



SANDRA ELISA BARBOSA DA SILVA

**RESPOSTA OLFATIVA DE DUAS ESPÉCIES DE
CHRYSOPIDAE PARA VOLÁTEIS DE *Brassica
juncea* L. INDUZIDOS POR *Myzus persicae*
SULZER, 1776 (HEMIPTERA: APHIDIDAE)
E *Plutella xylostella* LINNAEUS, 1758
(LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE)**

LAVRAS - MG

2014

SANDRA ELISA BARBOSA DA SILVA

**RESPOSTA OLFATIVA DE DUAS ESPÉCIES DE CHRYSOPIDAE
PARA VOLÁTEIS DE *Brassica juncea* L. INDUZIDOS POR *Myzus
persicae* SULZER, 1776 (HEMIPTERA: APHIDIDAE) E *Plutella
xylostella* LINNAEUS, 1758 (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, área de concentração em Entomologia Agrícola, para a obtenção do título de Mestre

Orientador

Dr. Martin Francisco Pareja Piaggio

LAVRAS - MG

2014

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Coordenadoria de Produtos e Serviços
da Biblioteca Universitária da UFLA**

Silva, Sandra Elisa Barbosa da.

Resposta olfativa de duas espécies de Chrysopidae para voláteis de *Brassica juncea* L. induzidos por *Myzus persicae* Sulzer, 1776 (Hemiptera: Aphididae) e *Plutella xylostella* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Plutellidae) / Sandra Elisa Barbosa da Silva. – Lavras : UFLA, 2014.

56 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2014.

Orientador: Martin Francisco Pareja Piaggio.

Bibliografia.

1. Herbivoria. 2. Defesa induzida. 3. Voláteis de plantas. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 595.7

**RESPOSTA OLFATIVA DE DUAS ESPÉCIES DE CHRYSOPIDAE
PARA VOLÁTEIS DE *Brassica juncea* L. INDUZIDOS POR *Myzus
persicae* SULZER, 1776 (HEMIPTERA: APHIDIDAE) E *Plutella
xylostella* LINNAEUS, 1758 (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, área de concentração em Entomologia Agrícola, para a obtenção do título de Mestre

APROVADA em 26 de fevereiro de 2014

Dr. Alexander Machado Auad Embrapa Gado de Leite

Dra. Delia Milagros Pintos Zevalos Universidade Federal do Paraná

Dr. Martin Francisco Pareja Piaggio

Orientador

LAVRAS- MG

2014

A Deus, pela sua presença constante em minha vida, me cercando com seu amor e cuidado.

À minha querida mãe, Sonia (*in memoriam*), por todo amor, ensinamentos e incentivo transmitidos durante sua vida, que foram, sem dúvida alguma, fundamentais na formação do meu caráter e que ainda se refletem em todos aspectos da minha vida.

Ao meu amado pai, José, meu maior exemplo de vida, pelo seu amor, cuidado e principalmente pelo apoio incondicional em todas as minhas escolhas.

Ao meu irmão, Leandro, pelo amor e companheirismo.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Entomologia, pela oportunidade de cursar o mestrado e por todo suporte físico, técnico e intelectual fornecido durante este período.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo financiamento do projeto.

Ao meu orientador, Dr. Martin Pareja, pela orientação, imenso incentivo, amizade, confiança, conhecimentos transmitidos e pela disponibilidade e atenção para comigo e meu trabalho. Sinto-me muito privilegiada por ter tido a oportunidade de tê-lo como orientador.

Ao Dr. Alexander Machado Auad, por ter aceitado participar da banca examinadora e, além disso, por todo entusiasmo com a pesquisa, o que me motivou a querer seguir este caminho. Agradeço pelos conhecimentos transmitidos, por sua amizade e prontidão em me ouvir e ter sempre a melhor solução, e pelo seu carinho para comigo. Sinto-me imensamente feliz por ser sua filha.

À Dra. Delia Pinto Zevallos, por ter aceitado compor a banca examinadora trazendo importantes sugestões.

Aos colegas de laboratório, pela convivência, em especial ao amigo João Fernandes, pelo auxílio oferecido em todas as etapas deste trabalho.

Aos funcionários Elaine, Nazaré, Viviane, Andrea, D. Irene e Julinho por todo auxílio durante a condução dos experimentos.

Ao amigo Jordano de sua bondade e disposição em colaborar com algumas partes do meu trabalho.

