

# UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE DEPARTAMENTO DE ECOLOGIA



# SARAH CATARINA DIAS VIEIRA

A aplicação do Metil-Jasmonato (MeJA) induz a emissão de compostos orgânicos voláteis em mandioca?



# UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE DEPARTAMENTO DE ECOLOGIA



# SARAH CATARINA DIAS VIEIRA

A aplicação do Metil-Jasmonato (MeJA) induz a emissão de compostos orgânicos voláteis em mandioca?

Dra. Bianca Giuliano Ambrogi

Monografia apresentada ao Departamento de Ecologia da Universidade Federal de Sergipe como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Ecologia



#### SERVICO PÚBLICO FEDERAL MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE DEPARTAMENTO DE ECOLOGIA



# ATA DA SESSÃO DE APRESENTAÇÃO DA MONOGRAFIA

A Banca Examinadora, composta pelos docentes Bianca Giuliano Ambrogi (Orientadora), Ranna Heidy Santos Bezerra e Leandro de Sousa Souto, sob a presidência do primeiro, reuniu-se às 09 horas do dia 08 de novembro de 2024, na sala 6A/DBI, da Universidade Federal de Sergipe, para avaliar a monografia intitulada "A aplicação do Metil-Jasmonato (MeJA) induz a emissão de compostos orgânicos voláteis em mandioca?" apresentada pela discente Sarah Catarina Dias Vieira, do Curso de Ecologia - Bacharelado, matriculada na UFS sob o nº 202000020357. Dando início às atividades, a Presidente da Sessão passou a palavra ao discente para proceder à apresentação da monografía. A seguir, o primeiro examinador fez comentários e arguiu a discente, que dispôs de igual período para responder ao questionamento. O mesmo procedimento foi seguido com o segundo examinador. Dando continuidade aos trabalhos, a Presidente da Banca Examinadora, agradeceu aos comentários e sugestões dos demais membros. Com base nos preceitos estabelecidos pela Instrução Normativa 01/2020/DECO, que normatiza a elaboração e avaliação das monografias do Curso de Ecologia - Bacharelado, a Banca Examinadora ). Nada mais havendo a decidiu por aprovar o discente com a média 80 (oito tratar, a Banca Examinadora elaborou a presente ata que será assinada pelos seus membros e, em seguida, pelo discente avaliado.

Cidade Universitária "Prof. José Aloísio de Campos, 08 de novembro de 2024.

Profa. Dra. Bianca Giuliano Ambrogi Presidente - Orientador

Ronna Heidy Santos Bezerra Profa. Dra. Ranna Heidy Santos Bezerra

Examinador

Prof. Dr. Leandro de Sousa Souto 2º Examinador

Sarah Catarina Dias Vieira

Discente

## **AGRADECIMENTOS**

O primeiro a Quem devo a minha total gratidão é ao meu Deus! Que permitiu a minha entrada ao curso de Ecologia na Universidade Federal de Sergipe e me sustentou durante todo o processo, sempre cuidando de mim! E a honra é dEle por eu ter chegado até aqui!

À minha orientadora, professora Dra. Bianca Giuliano Ambrogi por todo apoio dedicado durante esse processo! Assim como aos professores do DECO que fizeram parte da minha trajetória na Universidade e me ajudaram significativamente na minha formação, como os professores Leandro, Sidney, Jean (obrigada por sempre resolver as minhas burocracias!) e Stephen, e as professoras Adriana e Ana Paula.

Aos integrantes do Laboratório de Ecologia Química, que me ajudaram durante o processo metodológico deste trabalho, em especial a Olin, Pedro e Ivana.

À minha amiga Leyliane por estar junto desde o início da graduação, dividindo estudos, trabalhos, seminários, boas conversas, desabafos e muitas alegrias! Sou muito abençoada e grata por tê-la comigo durante este tempo!

À minha igreja e por todos que fazem parte, por realmente representarem uma família por todo cuidado, amor e oração por mim!

À minha família que SEMPRE me apoiou! Nunca mediram esforços para me ajudar, me animar, me reerguer, me mostrar que sou capaz, e que sou forte! Obrigada por cada detalhe que representa cuidado, Nilda e Odilon! E João e Victor por me ajudarem nas ferramentas do computador para os trabalhos acadêmicos, e por sempre estarem juntos de mim, me impulsionando para seguir em frente!

À Joaquim (Neto), meu namorado, por estar comigo nesta jornada da graduação desde que fui aprovada na UFS. Por me apoiar, sonhar comigo e festejar cada conquista minha!

# SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	1
2.	OBJETIVOS	4
	2.1. OBJETIVO GERAL	4
	2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
3.	MATERIAL E MÉTODOS	4
	3.1. OBTENÇÃO DAS PLANTAS DE MANDIOCA	4
	3.2. APLICAÇÃO DO METIL JASMONATO	5
	3.3. COLETA DE VOLÁTEIS	6
	3.4. ANÁLISE DOS VOLÁTEIS E IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS	9
	3.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA	9
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	10
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15

