

## Extração e Teores de 2-Tridecanona e 2-Undecanona em Genótipos de Tomateiro

Teresinha A. Giustolin<sup>1</sup>, José D. Vendramim<sup>1,2</sup> e Gilberto C. de Baptista<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Entomologia, ESALQ/USP, Caixa postal 9, 13418-900, Piracicaba, SP.

<sup>2</sup>Autor correspondente.

---

An. Soc. Entomol. Brasil 26(1): 55-60 (1997)

### Extraction and Contents of 2-Tridecanone and 2-Undecanone in Tomato Genotypes

**ABSTRACT** - A methodology for extraction of 2-tridecanone (2-T) and 2-undecanone (2-U) from tomato plants (*Lycopersicon* spp.) was developed using leaves of a commercial cultivar previously fortified with these allelochemicals. Extracts were analyzed in a gas chromatograph, using the following methods: chloroform; chloroform plus Butt extractor; and Butt extractor. The three methods recovered more than 80% of the allelochemicals. However, the first method was more practical, using less volume of solvent. The genotypes *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417), *L. esculentum* ('Santa Cruz Kada AG-373'), and 22 hybrids FI (RC1) [(PI 134417 x *L. esculentum*) x PI 134417] were analyzed for the amounts of these allelochemicals. Among the hybrids, six presented both 2-T and 2-U, and four presented only 2-T. The highest concentration of allelochemicals was 351 ppm of 2-T, and 62 ppm of 2-U. The allelochemicals were not detected in *L. esculentum*. The concentrations of 2-T and 2-U in PI 134417 were 1902 and 473 ppm, respectively.

**KEY WORDS:** Insecta, *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum*, allelochemicals, plant resistance.

**RESUMO** - Desenvolveu-se metodologia de extração dos compostos 2-tridecanona (2-T) e 2-undecanona (2-U), em tomateiro (*Lycopersicon* spp.), utilizando-se folhas de uma cultivar comercial fortificada com os referidos aleloquímicos, sendo os extratos analisados por cromatografia gasosa. Para a extração, testaram-se: clorofórmio; clorofórmio mais extrator de Butt; e extrator de Butt. Os três métodos propiciaram recuperação dos compostos acima de 80%, tendo sido selecionado o primeiro por ser mais prático e utilizar menor volume de solvente. Os genótipos submetidos à extração foram: *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417), *L. esculentum* ('Santa Cruz Kada AG-373') e 22 híbridos FI(RC1) [(PI 134417 *L. esculentum*) x PI 134417]. Dentre os híbridos analisados, em apenas seis foram detectados o 2-T e o 2-U e em outros quatro híbridos apenas o 2-T. No híbrido com maior concentração de aleloquímicos foram encontrados 351 ppm de 2-T e 62 ppm de 2-U. Em *L. esculentum*, os aleloquímicos não foram detectados, enquanto que na PI 134417, as concentrações de 2-T e 2-U foram, respectivamente, 1902 e 473 ppm.

**PALAVRAS-CHAVE:** Insecta, *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum*, aleloquímicos, resistência de plantas.

---

O tomateiro selvagem *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417) pode ser utilizado como fonte de resistência a diversos insetos-praga. Williams *et al.* (1980), procurando determinar as causas da resistência desta espécie, isolaram dos tricomas glandulares de suas folhas o alelo- químico 2-tridecanona (2-T), considerado como fator de resistência. Isto foi confirmado por outros autores como Kennedy *et al.* (1981), Dimock *et al.* (1982), Dimock & Kennedy (1983) e Kennedy (1984). Outro aleloquímico associado aos tricomas glandulares da linhagem PI 134417 é o 2-undecanona (2-U), também aluando adversamente sobre as pragas (Kennedy 1986). Nos programas de melhoramento, visando a utilização destes aleloquímicos como fatores de resistência, é necessário dispor de técnica de extração apropriada. Alguns trabalhos descrevem metodologias de extração destas substâncias (Williams *et al.* 1980, Kennedy *et al.* 1981, Dimock & Kennedy 1983, Lin *et al.* 1987, Fery & Kennedy 1987, Weston *et al.* 1989, Carter *et al.* 1989), mas nenhum deles comenta sobre a possível perda destas substâncias por evaporação, já que estas são tidas como muito voláteis.

Este trabalho teve como objetivo testar metodologia de extração dos aleloquímicos 2-T e 2-U e quantificações nos seguintes genótipos: *L. hirsutum* f. *glabratum* (PI 134417), *L. esculentum* (Santa Cruz Kada AG-373) e 22 híbridos F 1 (RC1).

### Material e Métodos

Para testar a metodologia de extração dos aleloquímicos 2-tridecanona(2-T) e 2-undecanona(2-U), foi desenvolvido experimento com três métodos três repetições, a saber: clorofórmio; clorofórmio mais extrator de Butt; e extrator de Butt.