À Dra. Marcy e à Dra. Ronara pelas sugestões dadas na banca de qualificação do projeto.

Agradeço também àqueles colaboradores indiretos que enriquecem minha vida com sua amizade, apoio e agradável companhia: Ivana, Iris, André, Roberta, Willian, Aline, Marianne, Daniela, Danielly, Maria e Camila.

Às queridas amigas Marcy e Carla, por serem grandes incentivadoras sempre e pelo carinho e auxílio dispensados a mim neste período.

À minha família e a todos os outros que, de alguma forma, contribuíram para a realização desse trabalho.

A todos vocês, meu muito obrigado!!!

RESUMO

Em resposta à herbivoria, as plantas ativam processos de defesa que resultam na emissão de compostos voláteis capazes de atrair inimigos naturais dos herbívoros. Sob condições naturais, as plantas são frequentemente atacadas por mais de uma espécie de herbívoro, que pode induzir diferentes tipos de defesa indireta nelas. No entanto, poucos estudos têm abordado como a atração de inimigos naturais ocorre diante da infestação simultânea de herbívoros de diferentes guildas alimentares. No presente trabalho investigou-se a resposta olfativa de fêmeas acasaladas dos predadores generalistas *Ceraeochrysa cubana* Hagen, 1861 e *Chrysoperla externa* Hagen, 1861 (Neuroptera: Chrysopidae) aos voláteis emitidos por *Brassica juncea* L. com injúria de *Myzus persicae* Sulzer, 1776 (Hemiptera: Aphididae) e avaliou-se o efeito da indução de defesa pela injúria simultânea de *M. persicae* e *Plutella xylostella* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Plutellidae) na atração de *C. externa*. Em um olfatômetro do tipo “Y”, foram oferecidos, para fêmeas de *C. cubana* e *C. externa* acasaladas, com 10-12 dias de emergência os seguintes odores: 1) ar limpo vs. ar limpo; 2) planta sem injúria vs. ar limpo; 3) planta sem injúria vs. planta com injúria de *M. persicae*. Para investigar se a injúria simultânea dos herbívoros afeta a atração de *C. externa* aos voláteis de *B. juncea*, as seguintes fontes de odores foram oferecidas: 1) planta sem injúria vs. planta infestada por *M. persicae*; 2) planta sem injúria vs. planta com injúria de *P. xylostella*; 3) planta sem injúria vs. planta com injúria de *M. persicae* e *P. xylostella*; 4) Planta com injúria de *M. persicae* vs. planta com injúria de *M. persicae* e *P. xylostella*. A resposta foi medida como o braço do olfatômetro que o inseto escolheu e permaneceu por até 15 segundos. Constatou-se que não houve atratividade das fêmeas de *C. cubana* e *C. externa* para os voláteis de *B. juncea* sem injúria e que após a injúria de *M. persicae*, os voláteis de *B. juncea* foram atrativos apenas para *C. externa*. Constatou-se ainda que as fêmeas de *C. externa* não responderam significativamente para os voláteis de *B. juncea* com injúrias de *P. xylostella*, enquanto, mostraram maior atratividade para os voláteis de *B. juncea* com injúria dos dois herbívoros simultaneamente. Conclui-se com estes resultados que diferente de *C. externa*, *C. cubana* não responde aos voláteis emitidos pela planta com injúria de *M. persicae* e que há um efeito positivo na atração de *C. externa* para os voláteis de *B. juncea* induzidos pela herbivoria múltipla.

Palavras-chave: Herbivoria. Defesa induzida. Voláteis de plantas.