#### **RESUMO**

As plantas, como organismos sésseis, desenvolveram diversos mecanismos de defesa contra os herbívoros. Essas defesas podem ser constitutivas ou induzidas por meio da herbivoria, de danos mecânicos e também de reguladores de crescimento, como por exemplo o metil jasmonato (MeJA). O MeJA pertence ao grupo dos jasmonatos, derivados do ácido jasmônico, e atua em diversas funções no desenvolvimento da planta e na defesa do vegetal por meio da liberação dos compostos orgânicos voláteis (COVs), os quais podem desempenhar um papel de atração de parasitoides e predadores que podem defender as plantas da ação dos herbívoros. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi verificar se a aplicação do MeJA induz a emissão de COVs de defesa em plantas de mandioca (Manihot esculenta Crantz). Para isso, foi feita uma aplicação exógena de uma solução de 0,2mM de MeJA e Tween 20 em plantas de mandioca (N=14) e em outras 14 plantas foi aplicado uma solução controle, contendo somente água destilada e Tween 20. Após 72 horas da aplicação, foi realizada a coleta dos COVs por meio do sistema de aeração durante 90 minutos. Os compostos voláteis emitidos foram analisados através da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM). Dos nove compostos presentes nas amostras, oito foram identificados, porém não houve diferença qualitativa entre as plantas tratadas com MeJA e as do grupo controle. Contudo houve diferença significativa na quantidade emitida de determinados compostos (P<0,05), sendo eles o (E)-2-metil-2-butenoato de isopropila, 2-hidroxi-3-metil pentanoato de metila e metil pent-2-enolida. A quantidade emitida do composto metil pent-2-enolida foi maior nas plantas tratadas com MeJA, sugerindo que esse composto pode atuar como uma substância de defesa, alinhando-se a observações de outros estudos que mostram que muitas lactonas e compostos semelhantes desempenham papéis importantes na proteção contra herbívoros e patógenos. No entanto, o fato de não ter diferença qualitativa e pouca diferença quantitativa entre as plantas tratadas e as plantas controle, sugere que a maioria dos compostos é do próprio metabolismo da planta e que há necessidade de mais investigações sobre os efeitos da aplicação do MeJA para indução de defesa em mandioca.

Palavras-chave: *Manihot esculenta*, regulador de crescimento, defesa induzida, compostos orgânicos voláteis.

# 1. INTRODUÇÃO

As plantas, ao longo do tempo, desenvolveram mecanismos de defesa contra os herbívoros. Estes podem consumir partes ou a planta por inteiro, prejudicando-a, visto que dificulta o crescimento ou pode impedir a sobrevivência da mesma. As defesas das plantas se dividem em diretas e indiretas. A defesa direta é aquela que atua diretamente sobre o herbívoro, como por exemplo, as barreiras físicas, como cutículas, tricomas, espinhos e ceras, além de propriedades antinutritivas, inibidoras de digestão ou ainda tóxicas (Arimura et al. 2005, Chen 2008). A defesa direta também pode ser feita por metabólitos secundários tóxicos e proteínas de defesa especializadas, podendo apresentar ação repelente, supressora de oviposição e alimentação, e dificultar a digestão dos herbívoros à planta consumida (Arimura et al. 2005, Pinto-Zevallos et al. 2018).

A planta também pode defender-se de maneira indireta, através da atração de parasitoides e predadores que irão visitar ou permanecer na planta devido às estruturas que ela oferece para alimentação ou proteção, como os nectários extraflorais, domácias e/ou por meio dos compostos orgânicos voláteis (COVs) (Lange et al. 2017, Calixto et al. 2020, Bezerra et al. 2021). Segundo Chen (2008), a defesa indireta inclui características das plantas que por si só não afetam a suscetibilidade da planta ao ataque de herbívoros, mas que servem de atrativo aos inimigos naturais destes insetos, os quais tem a população reduzida, e os danos às plantas são diminuídos.

As defesas diretas e indiretas podem ser ainda constitutivas ou induzidas. A defesa constitutiva é composta por barreiras físicas e químicas que existem antes do ataque dos herbívoros, ou seja, independente da injúria causada à planta (Chen 2008). Ademais, a defesa constitutiva atua contra agentes de estresse, como a oxidação, além de permitir a comunicação entre a planta e o meio ambiente (Pinto-Zevallos et al. 2013). Contudo, quando é causado dano aos tecidos vegetais através da herbivoria ou oviposição, ocorre a defesa induzida (Paré & Tumlinson 1999, Arimura et al. 2005).

A defesa induzida geralmente ocorre por meio da ação dos artrópodes herbívoros, através do consumo da planta, ou mediante à oviposição, logo, só é ativada após o ataque do herbívoro (Chen 2008). Isso ocorre porque em ambos os casos há a presença de elicitores, tanto na saliva, como na secreção da oviposição, e esses compostos são chave para a emissão de sinais pelas plantas e para o sucesso do forrageamento de parasitoides e predadores, porque ativam genes e hormônios vegetais através da ativação de rotas metabólicas, que podem

desencadear uma resposta local e/ou sistêmica de defesa na planta (Paré & Tumlinson 1999, Arimura et al. 2005).

Além da herbivoria, a defesa das plantas também pode ser induzida mediante à aplicação exógena de reguladores de crescimento, os quais quando utilizados também ativam rotas metabólicas específicas, e estimulam a defesa da planta através da liberação de compostos orgânicos voláteis (COVs) realizando a comunicação química entre diferentes plantas, ou em distintas partes da mesma planta, que podem atrair predadores e parasitoides (Pinto-Zevallos et al. 2013). Os COVs são misturas complexas que podem ser utilizados pelas plantas como resposta à herbivoria de insetos, sendo sintetizados e liberados, podendo atrair inimigos naturais de herbívoros em defesas indiretas. Estes compostos orgânicos voláteis fazem parte do metabólito secundário das plantas, por isso não são essenciais para o crescimento e desenvolvimento, e são comumente produzidos como subprodutos durante a síntese de produtos dos metabólitos primários, demonstrando assim o papel ecológico dos COVs de defesa indireta (Chen 2008).

Através do estudo feito por Arce et al. (2021), foi constatado a liberação de compostos voláteis pelas plantas de algodão quando atacadas por lagartas. Dessa forma, através de danos causados por herbívoros às plantas são induzidos COVs, os quais medeiam interações ecológicas, envolvendo a comunicação com organismos do segundo e terceiro níveis tróficos, corroborando o papel ecológico dos compostos orgânicos voláteis na defesa indireta das plantas (Pinto-Zevallos et al. 2018).

