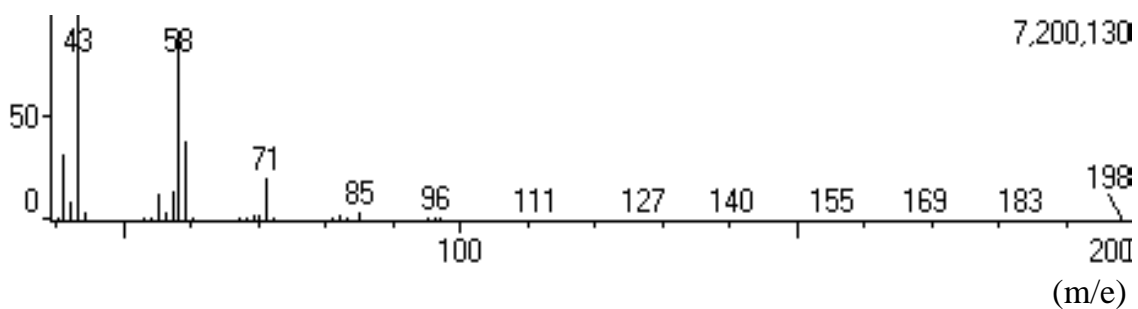


Figura 29 - Espectro de massas de tridecan-2-ona oriundo da corrente total de íons da subfração H no tempo de retenção de 19,144 min, em que os principais íons têm intensidade: 43(100), 58(89,98), 71(19,15), 85(4,75), 96(2,59), 140(1,00) e 198(0,78).

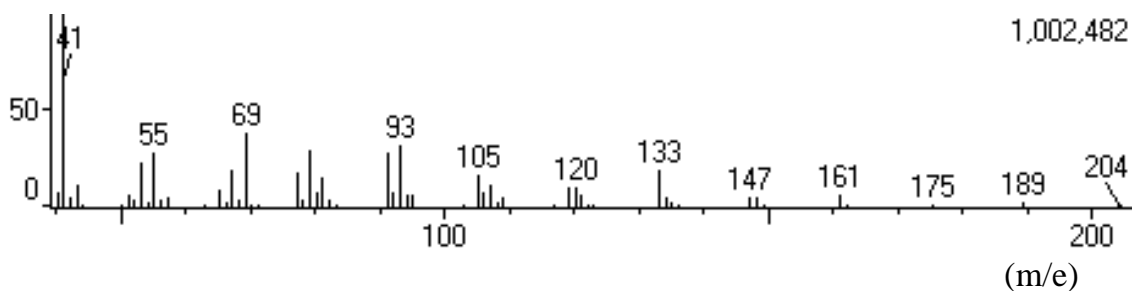


Figura 30 - Espectro de massas de trans-cariofileno oriundo da corrente total de íons da subfração D no tempo de retenção de 17,593 min, em que os principais íons têm intensidade: 41(100), 55(29,03), 69(39,00), 93(32,37), 105(17,04), 120(10,97), 133(19,85), 147(5,77), 161(7,60), 175(1,72), 189(3,34) e 204(1,07).

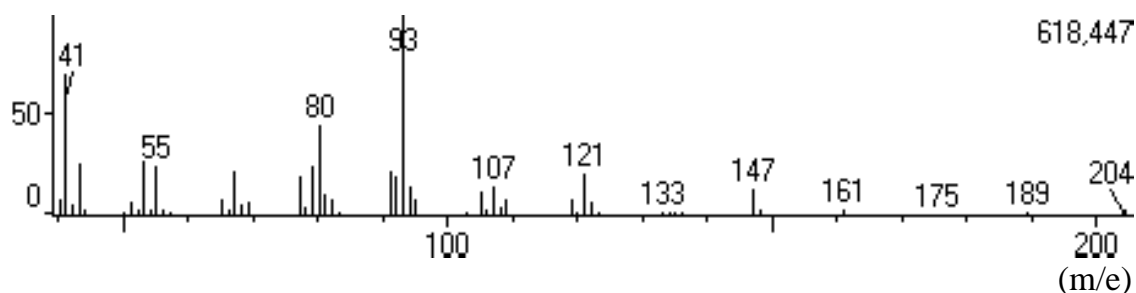


Figura 31 - Espectro de massas de alfa-humuleno oriundo da corrente total de íons da subfração F no tempo de retenção de 18,422 min, em que os principais íons têm intensidade: 41(69,58), 55(24,21), 80(44,35), 93(100,00), 107(14,68), 121(20,91), 133(2,29), 147(12,65), 161(2,69), 175(0,25), 189(1,78) e 204(3,30).

Verificou-se, ainda, que as subfrações G, H, L, IA e IB diferiam significativamente da testemunha, sendo as mais tóxicas, e as subfrações H1 e I diferiam significativamente das anteriores, bem como da testemunha, sendo o segundo conjunto das subfrações mais tóxico (Quadro 6). Portanto, pode-se afirmar, com base nos resultados dos Quadros 6 e 7, que tridecan-2-ona e undecan-2-ona atuam negativamente sobre a traça-do-tomateiro como inseticidas naturais, pois essas duas substâncias estão contidas em quantidades majoritárias nessas subfrações, conforme assinalaram GIUSTOLIN e VENDRAMIM (1996).

As subfrações B, C, D, E e E1 apresentaram trans-cariofileno e a subfração F, trans-cariofileno e alfa-humuleno, como compostos em grandes quantidades (intensidade relativa > 24,96%), com índice de similaridade superior a 88%. A existência desses compostos foi confirmada pelo aumento das áreas dos picos nas correntes totais de íons após a adição dos padrões às subfrações. Tais resultados vêm confirmar que trans-cariofileno e alfa-humuleno estão presentes no tomateiro-selvagem *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417), conforme FARRAR e KENNEDY (1990). Os demais compostos presentes nessas subfrações podem ser hidrocarbonetos e outras substâncias não identificadas.

Nos testes biológicos com as subfrações D e F, conforme mostrado no Quadro 6, pode-se verificar que elas não diferiam significativamente da

testemunha, nas concentrações de 2,0 e 6,0 mg/mL da subfração do extrato. Nas análises por CG/EM, verificou-se que na subfração D o trans-cariofileno era o principal composto (com 92,01% de intensidade relativa) e a subfração F apresentava como primeiro e segundo compostos o alfa-humuleno e o trans-cariofileno, com 59,84% e 24,96% de intensidade relativa, respectivamente (Quadro 7). Portanto, pode-se concluir que essas duas substâncias não atuam como inseticidas naturais sobre a traça-do-tomateiro. Esperava-se que tais substâncias fossem letais, pois FARRAR e KENNEDY (1990) verificaram a redução do crescimento em *H. zea* pelo aumento do desenvolvimento larval e diminuição do peso pupal quando se adicionavam trans-cariofileno e alfa-humuleno a dietas artificiais. Já as subfrações A, A1, A2, A3, A4, IC, ID, IE, MA, MI, N e O parecem conter alguns hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, cetonas e outros compostos, cuja identificação não pôde ser confirmada (Quadro 7). Não foi encontrado no extrato hexânico do tomateiro-selvagem *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417) estudado o composto gama-elemeno conforme relatado por EIGENBRODE e TRUMBLE (1993) em extratos da superfície foliar desse mesmo acesso. Tal ausência pode ser explicada pelas diferenças na extração, pelas condições de plantio desse tomateiro e pela procedência dos bancos de germoplasma que se situam em locais com condições ambientais diferentes, além de outros fatores. Outras substâncias como a alfa-tomatina e o ácido clorogênico, identificados por ELLIGER et al. (1981), não foram encontrados também no extrato hexânico devido à sua polaridade, mas sim em extratos polares como o etanólico. Já os açúcares redutores relatados por SILVA (1995) também não foram encontrados devido à metodologia diferente de extração e determinação.

LIN et al. (1987) encontraram um sesquiterpeno, $C_{15}H_{24}$, no extrato dos tricomas glandulares de *L. hirsutum* f. *glabratum* PI 1334417, com espectro de massas e intensidades relativas: 204(13), 161(34), 148(31), 133(91), 120(42), 119(39), 107(46), 105(60), 93(99), 91(84), 81(41), 77(78), 69(75), 67(41), 53(38), 41(100) e 39(42). Esse espectro assemelha-se bastante com o de massas do alfa-humuleno, conforme mostrado na Figura 31. Portanto, pode ser que esse sesquiterpeno encontrado nos tricomas glandulares daquele tomateiro seja o alfa-

humuleno, identificado na subfração F do extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417).