ABSTRACT

In response to herbivory, plants can activate defense mechanisms that result in the emission of volatile compounds that attract natural enemies of herbivores. Under natural conditions plants are often attacked by more than one species of herbivore, and this can induce different types of defenses. However few studies have addressed how the attraction of natural enemies occurs after the simultaneous infestation by herbivores of different feeding guilds. In the present study we investigated the olfactory response of mated females of generalist predators *Ceraeochrysa cubana* Hagen, 1861 and *Chrysoperla externa* Hagen 1861 (Neuroptera: Chrysopidae) to volatiles emitted by *Brassica juncea* L. damaged by *Myzus persicae* Sulzer, 1776 (Hemiptera: Aphididae). We also evaluated the effect of simultaneous damage by *M. persicae* and *Plutella xylostella* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Plutellidae) in attracting of *C. externa*. In a Y-tube olfactometer we offered the following odors to mated females of *C. cubana* and *C. externa*: 1) clean air vs. clean air; 2) undamaged plant vs. clean air; 3) undamaged plant vs. plant damaged by *M. persicae*. To investigate whether the simultaneous damage of herbivores affects the attraction of *C. externa* to the volatiles from *B. juncea*, the following odor sources were offered: 1) undamaged plant vs. plants infested by *M. persicae*; 2) undamaged plant vs. plant damaged by *P. xylostella*; 3) undamaged plant vs. plant damaged by *M. persicae* and *P. xylostella*; 4) Plant damaged by *M. persicae* vs. plant damaged by *M. persicae* and *P. xylostella*. The response was measured as the arm of the olfactometer the insect chose and stayed for 15 seconds. We found no attraction of female *C. cubana* and *C. externa* to volatiles of undamaged *B. juncea*. After damage by *M. persicae*, *B. juncea* volatiles were attractive only to *C. externa*. Female *C. externa* did not respond significantly to the volatiles of *B. juncea* damaged by *P. xylostella*, while demonstrating greater attractiveness to volatiles from *B. juncea* damaged by both herbivores simultaneously. These results demonstrate that *C. externa* responds to volatiles emitted by *B. juncea* damaged by *M. persicae* and that there is a positive effect of multiple damage on the attraction of this lacewing. *C. cubana*, on the other hand, did not respond to any volatiles emitted by *B. juncea*.

Keywords: Herbivory. Induced defense. Plant volatiles

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 Planta com injúria de *M. persicae* em saco de plástico microperfurado.
..... 31
- Figura 2 Resposta olfativa de *C. cubana* em olfatômetro “Y” aos voláteis de *B. juncea* sem injúria ou com injúria de *M. persicae*. As barras representam a resposta dos insetos quando estes alcançaram ao menos um terço de um dos braços do olfatômetro (n= nº de insetos que responderam à atratividade do odor) (χ^2 test: ns: não significativo *P \leq 0.05)..... 35
- Figura 3 Resposta olfativa de *C. externa* em olfatômetro “Y” aos voláteis de plantas de *B. juncea* sem injúria, com injúrias e infestada por *M. persicae*. As barras representam a resposta dos insetos quando estes alcançaram ao menos um terço de um dos braços do olfatômetro (n= nº de insetos que responderam à atratividade do odor) (χ^2 test: ns: não significativo *P \leq 0.05). 36
- Figura 4 Resposta olfativa de *C. externa* em olfatômetro “Y” aos voláteis de *B. juncea* com injúria de *P. xylostella* e pela injúria simultânea de *M. persicae* e *P. xylostella*. As barras representam a resposta dos insetos quando estes alcançaram ao menos um terço de um dos braços do olfatômetro (n= nº de insetos que responderam à atratividade do odor) (χ^2 test: ns: não significativo *P \leq 0.05)..... 37

SUMARIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1 Defesa indireta das plantas	15
2.1.1 Compostos orgânicos voláteis e seu uso pelos inimigos naturais	17
2.1.2 Indução de defesa na herbivoria múltipla	20
2.2. Aspectos gerais sobre os herbívoros <i>Myzus persicae</i> e <i>Plutella xylostella</i>	23
2.2.1 <i>Myzus persicae</i>	23
2.2.2 <i>Plutella xylostella</i>	24
2.3 Aspectos dos predadores generalistas <i>C. cubana</i> e <i>C. externa</i>	25
3 MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1 Obtenção e preparação de plantas	27
3.2 Criação dos insetos herbívoros <i>M. persicae</i> e <i>P. xylostella</i>	27
3.3 Criação dos predadores	28
3.4 Preparação das plantas para os bioensaios	29
3.5 Resposta olfativa	31
3.6 Análise dos dados	33
4 RESULTADOS	34
5 DISCUSSÃO	38
6 CONCLUSÃO	43
REFERENCIAS	44

1 INTRODUÇÃO

Embora aparentemente indefesas, as plantas apresentam uma variedade de mecanismos de defesa contra o ataque de herbívoros (ARIMURA; KOST; BOLAND, 2005). Estes mecanismos podem ser constitutivos, em que a planta expressa defesa de forma natural e contínua, não dependendo da presença ou ação de herbívoros, ou induzidos pela herbivoria, sendo expressos somente após a ocorrência da injúria (KARBAN; BALDWIN, 1997). As defesas da planta induzidas pela herbivoria podem ocorrer de forma direta, afetando a suscetibilidade e ou o desenvolvimento de herbívoros através de barreiras física, ou químicas (KOST; HEIL, 2005), ou de forma indireta, afetando os herbívoros pelo recrutamento de outros organismos que possam atuar sobre eles (VOS; JANDER, 2010).