O ácido jasmônico e seus derivados, os jasmonatos, são um grupo de hormônios vegetais, e que atua no crescimento e desenvolvimento da planta (através da quebra de dormência das sementes, floração, maturação de frutos e senescência vegetal), além de melhorar a tolerância da planta aos estresses, tanto bióticos como abióticos, através de vias de sinalização sob as condições ambientais adversas (Junior et al. 2019, Wang et al. 2021). De acordo com Junior et al. (2019), através do ácido jasmônico é sintetizado o metil jasmonato, um fitormônio que possui ação repelente ao inseto e atrativa aos inimigos naturais, sendo crucial para a proteção das plantas contra o ataque de pragas e patógenos. Para a síntese do MeJA, tem-se os ácidos linoleico e linolênico como exemplos de compostos voláteis liberados pelas plantas em situações adversas, e assim, é ativada a rota octadecanóide levando a biossíntese do ácido jasmônico (AJ) nas plantas. E através do AJ formado, a enzima JAMT (ácido metil jasmonato transferase) faz a conversão para o metil jasmonato (Junior et al. 2019).

Diversos trabalhos têm demonstrado a liberação de COVs envolvidos na defesa das plantas por meio da aplicação exógena de reguladores de crescimento. Já foi visto, por exemplo, que mudas de carvalho que sofreram a aplicação do metil jasmonato (MeJA) emitiram mais COVs de defesa em comparação às plantas controle (Molleman et al. 2024). Também foi observado em plantas de *Polygonum minus* que foram pulverizadas com MeJA um aumento de determinadas classes de COVs de defesa, como os sesquiterpenos, monoterpenos e voláteis de folhas verdes (Rahnamaie-Tajadod et al. 2019). Em plantas de tomate foi constatado uma maior atratividade do parasitoide *Trichogramma pretiosum* para as plantas tratadas com MeJA em comparação às plantas tratadas apenas com água destilada, demonstrando a emissão de compostos de defesa pelo tomateiro, semelhante ao ataque da praga (Weber et al. 2022).

A mandioca, de acordo com Souza e Lima-Primo (2019), possui uma grande capacidade adaptativa e uma menor exigência nutricional do solo comparada às outras culturas, favorecendo a presença da cultura da mandioca entre as produções, e ainda permitindo que os agricultores aumentem as áreas das propriedades. Contudo, os ácaros herbívoros são considerados uma grande ameaça à produção de mandioca, sendo ainda relatado que aproximadamente 45 ácaros herbívoros podem infestar as plantas, reduzindo o desempenho delas (Zhang et al. 2022). Com essa informação, é necessário que sejam analisadas medidas para a defesa das plantas de mandioca em relação aos herbívoros que a consomem.

Trabalhos recentes têm sido realizados com indução de defesa em plantas de mandioca, *Manihot esculenta* Crantz, a qual possui um grande valor econômico e social. Através do estudo de Pinto-Zevallos et al. (2018) foi possível verificar uma diferença qualitativa e quantitativa na emissão de COVs em plantas de mandioca sob herbivoria de diferentes espécies de ácaros fitófagos. Além disso, foi analisado que com diferentes densidades de ácaros, diferentes compostos são emitidos, demonstrando que a quantidade de tetraniquídeos consumindo a planta também influencia a composição dos COVs liberados. Zhang et al. (2022) também verificaram a relação entre ácaros e a planta da mandioca, em que ácaros herbívoros (*Tetranychus urticae*) mantidos em plantas de mandioca tratadas com MeJA tiveram as enzimas antioxidantes, as de desintoxicação e as digestivas aumentadas, trazendo alguns prejuízos ao herbívoro visto que o aumento das enzimas corrobora com alteração na composição do alimento, além do tratamento aumentar a resistência da planta ao ácaro. Ademais, além da perspectiva bioquímica dos insetos, houve a análise fisiológica, em que a produção de ovos dos ácaros mantidos em plantas de mandioca tratadas com MeJA foi menor,

a longevidade do adulto foi reduzida e houve maior duração de desenvolvimento em relação aos que foram alimentados com a planta controle, ou seja, sem aplicação do MeJA.

Outro trabalho utilizando plantas de mandioca, verificou que diferentes tipos de injúrias nas plantas, como a herbivoria de ácaros, injúria artificial e aplicação exógena do cis-jasmona, também possuem influência nas defesas induzidas da planta. Como resultado, foi observado que fêmeas de *Mononychellus tanajoa* preferiram plantas não infestadas com coespecíficos, provavelmente evitando competição e o risco da presença de inimigos naturais. Já o ácaro predador *Neoseiulus idaeus* foi mais atraído para plantas submetidas à herbivoria, demonstrando nos dois casos que as plantas infestadas por ácaros emitem compostos orgânicos voláteis de defesa (Bezerra 2022). Além desses estudos, Garrido (2023) também comparou a concentração de sólidos solúveis de néctar extrafloral (NEF) em plantas de mandioca em resposta a distintas formas de indução de defesas, sendo, dano artificial e aplicação exógena de cis-jasmona e MeJA. Como resultado, foi possível observar que a aplicação dos diferentes reguladores de crescimento (cis-jasmona e MeJA) aumentaram a concentração do NEF, demonstrando a eficiência da aplicação dos fitormônios para induzir a defesa indireta na planta da mandioca.

Através dos resultados dos trabalhos mencionados acima, é perceptível a importância dos reguladores de crescimento na defesa das plantas. Além disso, os fitormônios realizam um papel notável na modulação de diversos processos de desenvolvimento, como crescimento, assim como no enfrentamento do estresse biótico (herbivoria, oviposição e patógenos) e abiótico, temperatura, no pH e estresse hídrico (Wang et al. 2021, Zhang et al. 2022).