3.5. Quantificação de tridecan-2-ona e undecan-2-ona, via padrão interno dodecano, nas subfrações do extrato hexânico, utilizando-se o cromatógrafo de fase gasosa

O padrão interno foi adicionado somente após o fracionamento, para que se conseguisse obter concentração constante em cada fração. Caso contrário, se fosse adicionado o padrão interno antes do fracionamento, não poderia ser conhecida a quantidade do padrão interno em cada fração.

Inicialmente foi injetado somente o padrão interno dodecano, verificando-se que este possuía o tempo de retenção de 4,337 minutos. Em seguida, injetaram-se os padrões tridecan-2-ona e undecan-2-ona, nas concentrações estabelecidas anteriormente, que possuíam os seguintes tempos de retenção: 14,397 e 11,253 minutos, respectivamente. Após as injeções dos padrões juntamente com o padrão interno, nas concentrações estabelecidas anteriormente, calcularam-se a razão das áreas dos picos (variável X) e a razão das concentrações usadas (variável Y). Esses cálculos foram feitos para cada um dos padrões 2-TD e 2-UD, efetuando-se a seguir a regressão linear ($Y=A.X+B$), para que fosse construída a curva de calibração de 2-TD e 2-UD (Quadro 8).

Baseado nas curvas de calibração, bem como na quantidade de material injetado das frações e nos novos valores de razão de áreas e razão de concentração produzidos, foram definidas as porcentagens de tridecan-2-ona e undecan-2-ona presentes em cada subfração (Quadro 9).

Verifica-se, no Quadro 9, que 2-TD e 2-UD estavam presentes nas subfrações G, H, H1, I, IA, IB, J e L e que a quantidade de 2-TD era sempre superior à de 2-UD. Isso levou à conclusão de que nas folhas do tomateiro *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417) a quantidade de 2-TD é maior que a de 2-UD também na planta, conforme relataram EIGENBRODE e TRUMBLE (1993) e GIUSTOLIN et al. (1997).

Quadro 8 - Razão das concentrações e das áreas de cada um dos padrões utilizados para construção das curvas de calibração de tridecan-2-ona e undecan-2-ona, coeficiente angular (A) e coeficiente linear (B) das equações, bem como para o coeficiente de correlação (r) para cada um dos padrões

Undecan-2-ona		Tridecan-2-ona	
Razão das Concentrações	Razão das Áreas	Razão das Concentrações	Razão das Áreas
0,0662186	0,0688685	0,438979	0,329443
0,340502	0,288375	2,25753	1,87324
0,476703	0,398346	3,16057	2,63202
0,794803	0,624689	5,26792	4,27401
1,19176	0,860311	7,90143	5,83314
A = 1,41682	B = -0,0609062	A = 1,34387	B = -0,210681
$r^2=0,9951$		$r^2=0,9934$	

Quadro 9 - Quantificação de tridecan-2-ona e undecan-2-ona em miligramas e porcentual em relação à massa de cada subfração do extrato hexânico de *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417) determinado através de curvas de calibração feitas no (CG)

Subfração	Tridecan-2-ona		Undecan-2-ona	
	Massa	Porcentagem	Massa	Porcentagem
G	0,985 g	74,70%	0,198 g	15,02%
H	1,954 g	65,91%	0,293 g	9,89%
H1	0,044 g	70,18%	0,002 g	3,97%
I	2,270 g	15,39%	0,317 g	2,15%
J	0,0014 g	17,10%	0,002 g	0,31%
L	0,373 g	14,98%	0,007 g	1,91%
IA	0,308 g	71,86%	0,040 g	9,20%
IB	0,362 g	46,12%	0,056 g	7,15%

As subfrações G, H, H1, IA e IB apresentaram grandes quantidades porcentuais de tridecan-2-ona (>65,91%) e de undecan-2-ona (>3,97). Isso explica por que as subfrações G, H, IA e IB diferiram significativamente da testemunha, sendo, assim, as mais tóxicas (Quadros 6 e 9). Portanto, as frações que continham grandes quantidades de tridecan-2-ona e undecan-2-ona foram

altamente ativas nos testes biológicos com a traça-do-tomateiro (Quadro 6), mostrando que no tomateiro *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417) essas duas substâncias são os principais fatores químicos responsáveis pela resistência contra a traça-do-tomateiro e outras pragas, conforme citado por GIUSTOLIN e VENDRAMIM (1996).

As subfrações I, J e L foram as que apresentaram menores quantidades percentuais de tridecan-2-ona (<17,10%) e de undecan-2-ona (<2,15%). Entretanto, as subfrações L não diferem significativamente das subfrações G, H, IA e IB quando se utilizaram-se 6,0 mg/mL nos testes biológicos. Portanto, conclui-se que devem existir fatores de resistência diferentes de tridecan-2-ona e undecan-2-ona, os quais não foi possível identificar. Já a subfração J não diferiu significativamente da testemunha, ocorrendo o contrário com a I. Tal diferença pode ser atribuída a erros de experimentação. Esses resultados vêm confirmar os obtidos por GIUSTOLIN e VENDRAMIM (1996), que verificaram que tridecan-2-ona isoladamente ou misturada a undecan-2-ona foi altamente tóxica à traça-do-tomateiro quando incorporada à dieta artificial, conforme consta nos Quadros 6 e 9.

No presente trabalho, concluiu-se que quatro substâncias estão presentes nas subfrações do extrato hexânico de *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417): tridecan-2-ona (2-TD), undecan-2-ona (2-UD), trans-cariofileno e alfa-humuleno. As subfrações que continham as duas primeiras substâncias foram altamente ativas, enquanto as que continham trans-cariofileno e alfa-humuleno foram pouco ativas em testes biológicos. Existem outras substâncias presentes nesse extrato que, entretanto, não se mostraram muito ativas. Assim, conclui-se que 2-TD e 2-UD são os principais fatores de resistência contidos no extrato hexânico do tomateiro-selvagem *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417).

CAPÍTULO 2

TOXICIDADE DE TRIDECAN-2-ONA E UNDECAN-2-ONA A LARVAS DE *Tuta absoluta*

1. INTRODUÇÃO

A traça-do-tomateiro, *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae), é um inseto relatado como praga em diversos países da América do Sul. Apresenta potencial destrutivo muito grande, constituindo a principal praga da tomaticultura nacional. Seu controle tem sido feito por meio de aplicações de inseticidas organossintéticos até três vezes por semana, ocasionando intoxicações em seres humanos, devido às altas taxas de resíduos de agrotóxicos nos frutos, além de poluição ambiental, eliminação de inimigos naturais e resistência a inseticidas (SOUZA e REIS, 1986; GUEDES et al., 1994; MADEIRA et al., 1994; MOREIRA, 1995; PIKANÇO et al., 1995; PIKANÇO et al., 1996 a, b).

Uma das opções para solução desse problema é o desenvolvimento de cultivares resistentes a essa praga, em que o conhecimento dos fatores de resistência da planta são de grande importância, para que se possam orientar cruzamentos, entender os mecanismos de resistência e determinar a

hereditariedade dos genes que produzem essa característica, a fim de transferi-la a cultivares comerciais (LARA et al., 1986; EIGENBRODE e TRUMBLE, 1993; RAHIMI e CARTER, 1993; GIUSTOLIN e VENDRAMIM, 1996; GIUSTOLIN et al., 1997).

Segundo ATKINS et al. (1973), as curvas de concentração-mortalidade podem ser utilizadas para estudar e prever a toxicidade de aleloquímicos, com base nas concentrações letais, permitindo-se a verificação do impacto dessas substâncias sobre a população de pragas. Também, outra característica importante dessas curvas são suas inclinações, uma vez que curvas com alta inclinação resultariam em grandes variações na taxa de mortalidade do inseto em razão de pequenas oscilações na concentração desses aleloquímicos - ou seja, uma resposta homogênea da população de pragas -, o que redundaria na eliminação dos indivíduos mais suscetíveis, sobressaindo-se os menos suscetíveis, os quais iriam transferir essa característica às outras gerações. Entretanto, curvas com baixa inclinação têm mostrado ocorrência de pequenas variações na taxa de mortalidade do inseto em razão de grandes variações na concentração dos aleloquímicos, ou seja, a população responde de maneira heterogênea em função da suscetibilidade, não havendo a seleção de indivíduos menos suscetíveis.