No método com clorofórmio utilizaram-se 5 g de folhas da cv. Santa Cruz Kada AG-373 (*L. esculentum*), para cada um dos aleloquímicos, que foram fortificadas com 5 mg (1000 ppm) de 2-T e de 2-U, compostos sintéticos

com 99% de pureza (2-T, Fluka Chemical Corp.; 2-U, Pfaltz & Bauer, Inc.). As folhas contendo os compostos foram submersas em 50 ml de clorofórmio p.a., durante 24 h, em frasco de vidro (15 cm x 7,5 cm) com tampa vedada a fim de evitar a evaporação. No método clorofórmio mais extrator de Butt, as 5 g de folhas fortificadas foram mantidas em cartuchos de papel-filtro por 24 h em frasco e o material mantido no extrator de Butt por 4 h. No método com extrator de Butt, após a fortificação e formação dos cartuchos, estes foram colocados diretamente no extrator onde permaneceram por 4 h.

Após a extração, as amostras foram filtradas em papel-filtro, lavadas com 50 ml de benzeno p.a., adicionando-se, 30 g de sulfato de sódio p.a. granulado, para retirada da água. Os extratos foram filtrados, lavados com 50 ml de benzeno e novamente recolocados nos frascos, onde permaneceram por 24 h. A limpeza dos extratos foi feita em colunas cromatográficas de florisil (5 g) e eluídas com 30 ml de benzeno. As amostras foram concentradas em evaporador rotativo a vácuo (E. R. V) mantido à 70°C, até volume entre 4 e 8 ml. Os extratos foram vertidos em tubos de centrífuga graduados e seu volume completado com acetona até 10 ml, sendo posteriormente armazenados em "freezer" até o momento das análises.

Para detecção dos aleloquímicos, utilizou-se cromatógrafo de gás CG-modelo 3700, equipado com detector de ionização de chama e coluna cromatográfica de vidro, diâmetro 1/8" x 1,8 m fase 2,5% SE-30, suporte chromosorb W silanizado. As temperaturas de operação foram: 2-T 152,200 e 185°C; 2-U 125,175 e 155°C, da coluna, detector e vaporizador, respectivamente. Os fluxos dos gases foram respectivamente: 30, 210 e 40 ml/min, para o nitrogênio, ar sintético e hidrogênio. O tempo de retenção, tanto para o 2-T como para o 2-U, foi de 3'50".

Como as massas injetadas dos padrões e fortificações foram iguais, o cálculo da percentagem de recuperação (R) foi feito através da fórmula:  $R = 100 \times \text{hpf/hpp}$ , onde: hpf=

altura média do pico de fortificação; e hpp = altura média pico do padrão.

Na quantificação dos aleloquímicos, os genótipos testados foram oriundos do cruzamento entre a cv. Tropicana-510 (*L. esculentum*) e a linhagem PI 134417 (*L. hirsutum* f. *glabratum*), que deu origem à geração FI, a qual posteriormente foi retrocruzada com a PI 134417, originando FI(RC1). Para extração dos aleloquímicos, as folhas foram colhidas de manhã, pesando-se duas amostras (repetições) de 10 g para cada planta.

Os procedimentos com relação à extração foram semelhantes ao descrito para o método com clorofórmio, exceção do tempo de exposição da amostra ao sulfato de sódio (reduzido para 6 h) e dos procedimentos durante a concentração em E.R.V que foi realizada à 50°C até que as amostras atingissem volume inferior à 5 ml, sendo posteriormente transferidas para vidros de centrífuga graduados, completando até volume de 5 ml com acetona.

As extrações (com duas repetições cada) foram feitas em três etapas, cada uma com um grupo de oito genótipos FI(RC1), selecionados ao acaso e uma testemunha, constituída da fortificação da cv. com 5 mg (1000 ppm) de 2-T e 5 mg (1000 ppm) de 2-U. Na terceira etapa, incluiu-se também a cv. Santa Cruz Kada AG-373 e a linhagem PI 134417. Assim, o total de análises foi 64, sendo 12 amostras fortificadas e 52 de campo.

As temperaturas da coluna, do detector e do vaporizador do cromatógrafo nas três extrações dos genótipos analisados foram: 1ª e 3ª extrações: 146, 194, 179°C; 2ª extração: 148, 196, 181 °C, respectivamente. Os fluxos de nitrogênio, ar e hidrogênio foram nas três extrações iguais a 30, 210 e 40 ml/min, respectivamente. Os tempos de retenção dos aleloquímicos 2-T e 2-U foram: 1ª extração: 3'50" e 1'40"; 2ª extração: 3'30" e 1'30" e 3ª extração: 3'20" e 1'20", respectivamente.