Diante do exposto, é possível verificar o potencial dos reguladores de crescimento para defesa das plantas, podendo ser aplicado como mais uma ferramenta no manejo integrado de pragas (MIP) em diferentes culturas, favorecendo o controle biológico natural e aplicado com técnicas ambientalmente corretas que contribuem para ambientes mais sustentáveis (Weber et al. 2022). Sendo assim, através deste trabalho pretende-se avaliar se há indução de defesa da mandioca por meio da liberação de COVs com o uso do MeJA, como os resultados encontrados pelos autores Zang et al. (2022), Molleman et al. (2024) e Rahnamaie-Tajadod et al. (2019).

A mandioca da variedade BRS Kiriris pode ser utilizada no preparo de diversos pratos e farinhas, ou seja, o consumo pode ser *in natura* ou através do processamento. E isso está relacionado ao teor de ácido cianídrico, que é aproximadamente 26 mg/kg, tornando-a em mandioca mansa e capaz de ser utilizada na alimentação humana (Coelho & Alencar 2011,

Souza e Lima-Primo 2019). A variedade Kiriris foi desenvolvida pela Embrapa para o uso no Nordeste, e ela possui uma grande capacidade adaptativa, além de ter uma menor exigência nutricional do solo em relação às outras culturas, e possui uma grande vantagem que é a resistência à podridão radicular, minimizando as perdas na produção (Coelho e Alencar 2011, Embrapa 2017, Souza e Lima-Primo 2019). Contudo, os herbívoros podem afetar na produtividade destas plantas através do consumo, e para solucionar esses danos, podem ser utilizados alguns mecanismos para induzir a defesa como foi mencionado nos trabalhos acima e será disposto neste estudo.

## 2. OBJETIVOS

#### 2.1. Geral

Verificar a influência de metil jasmonato (MeJA) na emissão de compostos orgânicos voláteis (COVs) por plantas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz).

# 2.2. Específicos

- Determinar a composição química e a quantidade liberada dos compostos orgânicos voláteis emitidos após a aplicação exógena do MeJA nas plantas de mandioca;
- Comparar os perfis dos compostos orgânicos voláteis entre as plantas sadias (controle) e as induzidas (tratamento).

#### 3. Material e Métodos

# 3.1. Obtenção das plantas de mandioca

As plantas de mandioca *Manihot esculenta* Crantz foram cultivadas de acordo com a metodologia descrita por Bertschy et al. (1997). As manivas da variedade Kiriris foram cortadas em tamanhos de 15 a 20 cm, totalizando vinte e oito plantas, e posteriormente foram plantadas em vasos de 3,6 L, utilizando aproximadamente 3,5 L de substrato composto por terra preta e pó de coco na proporção de 3:1, 18 g do fertilizante químico NPK 10:10:10 (10% nitrogênio, 10% fósforo e 10% potássio) sobre uma camada de três centímetros de brita. As plantas foram mantidas em casa de vegetação na Universidade Federal de Sergipe Campus São Cristóvão (Figura 1), e foram regadas uma ou duas vezes ao dia dependendo da

necessidade. Cerca de cinco semanas após o plantio, quando atingiram entre 10 e 15 folhas, as plantas foram utilizadas para aplicação dos tratamentos.



Figura 1- Plantas de mandioca (Manihot esculenta Crantz) na casa de vegetação

# 3.2. Aplicação do Metil jasmonato

Para verificar se a aplicação exógena do metil jasmonato induz a emissão de compostos de defesas, foi feita uma solução de 0,2mM de metil-jasmonato (4,58 μL de MeJA + 100 mL de água destilada + 50 μL de Tween 20 P.A.) e aplicado 100 ml desta solução nas superfícies adaxial e abaxial de todas as folhas de cada planta de mandioca com o auxílio de um borrifador (Zhang et al. 2022). Já as plantas controle receberam 100 mL de uma solução composta por água destilada + 50 μL de Tween 20 P.A. (Figura 2), totalizando 28 plantas, sendo 14 para o controle e 14 para o tratamento. O uso do surfactante Tween no tratamento teve como objetivo emulsificar o fitormônio com a água destilada e assim garantir a efetividade do estudo. Ele permaneceu nas plantas controle para garantir que a diferença dos tratamentos estivesse somente na presença do MeJA.



Figura 2- Preparo da solução controle composta por água destilada e Tween 20 P.A.

Após a aplicação dos diferentes tratamentos, as plantas tratadas com a solução de MeJA (tratamento) e as plantas controle foram mantidas separadas por 72h até o início da coleta dos voláteis.

# 3.3. Coleta de voláteis

Para a coleta dos compostos orgânicos voláteis foi utilizado um sistema de aeração (Figura 3), o qual consiste na passagem do fluxo de ar filtrado e umedecido por câmaras de vidro fechadas, em que foram colocadas as plantas, tanto as do tratamento, como as plantas controle. Os COVs liberados pelas plantas foram carreados e retidos em uma coluna contendo um polímero adsorvente (Porapak Type Q 80-100 Mesh) (Figura 4).



Figura 3- Sistema de aeração com as plantas de mandioca inseridas nas câmaras de vidro para coleta dos voláteis



Figura 4- Adsorvente Porapak Type Q80-100 Mesh utilizado no sistema de aeração para coleta dos voláteis emitidos pelas plantas de mandioca.

O sistema de aeração foi constituído por dois compressores de ar, sendo que um realiza pressão no início do sistema para emitir o ar purificado e umidificado, e o outro vácuo no final do sistema para sorver o ar; também houve duas colunas de carvão ativo para

purificar, e uma proveta com água destilada na entrada do sistema para umedecer o ar. Dois fluxômetros (um no início e outro no final do sistema) foram dispostos para manter a vazão de ar constante, além da presença de duas câmaras de vidro onde foram colocadas as plantas.