Os aleloquímicos tridecan-2-ona (WILLIAMS et al., 1980) e undecan-2-ona (FARRAR e KENNEDY, 1987) encontrados nos tricomas tipo VI têm sido relatados como causas da resistência do tomateiro *L. hirsutum* f. *glabratum* Mull (PI 134417). LIN et al. (1987) verificaram em bioensaios com aplicação tópica, em *Keiferia lycopersicella* (Walsingham) (Lepidoptera: Gelechiidae) e *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), que misturas sintéticas de tridecan-2-ona e undecan-2-ona, na proporção de 3:1, demonstraram potenciação dessas misturas. FARRAR e KENNEDY (1987), estudando os efeitos de tridecan-2-ona e undecan-2-ona em dieta artificial, verificaram que este, quando combinado com aquele, aumentava a mortalidade de *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae), o mesmo não acontecendo com esse composto de forma isolada. Verificaram, ainda, que undecan-2-ona causou deformação e mortalidade pupal

de *H. zea*, tanto em misturas com tridecan-2-ona como isoladamente. GIUSTOLIN e VENDRAMIM (1996), testando a ação de tridecan-2-ona (2-TD) e undecan-2-ona (2-UD) adicionados à dieta artificial sobre a biologia de *T. absoluta* nas concentrações de 0,15% de 2-TD, 0,30% de 2-TD, 0,03% de 2-UD, 0,06% de 2-UD, 0,15% de 2-TD + 0,03% de 2-UD e 0,30% de 2-TD + 0,06% de 2-UD, verificaram que 2-TD, isoladamente ou em mistura com o 2-UD, resultou em 100% de mortalidade de larvas. Já o 2-UD, na concentração de a 0,03%, estimulou a taxa de desenvolvimento do inseto, porém na concentração de 0,06% causou alta mortalidade larval, na ordem de 91,4%.

Os estudos desenvolvidos por GIUSTOLIN e VENDRAMIM (1996), com o uso de dietas contendo os aleloquímicos 2-TD e 2-UD, foram pioneiros no Brasil e são de grande importância para o conhecimento dos efeitos desses compostos sobre a biologia da traça-do-tomateiro. Entretanto, tais resultados são os únicos disponíveis sobre os efeitos desses aleloquímicos na traça-do-tomateiro, e a metodologia utilizada para sua avaliação pode não refletir a realidade, uma vez que tais aleloquímicos estão contidos no interior dos tricomas, os quais estão presentes na superfície foliar do tomateiro *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417), enquanto as larvas da traça-do-tomateiro são encontradas quase sempre no interior das folhas, salvo nos momentos em que saem para trocar de ínstar e quando estão tentando entrar nas folhas. Portanto, o principal modo de ação desses aleloquímicos seria através do contato e não pela sua ingestão. O uso de dieta para avaliar os efeitos de 2-TD e 2-UD constitui situação estressante para as larvas e que pode levar a resultados diferentes da realidade. É possível que trabalhos que venham utilizar outras metodologias de avaliação dos aleloquímicos tridecan-2-ona e undecan-2-ona sobre a traça-do-tomateiro possam vir aumentar o conhecimento das causas químicas da resistência do tomateiro *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417).

O presente trabalho visou estabelecer uma nova metodologia de avaliação da toxicidade dos aleloquímicos tridecan-2-ona e undecan-2-ona sobre a traça-do-tomateiro, na qual as larvas não ficam continuamente em contato com

os aleloquímicos. Procurou estabelecer também curvas de concentração - mortalidade por esses aleloquímicos -, as quais permitirão prever o impacto dessas substâncias sobre populações da traça-do-tomateiro. Assim, baseado nesses resultados, os pesquisadores que trabalham com a espécie de tomate-selvagem *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417) poderão selecionar cultivares melhorados que sejam resistentes à traça-do-tomateiro e que tenham menor suscetibilidade à quebra dessa resistência.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Inicialmente, foram feitos alguns estudos para determinar qual o modo de aplicação dos aleloquímicos, o ínstar ideal para se retirarem as larvas de dentro das minas e qual o tempo ideal em que as larvas da traça permaneciam sem alimentação nas placas de Petri, bem como qual seria o melhor volume para dissolver os aleloquímicos tridecan-2-ona e undecan-2-ona e obter perfeita distribuição sobre o papel-filtro dentro da placa de Petri.

O modo de aplicação dos aleloquímicos dissolvidos em hexano foi testado, por ser um solvente que solubilizava bem os aleloquímicos. Portanto, aplicou-se hexano puro topicamente no inseto, na folha e no papel-filtro, com o objetivo de determinar qual o melhor modo de aplicação. Em seguida, estudos foram desenvolvidos para determinar qual dos quatro ínstars larvais apresentaria maior resistência e praticidade ao retirar as larvas de dentro das minas, sob uma lupa, bem como para verificar qual o volume de hexano mais adequado para a perfeita distribuição dos aleloquímicos sobre o papel-filtro.

Após a definição desses parâmetros, procedeu-se aos testes biológicos para determinar o tempo mínimo em que as larvas permaneceriam sem alimentação nas placas Petri sobre o papel-filtro. Portanto, após a adição de hexano no papel-filtro sobre cinco placas de Petri e a sua completa evaporação,

10 larvas foram transferidas para essas placas, as quais foram incubadas em estufas do tipo BDO. Em seguida, o período de tempo em que as larvas conseguiram permanecer sem alimentação e não morriam sobre placas de Petri incubadas nas estufas do tipo BDO foi definido por avaliações periódicas, em que se verificava a sobrevivência das 10 larvas 2, 4, 6, 8 e 10 horas, mediante o uso da seguinte fórmula:

$$\text{Sob} = [\sum N^{\circ} \text{ de larvas vivas}) / \sum N^{\circ} \text{ de larvas totais no tratamento}] . 100$$

Estabelecidas as condições dos bioensaios, estes foram iniciados no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, MG, utilizando-se larvas de 2^o ínstar de *Tuta absoluta*. Essas larvas foram retiradas de dentro das minas nas folhas do cultivar “Santa Clara”, com a ajuda de uma lupa, provenientes da criação massal da traça-do-tomateiro. Com a ajuda de um paquímetro, selecionavam-se as larvas que mediam entre 1,8 e 2,2 mm de comprimento, para serem utilizadas nos bioensaios.

Os tratamentos foram formados por tridecan-2-ona (2-TD) e undecan-2-ona (2-UD), padrões químicos da marca Aldrich, com a utilização de várias concentrações crescentes de 2-TD e 2-UD, bem como em misturas, em que se variava a concentração de 2-TD, mantendo-se fixa a concentração de 2-UD em 0,1; 0,5; 1,0; e 3,0 mg/mL (Quadro 1). Esse procedimento tinha como objetivo a determinação de vários pontos da curva de concentração-mortalidade, a fim de que se pudesse estimar, com no mínimo quatro pontos, os outros pontos da curva pela análise de próbite. Em seguida, esses aleloquímicos foram dissolvidos em hexano e distribuídos no papel-filtro. Os tratamentos foram compostos por cinco repetições, e cada repetição continha 10 larvas. Também, foi feito um tratamento contendo somente hexano, a fim de se avaliar a mortalidade das larvas na presença do solvente apenas, o qual constituiu o grupo-testemunha (branco).

Quadro 1 - Concentrações de undecan-2-ona (2-UD) (mg/mL), isoladamente, utilizadas nos testes de toxicidade com *Tuta absoluta*

Curvas	mg de Undecan-2-ona / mL de Solução				
2-UD	2,610	3,540	3,912	4,042	8,986

O experimento tinha início com a pesagem dos aleloquímicos (2-TD e 2-UD), na quantidade de cinco vezes a desejada, os quais eram dissolvidos em 5,0 mL de hexano e cada 1,0 mL dessa solução era espalhado na placas de Petri com 9 cm de diâmetro, a qual continha uma folha de papel-filtro redonda. Após a evaporação do hexano, 10 larvas foram colocadas sobre o papel-filtro e as placas de Petri foram tampadas com filme transparente de PVC.