As médias dos três métodos de extração foram comparadas através do teste "t" de Student ao nível de 5% de probabilidade.

## Resultados e Discussão

As recuperações de 2-U foram superiores a 90% nos três métodos de extração, havendo diferença estatística entre os mesmos, sendo o maior valor (107%) obtido com o extrator de Butt e o menor (91%) com o clorofórmio mais extrator de Butt (Tabela 1). Resultados semelhantes foram obtidos com 2-T, constatando-se novamente o maior valor de recuperação (106%) com o extrator Butt e o menor (81%) com o clorofórmio mais extrator de Butt (Tabela 1). Apesar dos valores de recuperação com o extrator de Butt terem sido superiores aos obtidos com clorofórmio, este método foi mais prático e econômico por utilizar menor quantidade de solvente, e de menor risco, além de permitir percentagem de recuperação de praticamente 100% para os dois aleloquímicos (Tabela 1).

Tabela 1. Recuperação(%) dos aleloquímicos 2-undecanona e 2-tridecanona de folhas de tomateiro 'Santa Cruz Kada AG-373' fortificadas com 5 mg de cada composto.

Métodos	2-undecanona <sup>1</sup>	2-tridecanona <sup>1</sup>
Clorofórmio	102,0 ± 5,30 b	99,0 ± 5,90 b
Clorofórmio + Butt	91,0 ± 6,52 c	81,0 ± 3,51 c
Butt	107,0 ± 5,20 a	106,0 ± 3,51 a

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de "t" de Student ao nível de 5% de probabilidade.

Constatou-se que na primeira extração no tratamento testemunha (fortificação) foram recuperados 88% do 2-U e 118% do 2-T. Dos oito genótipos analisados nesta etapa, somente nos genótipos 5, 18, 39, 41 e 44 foi detectado o aleloquímico 2-U, registrando-se, em média, uma variação de 3 a 62 ppm (Tabela 2). Em todos os genótipos, com exceção do genótipo 12, detectou-se o 2-T, cujo teor variou, em média, de 15 a 351 ppm, valores acima do

Tabela 2. Concentração dos aleloquímicos 2-undecanona e 2-tridecanona, extraídos com clorofórmio, em genótipos de *Lycopersicon* spp.

Extrações	Genótipos	2-undecanona	2-tridecanona
I	5	3,0 ± 1,00	60,0 ± 3,09
	13	< LD <sup>1</sup>	15,0 ± 1,50
	17	< LD <sup>1</sup>	50,0 ± 3,01
	18	7,0 ± 1,50	91,0 ± 14,04
	39	5,0 ± 4,50	52,0 ± 13,54
	41	16,0 ± 3,51	188,0 ± 24,57
	44	62,0 ± 13,54	351,0 ± 78,73
II	20	< LD <sup>1</sup>	8,0 ± 0,50
	35	< LD <sup>1</sup>	48,0 ± 0,50
	37	4,0 ± 0,50	30,0 ± 0,00
III	PI 134417	473,0 ± 17,55	1902,0 ± 254,26

<sup>1</sup>LD = Limite de detecção do método.

limite de detecção (LD) do método (2 ppm) (Tabela 2).

Na segunda extração, a recuperação do 2-U na testemunha (amostras fortificadas) foi de 72%, sendo que somente o genótipo 37 (5 ppm) apresentou este aleloquímico em quantidade acima do limite de detecção. Já com relação ao 2-T, a recuperação na testemunha foi de 95%, sendo este composto detectado apenas nos genótipos 20, 35 e 37, com variação média de 8 a 48 ppm; nos cinco genótipos restantes, não foram detectados nenhum dos dois aleloquímicos (Tabela 2).

Na terceira extração, as percentagens de recuperação na testemunha foram de 145% para o 2-U e 109% para o 2-T. Dos dez genótipos submetidos às análises, nesta etapa, somente na linhagem PI 134417 foram detectados os aleloquímicos (473 ppm de 2-U e 1902 ppm de 2-T) (Tabela 2).

Verificou-se que, em todos os casos em que os compostos foram detectados, houve uma concentração bastante superior de 2-T em relação a 2-U, o que está de acordo com Lin *et al.* (1987).

Comparando-se as concentrações detectadas na PI 134417 (0,19% de 2-T e 0,047% de 2-U) com as concentrações destes aleloquímicos (0,368 e 0,066%, respectivamente) referidas por Farrar & Kennedy (1987) para esta mesma linhagem, constatou-se que, para ambos, os valores obtidos foram inferiores. Isto, provavelmente, deveu-se ao fato de que a coleta de folhas foi feita em época de fotofase curta, fator que reduz a produção de 2-T na PI 134417 (Kennedy *et al.* 1981, Weston *et al.* 1989).