Dentro das câmaras as plantas foram colocadas inteiras, sendo que os vasos foram cobertos com sacos de poliéster e fechados com lacre com intuito de evitar a contaminação por resíduos do substrato e do vaso (Figura 5).



Figura 5- Planta de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) coberta com saco de poliéster e lacrada para aeração e coleta de voláteis das folhas

As plantas foram aeradas durante 90 minutos, e os COVs liberados ficaram retidos no polímero adsorvente. Para dessorção dos compostos retidos (Figura 6) foi utilizado 2,0 mL de hexano HPLC, e esses extratos foram armazenados em recipientes de vidro devidamente identificados, e acondicionados em freezer a -18°C para a análise que foi feita posteriormente.



Figura 6- Dessorção dos compostos provenientes da aeração das plantas de mandioca com hexano

# 3.4. Análise dos voláteis e identificação dos compostos

As amostras obtidas foram analisadas por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) modelo QP2010 Plus (Shimadzu, Japão), sendo utilizado o gás hélio (99,999% de pureza) como gás de arraste. A temperatura do forno da coluna foi mantida a 60°C por 1min, com rampa de aquecimento 5°C min<sup>-1</sup> até atingir a temperatura de 210°C mantida por 3min, ainda com rampa de aquecimento de 20°C min<sup>-1</sup> até atingir a temperatura de 280°C preservada por 5min. Para identificação dos compostos foi calculado o índice de Kovats (IK), por meio do tempo de retenção de cada analito (componente da amostra a ser determinado) e do tempo de retenção dos alcanos próximos (anterior e posterior) aos analitos, além de utilizar o número de átomos de carbono dos alcanos eluídos antes e após o composto a ser analisado. Foi possível calcular o IK através da injeção do padrão de n-alcanos, utilizando estes valores e o tempo de retenção dos compostos encontrados nas amostras. E para ter a dimensão dos compostos emitidos pelas plantas através da indução com MeJA e sem o regulador de crescimento, foi calculada a porcentagem da área, dividindo a área do pico do composto pela área total dos picos dos compostos identificados nas amostras.

#### 3.5. Análise estatística

Após a identificação e determinação da concentração dos compostos voláteis, os dados foram analisados estatisticamente. A quantidade produzida de cada composto foi comparada entre os dois tratamentos (MeJA x Controle). Os valores foram submetidos ao

teste de normalidade de Shapiro-Wilk, com significância de 5% e posteriormente comparados por meio de teste t ou teste Mann-Whitney (P< 0,05), dependendo da sua normalidade no software Past.

# 4. Resultados e Discussão

A partir da análise das amostras foi possível observar nove compostos orgânicos voláteis emitidos pelas plantas de *Manihot esculenta*, destes, foi possível identificar oito compostos, os quais pertencem aos grupos funcionais cetona, éster e ácido carboxílico (Tabela 1). O composto não identificado representou cerca de 32,2% da área das amostras do tratamento controle, sendo um valor representativo (Tabela 2).

O perfil dos voláteis obtidos na CG-EM não mostrou diferença qualitativa entre os diferentes tratamentos (plantas controle e plantas submetidas à indução pelo regulador de crescimento metil jasmonato) apresentando os mesmos compostos orgânicos voláteis (Figura 7).

Tabela 1 - Identificação de compostos orgânicos voláteis presentes nas amostras obtidas a partir da aeração de folhas de mudas de *Manihot esculenta* Crantz sob os seguintes tratamentos: plantas controle e plantas induzidas pelo MeJA.

Composto	Tempo de retenção	Índice de Kovats
Cetona		
Hexano 2,5-diona	10,118	921
3-metil-4-heptanona	9,874	912
Éster		
(E)-2-metil-2-butenoato de isopropila	11,373	965
2-acetoxiexano	10,841	946
Butanoato de 3-metil-2-propenila	10,438	932
2-hidroxi-3-metil pentanoato de metila	12,089	990
Metil pent-2-enolida	10,963	950
Ácido carboxílico		
Ácido 4-metilpentanoico	10,585	937

Tabela 2 - Áreas dos compostos encontrados nas plantas de mandioca controle e nas plantas tratadas com MeJA (metil jasmonato).

Composto	Área no Controle (%)	Área no Tratamento com MeJA (%)
Hexano 2,5-diona	32,20	32,98
(E)-2-metil-2-butenoato de isopropila	18,33	17,62
2-acetoxiexano	6,85	6,76
Ácido 4-metilpentanoico	6,60	6,35

Butanoato de 3-metil-2-propenila	1,57	1,50
2-hidroxi-3-metil pentanoato de metila	1,12	1,03
3-metil-4-heptanona	0,91	0,89
Metil pent-2-enolida	0,23	0,39
Não identificado	31,58	30,81

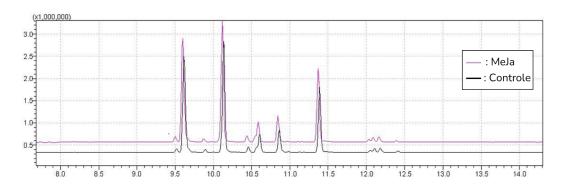


Figura 7- Cromatogramas obtidos das plantas de *Manihot esculenta* tratadas com MeJA (linha rosa) e tratadas com a solução controle (linha preta). Cada pico da figura representa um composto orgânico volátil.