A seguir, as placas foram incubadas em estufa do tipo BOD, a $25 \pm 0,5C$, por quatro horas sem alimentação, e, em seguida, as larvas foram transferidas para tubetes (10 cm de comprimento e 2,5 cm de diâmetro), onde havia uma folha de tomate com o pecíolo imerso num pouco de algodão embebido com água, no fundo do tubete. Então, esses tubetes foram tampados com o mesmo filme e novamente incubados por mais 18 horas, nas mesmas condições. Esta segunda etapa do experimento tinha o objetivo de verificar o possível efeito retardado dos aleloquímicos 2-TD e 2-UD sobre as larvas de 2^o ínstar de *T. absoluta*.

Quadro 2 - Concentrações de tridecan-2-ona (2-TD) (mg/mL), isoladamente e em misturas com undecan-2-ona (2-UD), utilizadas nos testes de toxicidade com *Tuta absoluta*

Curvas	mg de Tridecan-2-ona / mL de Solução				
2-TD	0,334	1,026	1,232	1,428	
2-TD + 0,1 mg/mL de 2-UD	0,606	1,104	1,236	1,430	
2-TD + 0,5 mg/mL de 2-UD	0,348	0,402	0,814	1,016	1,446
2-TD + 1,0 mg/mL de 2-UD	0,194	0,414	0,616	1,004	
2-TD + 3,0 mg/mL de 2-UD	0,196	0,396	0,614	1,004	

As avaliações foram realizadas em dois tempos, imediatamente após a exposição e 18 horas depois da exposição aos aleloquímicos, contando-se o número de larvas vivas e mortas. Calculou-se a sobrevivência imediatamente após a exposição e após 18 horas, Sob (Imd) e Sob (A18), bem como a mortalidade corrigida imediatamente após a exposição e depois de 18 horas, MC (Imd) e MC (A18), em relação à testemunha, conforme a fórmula de ABBOTT (1925).

A análise dos dados seguiu a metodologia descrita por FINNEY (1971), a qual submete no mínimo quatro concentrações à análise de próbite. Quando $p > 0,05$, a curva estimada é aceita. Essa análise permite estimar as curvas de concentração-mortalidade (uma solenóide) e transformá-las em curvas lineares regredidas em próbite, bem como estimar as concentrações letais (CL's) e os respectivos intervalos de confiança. A partir das concentrações letais, calculou-se o índice de toxicidade relativa (ITR), o qual foi obtido pela razão da CL de tridecan-2-ona (2-TD) pela CL de tridecan-2-ona (2-TD) + (0,1; 0,5; 1,0; e 3,0) mg de undecan-2-ona (2-UD).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para definir qual seria o melhor modo de aplicação dos aleloquímicos dissolvidos em hexano foram realizados testes de aplicação de hexano puro. Assim, testou-se a aplicação tópica sobre a folha e o papel-filtro. Observou-se que todas as larvas tratadas com hexano morriam, fato que levou ao descarte da aplicação tópica dos aleloquímicos dissolvidos nesse solvente. Verificou-se que as folhas de tomateiro, consideradas a dieta ideal para larvas de *Tuta absoluta* (GIUSTOLIN, 1991), em contato com o hexano se deterioravam em poucas horas, não possibilitando que os aleloquímicos dissolvidos em hexano fossem aplicados.

Tendo em vista essas limitações, tridecan-2-ona e undecan-2-ona dissolvidos em hexano foram aplicados em papéis-filtro contidos dentro de placas de Petri (9 cm de diâmetro). Para verificação do volume de hexano ideal que possibilitasse distribuição uniforme do hexano no papel-filtro e a rápida evaporação, foram testados os volumes de 0,5; 1,0; 1,5; e 2,0 mL, sendo o volume de 1 mL de hexano o que possibilitou boa distribuição e rápida evaporação, cerca de cinco minutos.

Testou-se também qual dos ínstaes da traça-do-tomateiro seria o ideal para os testes de toxicidade com tridecan-2-ona e undecan-2-ona. Como a traça-

do-tomateiro durante os seus quatro ínstar permanecia na maioria do tempo dentro da mina por ela formada, as larvas teriam que ser retiradas de dentro das minas. Verificou-se que as larvas de 1^o ínstar foram muito sensíveis à falta de alimentação e morriam freqüentemente quando se tentava retirá-las de dentro das minas. As larvas de 3^o e 4^o ínstar possuíam muita agilidade, o que dificultava sua manipulação, e por apresentarem comprimentos próximos, 6,0 - 7,0 e 7,0 - 8,0 mm, respectivamente (COELHO e FRANÇA, 1987), tornavam-se difíceis de serem identificadas. Já as larvas de 2^o ínstar se mostravam mais resistentes à manipulação (a retirada de dentro dos folíolos) e eram mais facilmente reconhecidas, pois a variação do seu comprimento (0,6 - 6,0 mm) e o tempo em que permaneciam nesse ínstar eram maiores (COELHO e FRANÇA, 1987). Portanto, devido ao fato de as larvas de 2^o ínstar possuírem características favoráveis aos testes biológicos, esse ínstar foi o escolhido para determinação, em testes biológicos, do tempo máximo em que essas larvas conseguiam ficar sem alimentação.

Como o as larvas de 2^o ínstar apresentavam grande variação no seu comprimento (0,6 a 6,0 mm), o que poderia acarretar respostas diferentes nos bioensaios, foi estabelecido um comprimento médio de 1,8 a 2,2 mm para as larvas que participariam do experimento. Por fim, determinou-se a sobrevivência dessas larvas sem alimentação no papel-filtro, no qual havia sido colocado o hexano (Quadro 3).

Quadro 3 - Sobrevivência de larvas de segundo ínstar de *Tuta absoluta* em função do tempo de inanição

Tempo de Inanição (horas)	Sobrevivência (%)
2	100
4	100
6	100
8	90
10	85

Verificou-se que até seis horas as larvas de 2^o ínstar, com 1,8 a 2,2 mm de comprimento, não morriam, indicando que poderiam ser submetidas à exposição de aleloquímicos sem se alimentarem durante esse período. Como as larvas foram retiradas de dentro das minas e ficavam sobre uma placa de Petri aguardando até uma hora para serem transferidas para as placas de Petri do experimento, preferiu-se utilizar o tempo de quatro horas de exposição aos aleloquímicos 2-TD e 2-UD.

Assim, no presente trabalho determinou-se outra metodologia para avaliar os efeitos dos aleloquímicos 2-TD e 2-UD, na qual as larvas entravam em contato com essas substâncias dentro de uma placa de Petri e, depois, eram transferidas para tubetes contendo um folíolo de tomate. Esta metodologia é bem mais próxima da realidade, pois as larvas ficavam expostas aos aleloquímicos por quatro horas, período em que a mortalidade da testemunha era nula. Em seguida, as larvas eram avaliadas quanto à sua mortalidade, sendo as vivas transferidas para outro recipiente, onde podiam se alimentar de folhas de tomate, a melhor dieta para a traça-do-tomateiro, permitindo avaliar algum efeito retardado desses aleloquímicos. Portanto, esta metodologia é mais próxima da realidade do que a proposta por GIUSTOLIN e VENDRAMIM (1996).

No Quadro 4, relacionam-se as concentrações letais de tridecan-2-ona e undecan-2-ona, isoladamente ou em misturas, para obtenção 50 e 90% da mortalidade das larvas de 2^o ínstar de *T. absoluta*, quando avaliadas imediatamente após as exposições e 18 horas depois. Pode-se verificar, nesse quadro, que a concentração letal de 2-UD, para 50% de mortalidade, foi superior oito vezes à de 2-TD, e a concentração letal de 2-UD, para 90% de mortalidade, foi cinco vezes à de 2-TD. Portanto, conclui-se que 2-TD foi bem mais potente que 2-UD, tanto na avaliação feita imediatamente após a extração como após 18 horas.

Pode-se observar, no Quadro 4, que os valores das concentrações letais de 2-TD e 2-UD utilizadas isoladamente ou em misturas, avaliadas logo após a exposição ou 18 horas após, foram bem semelhantes.