Considerando-se, por outro lado, os 24 genótipos FI(RC1) analisados, verificou-se que as concentrações de 2-U e 2-T foram menores, quando comparadas àquelas detectadas na PI 134417, que se caracteriza por apresentar altas concentrações destes aleloquímicos. Assim, observou-se que apenas no genótipo 44 foram detectadas concentrações de 2-T e 2-U superiores a 10% das respectivas quantidades na linhagem em questão (Tabela 2). A ocorrência de maior proporção de progênies com baixas concentrações de 2-T também foi observada por Fery & Kennedy (1987)

e Sorenson *et al.* (1989) executando um esquema de cruzamento ('Walter' x PI134417) onde obtiveram cerca de 15% de plantas com baixa concentração de 2-T.

Conclui-se que, apesar de nos diversos genótipos testados (principalmente na PI 134417) terem sido detectadas quantidades inferiores dos dois aleloquímicos quando comparadas às citadas na literatura, a extração feita através da exposição do material vegetal ao clorofórmio, permite análise adequada dos aleloquímicos 2-T e 2-U.

### Agradecimentos

Ao Dr. Wilson R. Maluf (BIOPLANTA) pelo fornecimento de sementes dos genótipos de tomateiro analisados, à Profa. Dra. Marisa A. B. Regitano d'Arce, Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, pelo auxílio e cessão das instalações físicas para a extração dos aleloquímicos, à Dra. Vera L. Ferracini, da EMBRAPA/CNPMA, pelas sugestões apresentadas e à FAPESP pelo auxílio financeiro.

### Literatura Citada

**Carter, C. D., J. N. Sacalis & T.J. Gianfagna.**

**1989.** Zingiberene and resistance to Colorado potato beetle in *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum*. J. Agric. Food Chem. 37: 206-210.

**Dimock, M.B. & G.G. Kennedy.** 1983. The

role of glandular trichomes in the resistance of *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum* to *Heliothis zea*. Entomol. Exp. Appl. 33: 263-268.

**Dimock, M. B., G. G. Kennedy & W. G.**

**Williams. 1982.** Toxicity studies of analogs of 2-tridecanone, a naturally occurring toxicant from a wild tomato. J. Chem. Ecol. 8: 837-842.

**Farrar Jr., R. R. & G. G. Kennedy. 1987.** 2-

undecanone, a constituent of the glandular trichomes of *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum*: Effects on *Heliothis zea* and *Manduca sexta* growth and survival. Entomol. Exp. Appl. 43:17-23.

**Fery, R.L. & G.G. Kennedy. 1987.** Genetic

analysis of 2-tridecanone concentration, leaf trichome characteristics, and tobacco hornworm resistance in tomato. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 112: 886-891.

**Kennedy, G. G. 1984.** 2-tridecanone, tomatoes

and *Heliothis zea* Potential incompatibility of plant antibiosis with insecticidal control. Entomol. Exp. Appl. 35: 305-311.

**Kennedy, G. G. 1986.** Consequences of modifying

biochemically mediated insect resistance in *Lycopersicon* species, p. 130-141. In M.B. Green & R.A. Hedin (eds.), Natural resistance of plants to pests: role of allelochemicals. Amer. Chem. Soc. Symp. Ser. 296.

**Kennedy, G. G., R.T. Yamamoto, M. B. Dimock,**

**W. G. Williams & J. Bordner. 1981.**

Effect of day length and light intensity on 2-tridecanone levels and resistance in *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum* to *Manduca sexta*. J. Chem. Ecol. 7: 707-716.

**Lin, S.Y. H., J.T. Trumble & J. Kumamoto.**

**1987.** Activity of volatile compounds in glandular trichomes of *Lycopersicon* species against two insect herbivores. J. Chem. Ecol. 13: 837-850.

**Sorenson, C. E., R. L. Fery & G. G. Kennedy.**

**1989.** Relationship between Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) and tobacco hornworm (Lepidoptera: Sphingidae) resistance in *Lycoper-*

*sicon hirsutum* f. *glabratum*. J. Econ. Entomol. 82: 1743-1748.

**Weston, P.A., D.A. Johnson, H.T. Burton & J.C. Snyder. 1989.** Trichomes secretion composition, trichome densities, and spider mite resistance of ten accessions of *Lycopersicon hirsutum*. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 114: 492-498.

**Williams, W. G., G. G. Kennedy, R. T. Yamamoto, J.D. Thacker & J. Bordner. 1980.** 2-tridecanone: A naturally occurring insecticide from the wild tomato *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum*. Science 207: 888-889.

Recebido em 07/11/95. Aceito em 15/01/97.

---