Os compostos encontrados podem representar fragmentos do metabolismo da planta, visto que se relacionam, e são retalhos de moléculas maiores, contudo, até o momento não há muitos trabalhos que demonstrem o papel desses compostos na defesa das plantas. O grupo funcional ácido carboxílico é biossintetizado por plantas, e de acordo com Souza & Carvalho (2001) a vegetação contribui com 25 a 45% dos ácidos carboxílicos presentes na atmosfera global. As cetonas já são conhecidas como compostos de defesa, como por exemplo no trabalho de Teixeira (2016), onde houve o aumento de duas cetonas (6-metil-5 hepten-2-ona e t-geranilacetona) em *Veronica spicata* através da oviposição da borboleta especialista *Melitaea cinxia*, porém, no presente trabalho, as cetonas identificadas não possuem estudos anteriores que as relacionem com defesa. Já os ésteres são reconhecidos pelo sabor e aroma de alimentos, como foi demonstrado por Facundo (2009) através dos componentes voláteis detectados em abacaxi através da cromatografía gasosa, porém também atuam na defesa,

como já demonstrado por Bezerra (2017) em que um composto do grupo funcional éster foi emitido em plantas de mandioca sob herbivoria de ácaros fitófagos.

Em relação à quantidade emitida dos compostos nas amostras, houve diferença significativa (P<0,05) entre as plantas controle e tratamento em três compostos, sendo o (E)-2-metil-2-butenoato de isopropila (Figura 8), o 2-hidroxi-3-metil pentanoato de metila (Figura 9) e o metil pent-2-enolida (Figura 10).

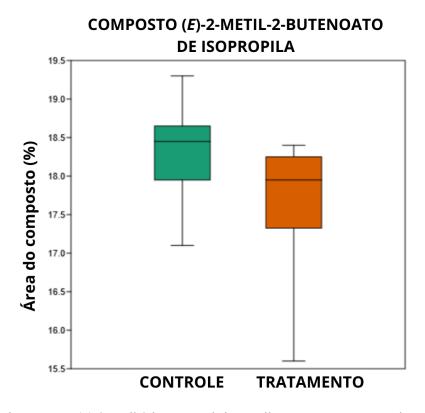


Figura 8- Área do composto (E)-2-metil-2-butenoato de isopropila em porcentagem em plantas de mandioca tratadas com MeJA e plantas do grupo controle (Mann-Whitney, P<0,05).

# 1.201.15(%) 01.001.001.000.90-

**COMPOSTO 2-HIDROXI-3-METIL** 

Figura 9- Área do composto 2-hidroxi-3-metil pentanoato de metila em porcentagem em plantas de mandioca tratadas com MeJA e plantas do grupo controle (Mann-Whitney, P<0,05).

**TRATAMENTO** 

**CONTROLE** 

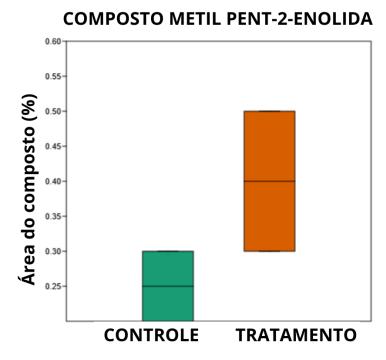


Figura 10- Área do composto metil pent-2-enolida em porcentagem em plantas de mandioca tratadas com MeJA e plantas do grupo controle (Mann-Whitney, P<0,05).

O composto (*E*)-2-metil-2-butenoato de isopropila demonstrou diferença significativa na quantidade emitida pelas plantas de mandioca controle, e as plantas submetidas à aplicação do MeJA (U= 13; p= 0,05). As plantas não tratadas com MeJA emitiram uma quantidade maior desse composto ( $\bar{x}=5,4375$ ) do que as tratadas ( $\bar{x}=3,0625$ ), possivelmente porque este composto não é de defesa, pois não foram induzidos os COVs pela aplicação do MeJA. De acordo com o estudo feito por Simões (2008), o (*E*)-2-metil-2-butenoato de isopropila (ou Isopropil 2-metilbutanoato) é responsável pelo aroma da sidra, bebida alcoólica feita a partir da maçã, demonstrando a propriedade do aroma e sabor de compostos do grupo funcional éster. Da mesma forma que o composto anterior, o composto 2-hidroxi-3-metil pentanoato de metila também foi emitido em maior quantidade nas plantas controle ( $\bar{x}=5,4688$ ) comparado com as plantas tratadas com MeJA ( $\bar{x}=3,0313$ ), (U=12,5; P=0,04). No trabalho desenvolvido por Oliveira (2009) o 2-hidroxi-3-metil pentanoato de metila foi um dos compostos relacionado ao aroma da jaca (*Artocarpus heterophyllus*), corroborando que este composto, o qual pertence ao grupo funcional dos ésteres, possui propriedade aromática.

O composto metil pent-2-enolida demonstrou diferença significativa na quantidade emitida pelas plantas controle, e as que foram tratadas com o regulador de crescimento MeJA (U= 6; p=0,006). Sendo que as plantas submetidas à aplicação do metil jasmonato emitiram uma maior quantidade desse composto (rank médio= 5,875) em relação às plantas controle (rank médio= 2,625), sendo um possível composto de defesa. O metil pent-2-enolida faz parte do grupo das lactonas (éster cíclico de ácido carboxílico), e já foi relatado o potencial aromático deste grupo (Facundo, 2009). Contudo, de acordo com o estudo realizado por Fleisher & Fleisher (1993), este composto já foi encontrado no óleo essencial de *Achillea fragrantissima*. Diversos trabalhos já demonstraram que os óleos essenciais possuem diversas funções de defesa nas plantas, como a propriedade antifúngica relatada na planta de Jambu (*Spilanthes oleracea*) (Borges 2012), atividades antimicrobiana e inibidor de oviposição da mosca do tomate em plantas de boldo-gambá (*Plectranthus neochilus*) (Ramborger 2022). Dessa maneira, o composto metil pent-2-enolida pode possuir potencial de defesa em plantas.