Quadro 4 - Concentrações letais de tridecan-2-ona (2-TD) e undecan-2-ona (2-UD), isoladamente e em misturas, juntamente com os respectivos intervalos de confiança para obtenção de 50 (CL₅₀) e 90% (CL₉₀) de mortalidade de larvas de *Tuta absoluta*

Tratamentos	CL ₅₀ (IC _{95%})*		CL ₉₀ (IC _{95%})*	
	Logo após Exposição	18 Horas após Exposição	Após Exposição	18 Horas após Exposição
2-UD (mg/mL)	4,9242 (4,6641 - 5,2564)	4,5561 (4,3387 - 4,8458)	7,6909 (6,9460 - 8,8296)	6,7750 (6,1350 - 7,8132)
2-TD (mg/mL)	0,5954 (0,5243 - 0,6627)	0,4822 (0,4093-0,5496)	1,3949 (1,2370 - 1,6225)	1,2770 (1,1156-1,5170)
2-TD (mg/mL) + 0,1 mg/mL de 2-UD	1,0472 (0,9914 - 1,0999)	0,9133 (0,8496 - 0,9713)	1,6319 (1,5146 - 1,8083)	1,5891 (1,4565 - 1,7900)
2-TD (mg/mL) + 0,5 mg/mL de 2-UD	0,6336 (0,5927 - 0,6762)	0,6863 (0,6440 - 0,7294)	1,1532 (1,0546 - 1,2865)	1,0701 (0,9893 - 1,1808)
2-TD (mg/mL) + 1,0 mg/mL de 2-UD	0,5955 (0,5424 - 0,6580)	-	1,3884 (1,1695 - 1,7672)	-
2-TD (mg/mL) + 3,0 mg/mL de 2-UD	1,1826 (0,9656 - 1,6400)	0,9582 (0,8072 - 1,2345)	4,1781 (2,6522 - 9,3444)	3,4812 (2,3236 - 6,8939)

- Tratamentos em que não foi possível estimar as concentrações letais de 2-TD e 2-UD a $p > 0,05$.

* IC_{95%} = intervalo de confiança a 95% de probabilidade.

P = probabilidade de significância para aceitar o teste de próbite.

A partir dos dados das concentrações letais de 2-TD e 2-UD, isoladamente e em misturas, utilizadas nos testes biológicos avaliados imediatamente à exposição e 18 horas após, calcularam-se os índices de toxicidade relativa (ITR) para 50 e 90 % de mortalidade (Figura 1). Esse índice permite avaliar a potência do tratamento e verificar qual interação pode estar ocorrendo entre 2-TD e 2-UD, quanto à sua toxicidade. Portanto, para determinada mortalidade, quando $ITR \text{ de } 2\text{-TD} = ITR \text{ de } 2\text{-TD} + 2\text{-UD}$ não está ocorrendo nenhuma interação; quando $ITR \text{ de } 2\text{-TD} > ITR \text{ de } 2\text{-TD} + 2\text{-UD} > 1$ está ocorrendo sinergismo; e quando $ITR \text{ de } 2\text{-TD} < ITR \text{ de } 2\text{-TD} + 2\text{-UD} < 1$ está ocorrendo antagonismo.

Verifica-se, na Figura 1, que para 50 % de mortalidade, quando avaliada imediatamente após a exposição, nos tratamentos 2-TD + 0,5 mg/mL de 2-UD e 2-TD + 1,0 mg/mL de 2-UD não ocorria nenhuma interação de 2-UD sobre 2-TD, pois o ITR desses tratamentos não diferia significativamente do ITR de 2-TD. Esses tratamentos foram os mais potentes, juntamente com o 2-TD. Assim, nos tratamentos 2-TD + 0,1 mg/mL de 2-UD e 2-TD + 3,0 mg/mL de 2-UD ocorria antagonismo de 2-UD sobre 2-TD, pois o ITR diferia significativamente do ITR de 2-TD, sendo menor que 1. Esses tratamentos foram os menos potentes entre os testados. Ainda, para 50% de mortalidade, quando avaliada 18 horas após a exposição, verificou-se que nos tratamentos 2-TD + 0,1 mg/mL de 2-UD, 2-TD + 0,5 mg/mL de 2-UD e 2-TD + 3,0 mg/mL de 2-UD ocorria antagonismo do 2-UD sobre o 2-TD, devido ao fato de ITR desses tratamentos diferir significativamente do ITR de 2-TD, sendo menor que 1. O tratamento 2-TD foi o mais potente, enquanto os 2-TD + 0,1 mg/mL de 2-UD e 2-TD + 3,0 mg/mL de 2-UD foram os menos potentes.

Para 90% de mortalidade (Figura 1) quando foram avaliados os tratamentos imediatamente após a exposição, verificou-se que nos tratamentos: 2-TD + 0,5 mg/mL e 2-TD + 1,0 mg/mL de 2-UD não ocorria interação do 2-UD sobre o 2-TD, pois o ITR desses tratamentos não diferia significativamente do ITR de 2-TD. Esses tratamentos foram os mais potentes, juntamente com o 2-TD.

- 2-TD
- 2-TD + 0,1 mg de 2-UD
- 2-TD + 0,5 mg de 2-UD
- 2-TD + 1,0 mg de 2-UD
- 2-TD + 3,0 mg de 2-UD

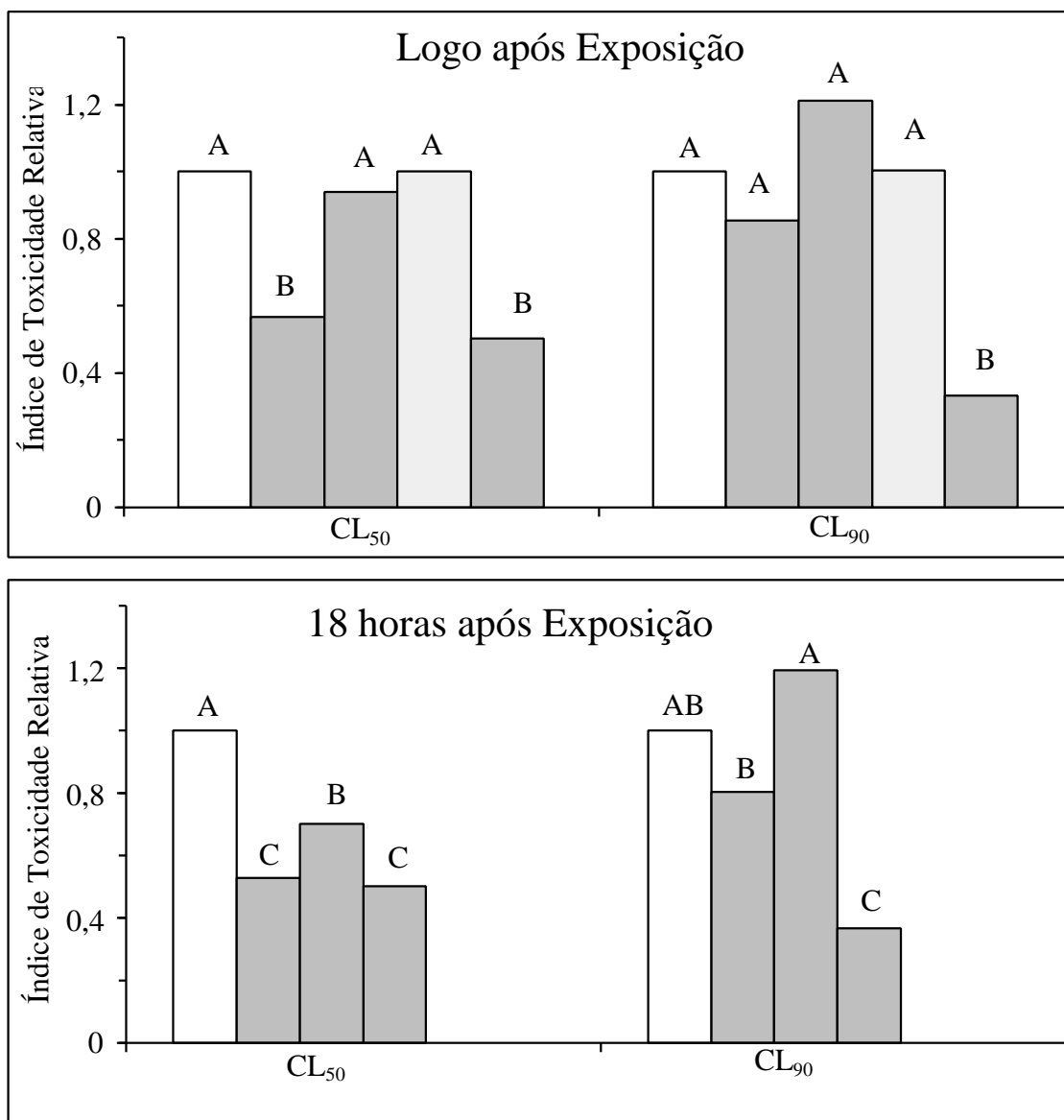


Figura 1 - Índices de toxicidade relativa das misturas de tridecan-2-ona (2-TD) e undecan-2-ona (2-UD) em relação a 2-TD 18 horas após a exposição, em larvas de *Tuta absoluta* (os histogramas, da mesma série, seguidos pela mesma letra não diferem significativamente entre si, a $p > 0,05$).