Os resultados encontrados no presente trabalho apresentaram compostos distintos do que já foi encontrado em plantas de mandioca sob herbivoria de ácaros (uma forma de induzir a defesa), porém uma diferença neste estudo é que foi utilizado apenas o MeJA para induzir a emissão de compostos voláteis de defesa. A hipótese do presente trabalho era encontrar um perfil cromatográfico semelhante ao encontrado no trabalho de Pinto-Zevallos et al. (2018), em que houve indução de compostos de defesa por meio de ácaros fitófagos em plantas de mandioca. Neste trabalho foi verificado a emissão de compostos orgânicos voláteis, sendo das

classes dos terpenos, voláteis de folhas verdes, fenilpropanoide, aldeídos, oximas, éster e indole, em plantas sob herbivoria. Era esperado que a aplicação do MeJA induzisse os mesmo compostos de defesa, uma vez que diversos trabalhos com diferentes espécies já demonstraram o potencial do MeJA como indutor dos mecanismos de defesa (Aljbory & Chen, 2016, Weber et al. 2022, Molleman et al. 2024), inclusive em trabalhos recentes realizados com mandioca onde foi verificado que a aplicação do MeJA causou efeitos negativos na performance dos ácaros, além de apresentar resistência das plantas a estes herbívoros (Zhang et al. 2022).

Outro trabalho realizado por Garrido (2023) com indução das plantas de mandioca pelos reguladores de crescimento cis-jasmona e MeJA, também verificou uma indução de defesa por meio de uma produção mais concentrada do néctar extrafloral, o qual já é conhecido como um mecanismo de defesa, sendo uma recompensa aos inimigos naturais que visitam as plantas (Lange et al. 2017, Bezerra et al. 2021).

Diferente dos trabalhos relatados acima com mandioca, este trabalho não apresentou diferença qualitativa e pouca diferença quantitativa na emissão de compostos orgânicos voláteis entre as plantas tratadas e as plantas controle, sugerindo que a maioria dos compostos é do próprio metabolismo da planta e que há necessidade de mais investigações sobre os efeitos da aplicação do MeJA para indução de COVs de defesa em mandioca.

## Referências bibliográficas

Aljbory, Z. & Chen, M. 2016. Indirect plant defense against insect herbivores: a review. Insect Science. 25:2-12. https://doi.org/10.1111/1744-7917.12436

Arce, C.M.; Besomi, G.; Glauser, G. & Turlings, T.C.J. 2021. Caterpillar-Induced Volatile Emissions in Cotton: The Relative Importance of Damage and Insect-Derived Factors. Frontiers in Plant Science. 12:709858. https://doi.org/10.3389/fpls.2021.709858

Arimura, G.; Kost, C. & Boland, W. 2005. Herbivore-induced, indirect plant defences. Biochimica et Biophysica Acta. 1734:91-111. https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2005.03.001

Bhavanam, S.; Stout, M. 2021. Seed Treatment With Jasmonic Acid and Methyl Jasmonate Induces Resistance to Insects but Reduces Plant Growth and Yield in Rice, *Oryza sativa*. Frontiers in Plant Science. 12:691768. https://doi.org/10.3389/fpls.2021.691768

Bertschy, C.; Turlings, T.C.J.; Bellotti, A.C. & Dorn, S. 1997. Chemically-mediated attraction of three parasitoid species to mealybug-infested cassava leaves. Florida Entomologist. 80:383-395. https://journals.flvc.org/flaent/article/view/59318/56997

Bezerra, R.H.S. 2017. Voláteis induzidos por herbivoria em plantas de mandioca e atratividade a ácaros. (Acari: Tetranychidae: Phytoseiidae). Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação), Universidade Federal de Sergipe, Sergipe. https://ri.ufs.br/handle/riufs/4490

Bezerra, R.H.S.; Sousa-Souto, L.; Santana, A.E.G. & Ambrogi, B.G. 2021. Indirect plant defenses: volatile organic compounds and extrafloral nectar. Arthropod-Plant Interactions. 15:467-489. https://doi.org/10.1007/s11829-021-09837-1

Bezerra, R.H.S. 2022. Indução de defesa indireta em mandioca e sua ação sobre o comportamento de ácaros herbívoros e predadores. Tese (Doutorado em Ecologia e Conservação), Universidade Federal de Sergipe, Sergipe.

Borges, L.S. 2012. Potencial antioxidante, óleo essencial e atividade antifúngica de plantas de jambu (*Spilanthes oleracea*), cultivadas sob adubação orgânica e convencional E Processamento mínimo de nectarina (*Prunus persica* var. *nectarina*): conservação de suas qualidades e propriedades bioativas. Tese (Doutor em Agronomia), Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp, São Paulo. https://hdl.handle.net/11449/103236

Calixto, E.S.; Lange, D.; Bronstein, J.; Torezan-Silingardi, H.M. & Del-Claro, K. 2020. Optimal Defense Theory in an ant–plant mutualism: Extrafloral nectar as an induced defence is maximized in the most valuable plant structures. Journal of Ecology. 109:167-178. https://doi.org/10.1111/1365-2745.13457

Chen, M. 2008. Inducible direct plant defense against insect herbivores: A review. Insect Science. 15:101-114. https://doi.org/10.1111/j.1744-7917.2008.00190.x

Coelho, S. & Alencar, G. 2011. Mandioca Kiriris rende 64 toneladas por hectare no Sul Sergipano. Embrapa.

https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/18146768/mandioca-kiriris-rende-64-tone ladas-por-hectare-no-sul-sergipano

Embrapa. 2017. BRS Kiriris: Variedade de mandioca industrial recomendada para as microrregiões de Valença, Jequié e Santo Antônio de Jesus, BA. Embrapa Mandioca e Fruticultura.

https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/166917/1/folder-BRSKiriris-Ainfo.pdf

Facundo, H.V.V. 2009. Mudanças no perfil sensorial e de voláteis do suco de abacaxi concentrado durante o processamento. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Ceará, Ceará.

http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/573054

Fleisher, Z. & Fleisher, A. 1992. Volatiles of *Achillea fragrantissima* (Forssk.) Sch. Bip. Journal of Essential Oil Research. 5:211-213.

http://dx.doi.org/10.1080/10412905.1993.9698204

Garrido, P.E.C.P. 2023. Néctar extrafloral em plantas de mandioca: um possível mecanismo de defesa induzida. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas), Universidade Federal de Sergipe, Sergipe. https://ri.ufs.br/jspui/handle/riufs/19314

Júnior, R.C.; Suss, A.D.; Bartzen, B.T.; Bazei, G.L.; Guimarães, V.F.; Bulegon, L.G. 2019. Jasmonatos nas plantas e utilização na agricultura. In Análise Crítica das Ciências Biológicas e da Natureza (J.M.B.O. Junior, org.). Editora Atena, Paraná, vol. 1, p. 320-334. https://atenaeditora.com.br/catalogo/post/jasmonatos-nas-plantas-e-utilizacao-na-agricultura

Lange, D.; Calixto, E.S. & Del-Claro, K. 2017. Variation in Extrafloral Nectary Productivity Influences the Ant Foraging. PLoS ONE. 12:1-13.

https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169492

Molleman, F.; Mandal, M.; Sokół-Łętowska, A.; Walczak, U.; Volf, M.; Mallick, S.; Moos, M.; Vodrážka, P.; Prinzing, A. & Mezzomo, P. 2024. Simulated Herbivory Affects the Volatile Emissions of Oak Saplings, while Neighbourhood Affects Flavan-3-ols Content of Their Leaves. Journal of Chemical Ecology. 50:250-261.

https://doi.org/10.1007/s10886-024-01471-4

Oliveira, L.F. 2009. Efeito dos Parâmetros do Processo de Desidratação de Jaca (*Artocarpus heterophyllus*, Lam.) Sobre as Propriedades Químicas, Físico-químicas e Aceitação Sensorial. Tese (Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. https://rima.ufrrj.br/jspui/handle/20.500.14407/11019

Paré, P.W. & Tumlinson, J.H. 1999. Plant Volatiles as a Defense against Insect Herbivores. Plant Physiology. 121:325-332. https://doi.org/10.1104/pp.121.2.325

Pinto-Zevallos, D.M. & Zarbin, P.H.G. 2013. A Química na agricultura: perspectivas para o desenvolvimento de tecnologias sustentáveis. Química Nova. 36:1509-1513. https://doi.org/10.1590/S0100-40422013001000005

Pinto-Zevallos, D.M.; Bezerra, R.H.S.; Souza, S.R. & Ambrogi, B.G. 2018. Species- and density-dependent induction of volatile organic compounds by three mite species in cassava and their role in the attraction of a natural enemy. Experimental and Applied Acarology. 74:261-274. https://doi.org/10.1007/s10493-018-0231-5

Rahnamaie-Tajadod, R.; Goh, H. & Noor, N.M. 2019. Methyl jasmonate-induced compositional changes of volatile organic compounds in *Polygonum minus* leaves. Journal of Plant Physiology. 240:1-10. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2019.152994

Ramborger, B.P. 2022. Avaliação toxicológica da fitorremediação, extratos e óleo essencial de *Plectranthus neochilus*. Tese (Doutora em Bioquímica), Universidade Federal do Pampa, Rio Grande do Sul. https://repositorio.unipampa.edu.br/jspui/handle/riu/7438

Simões, D.R.S. 2008. Abordagem tecnológica e sensorial nos produtos de maçã: suco, fermentado e sidra. Tese (Doutor em Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Paraná, Paraná. https://hdl.handle.net/1884/14449

Souza, S.R. & Carvalho, L.R.F. 2001. Origem e implicações dos ácidos carboxílicos na atmosfera. Química Nova. 24:62-63. https://doi.org/10.1590/S0100-40422001000100012

Souza, E.D. & Lima-Primo, H.E. 2019. BRS Formosa, BRS Kiriris e BRS Mulatinha: Novas Cultivares de Mandioca de Indústria para Cultivo em Roraima. Embrapa Roraima. https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/212065/1/COT-85-.pdf

Teixeira, J.P.F. 2016. Comunicação entre plantas como estratégia de defesa. Instituto Agronômico, Centro de Recursos Genéticos Vegetais, Campinas (SP). https://www.researchgate.net/publication/308102404\_Comunicacao\_entre\_plantas\_como\_estrategia\_de\_defesa.

Wang, Y.; Mostafa, S.; Zeng, W. & Jin, B. 2021. Function and Mechanism of Jasmonic Acid in Plant Responses to Abiotic and Biotic Stresses. Internacional Journal of Molecular Sciences. 22:1-26. https://doi.org/10.3390/ijms22168568

Weber, N.C.; Sant'Ana, J.; Redaelli, L.R. & Dawud, E.F. 2022. Tomato plant defense induced by methyl jasmonate impacts on foraging behavior and parasitism of *Trichogramma pretiosum*. Entomologia Experimentalis et Applicata. 171:162-171. https://doi.org/10.1111/eea.13270

Zhang, Y.; Liu, Y.; Liang, X.; Wu, C.; Liu, X.; Wu, M.; Yao, X.; Qiao, Y.; Zhan, X. & Chen, Q. 2022. Exogenous methyl jasmonate induced cassava defense response and enhanced resistance to *Tetranychus urticae*. Experimental and Applied Acarology. 89:45-60. https://doi.org/10.1007/s10493-022-00773-0