Nos tratamentos 2-TD + 0,1 mg/mL de 2-UD e 2-TD + 3,0 mg/mL de 2-UD houve interação antagonista do 2-UD sobre o 2-TD, devido ao fato de o ITR destes tratamentos diferir significativamente do ITR de 2-TD, sendo menor que 1. Esses tratamentos foram os menos potentes.

Quando avaliados os tratamentos 18 horas após a exposição, verificou-se que no tratamento 2-TD + 0,5 mg/mL de 2-UD não ocorria nenhuma interação do 2-UD sobre o 2-TD; esses tratamentos foram os mais potentes. Já nos tratamentos 2-TD + 0,1 mg/mL de 2-UD e 2-TD + 3,0 mg/mL ocorria interação antagonista do 2-UD sobre 2-TD. Tais tratamentos foram os menos potentes. Pôde-se verificar certa coincidência dos resultados das avaliações realizadas imediatamente após a exposição e as avaliações realizadas após 18 horas da exposição, indicando que 2-UD interage na toxicidade de 2-TD de maneira antagônica ou neutra, dependendo da concentração desses aleloquímicos. Esses resultados discordam, em parte, dos de FARRAR e KENNEDY (1987). Estes autores observaram relação sinérgica entre 2-TD e 2-UD. Tal fato pode ser devido às diferenças entre os métodos empregados. Na metodologia desses autores, a exposição aos aleloquímicos foi feita por ingestão, através da incorporação desses aleloquímicos às dietas artificiais.

Verificou-se que o coeficiente angular da equação da curva em próbite de 2-UD foi duas vezes maior, aproximadamente, que o coeficiente angular da equação da curva em próbite de 2-TD, tanto nas avaliações feitas imediatamente após a exposição como nas realizadas 18 horas depois da exposição (Quadro 5). Esses resultados indicam que 2-TD é bem mais potente que 2-UD.

Verificou-se ainda que os coeficientes angulares das equações da curva em próbite de 2-TD + 0,1 mg/mL de 2-UD, 2-TD + 0,5 mg/mL de 2-UD, 2-TD + 1,0 mg/mL de 2-UD e 2-TD + 3,0 mg/mL de 2-UD, avaliados imediatamente após a exposição, decresciam nessa ordem (Quadro 5). Os coeficientes das equações da curva em próbite de 2-TD + 0,5 mg/mL de 2-UD, 2-TD + 0,1 mg/mL de 2-UD e 2-TD + 3,0 mg/mL de 2-UD, avaliados 18 horas após a exposição, decresciam também nessa ordem (Quadros 5). Esses resultados

Quadro 5 - Equações de regressão, qui-quadrado e probabilidades das curvas de concentração-mortalidade dos aleloquímicos tridecan-2-ona (2-TD) e undecan-2-ona (2-UD) utilizados, isoladamente e em misturas, nos testes biológicos com larvas de 2^o instar de *T. absoluta*, avaliados imediatamente após a exposição

Curvas	Após Exposição			18 Horas após Exposição		
	Equações*	χ^2	Probabilidade	Equações*	χ^2	Probabilidade
2-UD (mg/mL)	$y = 0,423 + 6,610x$	6,599	0,08434	$y = 5,959+3,027x$	2,024	0,36491
2-TD (mg/mL)	$y = 5,780 + 3,462x$	0,488	0,78683	$y = 0,108+7,428x$	6,733	0,07951
2-TD (mg/mL) + 0,1 mg/mL de 2-UD	$y = 4,867 + 6,644x$	0,759	0,68954	$y = 5,210+5,321x$	3,051	0,21571
2-TD (mg/mL) + 0,5 mg/mL de 2-UD	$y = 5,975 +4,921x$	6,037	0,10810	$y = 6,085+6,625x$	5,911	0,05065
2-TD (mg/mL) + 1,0 mg/mL de 2-UD	$y = 5,784 + 3,482x$	1,693	0,56787	-	-	-
2-TD (mg/mL) + 3,0 mg/mL de 2-UD	$y = 4,830 + 2,335x$	4,349	0,11124	$y = 5,042+2,285x$	5,048	0,07810

*y = mortalidade em próbite e x = logaritmo da concentração do aleloquímico (mg/mL).

indicam que, de modo geral, à medida que aumenta a concentração de 2-UD usada conjuntamente com concentrações variáveis de 2-TD, as equações da curva de concentração-mortalidade em próbite de 2-TD + 2-UD tendem a diminuir o seu coeficiente angular, ou seja, ficam menos inclinadas, conforme consta na Figura 2.

As curvas de concentração-mortalidade de 2-TD + 0,1 mg/mL de 2-UD e 2-TD + 0,5 mg/mL de 2-UD, que possuem baixas concentrações de 2-UD, apresentaram maior coeficiente angular e, por conseguinte, maior inclinação (Figuras 1 e 2). Tais resultados indicam grande variação na toxicidade desses aleloquímicos quando ocorriam pequenas oscilações em sua concentração, ou seja, resposta homogênea da população da praga, influenciando decisivamente na seleção de indivíduos resistentes, pois sua ação no campo irá eliminar os indivíduos muito suscetíveis, em que sobressairão aqueles menos suscetíveis, que irão transferir essa característica às outras gerações da praga.

Com base nesses resultados, a seleção de plantas melhoradas para altas concentrações de 2-TD e baixas concentrações de 2-UD torna essas plantas bem mais suscetíveis à quebra da resistência e difícil o controle da traça-do-tomateiro, pois concentrações na planta pouco inferiores a estas implicariam redução substancial da mortalidade. O aumento de concentração na planta pouco superior a estas representaria custo adicional para obtenção dessas concentrações com tais níveis desses aleloquímicos, pois a população é muito suscetível e o controle já foi alcançado em concentrações inferiores.

As curvas de concentração-mortalidade de 2-TD, 2-TD + 1,0 mg/mL de 2-UD e 2-TD + 3,0 mg/mL de 2-UD e altas concentrações de 2-UD possuem menor coeficiente angular e, por conseguinte, menor inclinação da curva (Figura 2). Portanto, tais resultados indicam grande variação na toxicidade quando se varia pouco a concentração desses aleloquímicos, ou seja, a população responde de maneira heterogênea em função da sua suscetibilidade.

Com base nesses resultados, a seleção de plantas melhoradas, para altas concentrações de 2-TD e altas concentrações de 2-UD ou somente para altas concentrações de 2-TD, faz dessas plantas bem menos suscetíveis à quebra da

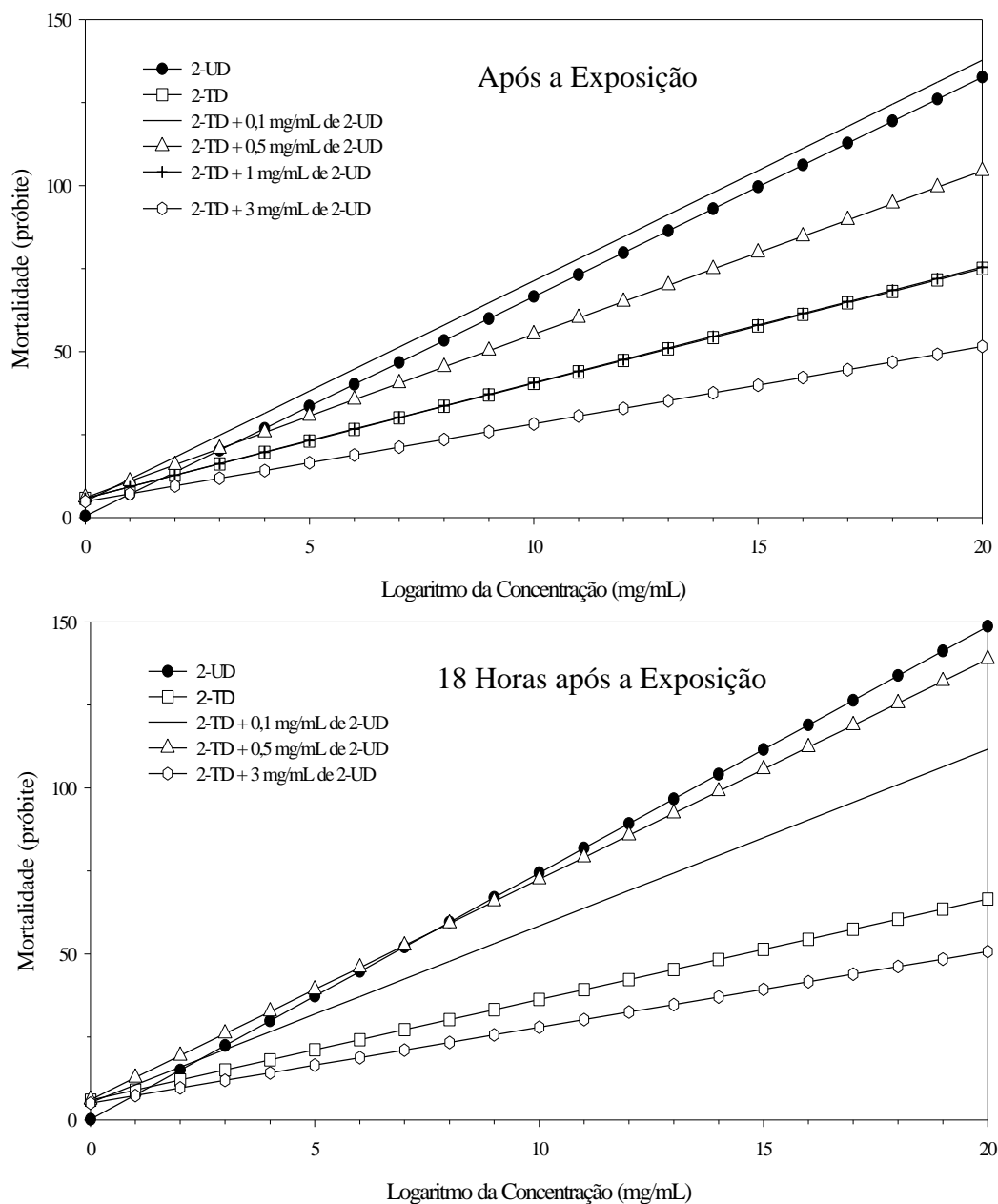


Figura 2 - Curvas de concentração-mortalidade dos aleloquímicos tridecan-2-ona (2-TD) e undecan-2-ona (2-UD), isoladamente e em misturas, obtidas com larvas de *Tuta absoluta*.

resistência, pois quando se utilizaram concentrações pouco superiores a essas não ocorreu redução substancial da mortalidade, agindo de maneira mais branda no ambiente e não prejudicando o controle da traça-do-tomateiro. Antes, porém, tais concentrações favoreceram a planta resistente, pois, para não controlar a população da praga, a planta deve conter uma subdosagem muitas vezes menor que a proposta. Da mesma forma, altas concentrações desses conjuntos de soluções não irão atuar de maneira a eliminar maior quantidade de pragas, porém poderiam eliminar outros insetos, como os inimigos naturais.

No tomateiro-selvagem *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417) têm sido verificado altas concentrações de 2-TD e baixas concentrações de 2-UD (GIUSTOLIN e VENDRAMIM, 1996). Esses resultados indicam que plantas melhoradas com altas concentrações de 2-TD e baixas de 2-UD seriam mais suscetíveis à quebra da resistência, além de serem mais danosas aos inimigos naturais se uma dessas plantas produzisse concentração desses aleloquímicos um pouco mais superior. Já plantas com altas concentrações de 2-TD e de 2-UD seriam mais adequadas para o controle da traça-do-tomateiro. Entretanto, como a concentração de 2-UD é naturalmente baixa, conclui-se que deve ser mais fácil produzir e selecionar plantas melhoradas a partir do tomateiro-selvagem *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417) que contenha somente altas concentrações de 2-TD e concentrações nulas ou mínimas de 2-UD.

Os resultados obtidos nas avaliações tanto imediatamente após a exposição como depois de 18 horas da exposição foram semelhantes entre si, conforme evidenciaram as mortalidades corrigidas analisadas em próbite, as equações e as curvas de concentração-mortalidade, as concentrações letais e os índices de toxicidade relativa (Quadros 4 e 5 e Figuras 1 e 2). Também, pode-se verificar nesses quadros e nessas figuras que não foi possível analisar os dados em próbite para o tratamento 2-TD + 1,0 mg de 2-UD, devido ao fato de $p < 0,05$, e, por conseguinte, as análises 18 horas após a exposição ficaram incompletas. Portanto, pode-se concluir que a metodologia para avaliar a toxicidade dos aleloquímicos tridecan-2-ona e undecan-2-ona pode resumir-se na avaliação da

mortalidade imediatamente após a exposição das larvas da traça-do-tomateiro aos aleloquímicos, a fim de que tal avaliação fique mais rápida.

Portanto, conclui-se que os programas de melhoramento de tomateiro baseados nos níveis de 2-TD e 2-UD deveriam selecionar plantas em que houvesse altas concentrações de 2-TD e concentrações nulas de 2-UD, com os objetivos de diminuir a suscetibilidade à quebra da resistência contra a traça-do-tomateiro e evitar antagonismos de 2-UD sobre 2-TD.

RESUMO E CONCLUSÕES

O tomateiro-selvagem *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417) tem-se mostrado resistente à traça-do-tomateiro *Tuta absoluta*.

O presente trabalho objetivou obter dados sobre fatores de resistência química deste tomateiro através da identificação dos componentes presentes no extrato hexânico de suas folhas, bem como avaliar sua toxicidade a *T. absoluta*. Outro objetivo foi determinar curvas de concentração-mortalidade dos padrões tridecan-2-ona (2-TD) e undecan-2-ona (2-UD). Portanto, sementes deste tomateiro foram plantadas na Horta Nova da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG, e aos 120 dias de idade as folhas foram extraídas com hexano por seis horas. O hexano foi evaporado e o resíduo, fracionado por coluna cromatográfica de sílica-gel, usando-se solventes de polaridades diversas.

As frações com composição química similar foram agrupadas em 29 subfrações e analisadas por cromatografia em fase gasosa/espectrometria de massas (CG/EM), identificando-se 2-TD, 2-UD, trans-cariofileno e alfa-humuleno. Verificou-se que sete subfrações, das oito que continham 2-TD e 2-UD como principais componentes, foram significativamente mais tóxicas que as outras subfrações, inclusive a testemunha, pelo teste de Scott-Knott a $p < 0,05$. Já a subfração que continha trans-cariofileno e alfa-humuleno como principais

componentes não foi significativamente mais tóxica que a testemunha, também pelo teste de Scott-Knott a $p < 0,05$. Conclui-se, com base neste estudo e outros da literatura, que 2-TD e 2-UD são os principais fatores de resistência presentes no extrato hexânico do tomateiro-selvagem *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417) contra *Tuta absoluta*.

O método de análise dos compostos químicos, CG/EM, mostrou-se muito interessante, por ser rápido, eficiente e não necessitar de purificação da amostra.

A metodologia desenvolvida para determinação de curvas de concentração-mortalidade foi adequada. Concluiu-se que 2-TD foi mais tóxico à traça-do-tomateiro que 2-UD e que ocorreram interações antagonistas e neutras de 2-UD sobre o 2-TD. Curvas de toxicidade em próbites de 2-TD, adicionando-se baixas concentrações de 2-UD, poderiam proporcionar respostas homogêneas na população da traça-do-tomateiro, e isso influenciaria decisivamente na seleção de indivíduos resistentes; curvas de toxicidade em próbites de 2-TD e 2-UD, adicionando-se altas concentrações de 2-UD, poderiam proporcionar respostas heterogêneas na população, o que não influenciaria na seleção de indivíduos.

Portanto, conclui-se que esses resultados poderão contribuir para os programas de melhoramento de cultivares de tomateiro comercial resistentes a *T. absoluta*, orientando-os na seleção de plantas com altas concentrações de 2-TD e baixas concentrações de 2-UD.

Estudos adicionais devem ser conduzidos com o objetivo de encontrar novos fatores de resistência em outros extratos, como etanólico, acetato etílico etc., para que se tenha conhecimento das características químicas do tomateiro *L. hirsutum* f. *glabratum*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v.18, n.4, p. 265-267, 1925.
- ATKINS, E. L., GERYWOOD, E. A., MACDONALD, R. L. **Toxicity of pesticides and other agricultural chemicals to honey bees**. Davis: University of California, 1973. p.36.
- BARBOSA, L. V., MALUF, W. R. Controle genético da resistência de *Lycopersicon* ssp. à traça do tomateiro, *Scrobipalpus absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.12, n.1, p.70, 1994.
- CASTELO BRANCO, M., FRANÇA, F. H., CORDEIRO, C. M. T. et al. Seleção em F2 (*L. esculentum* x *L. pennellii*) visando resistência à traça do tomateiro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.5, n.1, p.30-32, 1987.
- COELHO, M. C. F., FRANÇA, F. H. Biologia, quetotaxia da larva e descrição da pupa e adulto da traça do tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.22, n.2, p.129-135, 1987.
- DIMOCK, M. B., KENNEDY, G. G. The role of glandular trichomes in the resistance of *L. hirsutum* f. *glabratum* to *H. zea*. **Entomologia Experimentalis et Applicadta**, Dordrech, v.33, n.3, p.263-268, 1983.
- EIGENBRODE, S. D., TRUMBLE, J. T. Antibiosis to beet armyworm *S. exigua* in *Lycopersicon* accessions. **Hortscience**, Alexandria, v.28, n.9, p.932-934, 1993.

- ELLIGER, C. A., WONG, Y., CHAN, B. G. et al. Growth inhibitors in tomato (*Lycopersicon*) to tomato fruitworm *H. zea*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.7, n.4, p.753-758, 1981.
- FARRAR, R. R., KENNEDY, G. G. 2-Undecanone, a constituent of the glandular trichomes of *L. hirsutum* f. *glabratum*: effects on *H. zea* and *M. sexta* growth and survival. **Entomologia Experimentalis et Applicadta**, Dordrech, v.43, n.1, p.17-23, 1987.
- FARRAR, R. R., KENNEDY, G. G. Growth inhibitors in host plant resistance to insects: examples from a wild tomato with *H. zea* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Entomology Science**, Ashford Kent, v.25, n.1, p.46-56, 1990.
- FARRAR, R. R., KENNEDY, G. G. Reletionship of leaf lamellar – based resistance to *Leptinotarsa decemLineata* and *Heliothis zea* in a wild tomato, *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum*, PI 134417. **Entomologia Experimentalis et Applicadta**, Dordrech, v.58, n.1, p.61-67, 1991.
- FINNEY, D. J. **Probit analysis**. 3. ed. London: Cambridge University, 1971. p.353.
- GIUSTOLIN, T. A. **Efeito dos aleloquímicos 2-tridecanoma e undecan-2-ona, presentes em *Lycopersicon* spp., sobre a biologia da traça - do tomateiro, *S. absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae)**. Piracicaba: ESALQ, 1991. 155p. Dissertação (Mestrado em Ciências - Área de concentração: Entomologia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 1991.
- GIUSTOLIN, T. A., VENDRAMIM, J. D. Efeito de duas espécies de tomateiro na biologia de *Scrobipopuloides absoluta* (Meyrick)). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.23, n.3, p.511-517, 1994.
- GIUSTOLIN, T. A., VENDRAMIM, J. D. Efeito dos aleloquímicos 2-tridecanona e 2-undecanona na biologia de *Tuta absoluta* (Meyrick)). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.25, n.3, p.417-422, 1996.
- GIUSTOLIN, T. A, VENDRAMIN, J. D., BAPTISTA, C. G. Extração e teores de 2-tridecanona e 2-undecanona em genótipos de tomateiro. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.26, n.1, p.55-60, 1997.
- GUEDES, R. N. C., PIKANÇO, M. C., MATIOLI, A. L. et al. Efeito de inseticidas e sistemas de condução do tomateiro no controle de *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick)), (Lepidoptera: Gelechiidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.23, n.2, p.321-325, 1994.

- ISMAN, M. B., DUFFEY, S. S. Phenolic compounds in foliage of commercial tomato cultivars as growth inhibitors to the fruitworm, *H. zea*. **Journal of The America Society Horticultural Science**, Alexandria, v.107, n.1, p.167-170, 1982.
- KENNEDY, G. G., FARRAR, R. R., RISKALLAH, M. R. Induced tolerance of neonate *Heliothis zea* to host plant allelochemicals and carbaryl following incubation of eggs on foliage of *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum*. **Oecologia**, Berlin, v.73, n.4, p.615-620, 1987.
- KENNEDY, G. G., YAMAMOTO, R. T. A toxic factor causing resistance in a wild tomato to the tobacco hornworm and some other insects. **Entomologia Experimentalis et Applicadta**, Dordrech, v.26, n.2, p.121-126, 1979.
- LARA, F. M., BORTOLI, S. A. de, BOIÇA, A. L. Resistência de plantas a insetos. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.12, n.140, p.23-29, 1986.
- LIN, S. Y. H., TRUMBLE, J. T., KUMAMOTO, J. Activity of volatile compounds in glandular trichomes of *Lycopersicon* species against two insect herbivores. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.13, n.4, p.837-850, 1987.
- LOURENÇÃO, A. L., NAGAI, H., ZULLO, M. A. T. Fontes de resistência a *Scrobipalpa absoluta* (Meyrick, 1917) em tomateiro. **Bragantia**, Campinas, v.43, n.2, p.569-577, 1984.
- MADEIRA, N. R., PICANÇO, M. C., GUEDES, R. N., et al. Resistência da população de *Scrobipalpuloidea absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) de Viçosa - MG a quatro inseticidas. In: SIMPÓSIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA NA UFV, 4, 1994, Viçosa. **Resumos...** Viçosa, MG: UFV, 1994. p. 137.
- MOREIRA, L. F. **Diagnóstico dos problemas ecotoxicológicos causados pelo uso de inseticidas (Metamidofós) na região agrícola de Viçosa - MG.** Viçosa, MG: UFV, 1995. 95p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, 1995.
- PICANÇO, M. C., SILVA, D. J. H. da, LEITE, G. L. D. et al. Intensidade de ataque de *Scrobipalpa absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) ao dossel de três espécies de tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.30, n.4, p.429-433, 1995.

- PICANÇO, M., LEITE, G. L. D., MADEIRA, N. R. et al. Efeito do tutoramento do tomateiro e seu policultivo com milho no ataque de *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick) e *Helicoverpa zea* (Bod.). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.25, n.2, p.175-180, 1996 a.
- PICANÇO, M. C., SILVA, E. A., LÔBO, A. P. et al. Adição de óleo mineral a inseticidas no controle de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) e *Helicoverpa zea* (Bod.) (Lepidoptera: Noctuidae) em tomateiro. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.25, n.3, p.497-501, 1996 b.
- RAHIMI, F. R., CARTER, C. D. Inheritance of zingiberene in *Lycopersicon*. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.87, n.3, p.593-597, 1993.
- SILVA, C. C. **Estudo de fatores químicos de resistência a *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick) em três genótipos de tomateiro: *Lycopersicon esculentum*, *L. hirsutum* e *L. peruvianum***. Viçosa, MG: UFV, 1995. 63p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, 1995.
- SOUZA, J. C., REIS, P. R. Controle da traça do tomateiro em Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.21, n.4, p.343-354, 1986.
- WILLIAMS, W. G., KENNEDY, G. G., YAMAMOTO, R. T. et. al. 2-Tridecanone: A naturally occurring insecticide from the wild tomato *L. hirsutum* f. *glabratum*. **Science**, Berkeley, v.207, p.888-889, 1980.