Um dos mecanismos de defesa indireta das plantas contra insetos herbívoros é a liberação de misturas de compostos orgânicos voláteis (COVs) que atuam na atração de inimigos naturais dos herbívoros tais como predadores e parasitoides (DICKE et al., 1990; HEIL, 2008; KESSLER; BALDWIN, 2002; TURLINGS; TUMLINSON; LEWIS, 1990). Estes voláteis induzidos podem servir como pistas químicas para estes inimigos naturais, orientando-os na localização de suas presas ou hospedeiros (DICKE et al., 1990; HOWE; JANDER, 2008; PARÉ; TUMLINSON, 1999; TURLINGS; TUMLINSON; LEWIS, 1990), podendo, ainda ser utilizados por eles como indicadores da densidade da presa ou para seleção de sítio para oviposição (BAVERSTOCK et al., 2005).

A emissão destes voláteis pelas plantas como estratégia de defesa indireta, tem sido amplamente estudada nos últimos anos e vem sendo demonstrada para várias espécies de plantas e inimigos naturais em interações tritróficas (MUMM; DICKE, 2010) sendo apontada como benéfica para a planta,

uma vez que os inimigos naturais atraídos são capazes de reduzir ativamente a herbivoria, conferindo-lhes proteção, podendo assim aumentar sua sobrevivência e reprodução (HOBALLAH; TURLINGS, 1999; KESSLER; BALDWIN, 2002; VAN LOON; de BOER; DICKE, 2000).

A liberação de voláteis induzidos pela herbivoria é regulada através de uma rede complexa de vias de sinalização que envolve, principalmente, três fitohormônios: Ácido Jasmônico, Ácido salicílico e etileno (THALER; HUMPHERY; WHITEMAN, 2012; THOMMA et al., 2001).

Diferentes vias de sinalização são requeridas para diferentes guildas alimentares de herbívoros (THALER; HUMPHERY; WHITEMAN, 2012; VOS; JANDER, 2010). Por exemplo, defesas de plantas efetivas contra afídeos, insetos sugadores que se alimentam do floema da planta, são diferentes daquelas que são efetivas contra lagartas, que são tipicamente desfolhadoras de planta (VOS et al., 2005). Isto porque, insetos sugadores geralmente ativam respostas de defesa mediadas pelo ácido salicílico, enquanto insetos mastigadores ativam, principalmente, respostas mediadas pelo ácido jasmônico (MORAN; THOMPSON, 2001; ZARATE; KEMPEMA; WALLING, 2007). Ecologicamente, esta especificidade na resposta das plantas é importante, pois, frequentemente, elas são atacadas por diferentes herbívoros simultaneamente ou sequencialmente, sendo que injúria provocada por uma única espécie raramente ocorre (STRAUSS, 1991; VOS et al., 2001).

Estudos indicam que as diferentes vias bioquímicas que medeiam esta defesa podem interagir de forma antagônica, sendo que a expressão de uma rota bioquímica pode suprimir a expressão de outra (KOORNNEEF et al., 2008; THALER, 1999; ZARATE; KEMPEMA; WALLING, 2007). Desta forma, a herbivoria múltipla pode influenciar as interações entre plantas e inimigos naturais por meio de mudanças na composição de voláteis emitidos

(RODRIGUEZ-SAONA; CRAFTS-BRANDNER; CANÃS, 2003; SHIOJIRI, et al., 2001; VOS et al., 2001).

Embora seja um fenômeno generalizado na natureza, poucos estudos sobre a defesa indireta das plantas têm considerado o ataque por mais de uma espécie de herbívoro e como isso afeta a atração de inimigos naturais (De BOER et al., 2008; MOAYERI et al., 2007; SHIOJIRI et al., 2001; SOLER et al., 2012; ZHANG et al., 2009, 2013). Estudos recentes têm mostrado que os efeitos da herbivoria múltipla na emissão de voláteis mediando interações tritróficas são, na maioria das vezes, difíceis de prever e altamente variáveis. Em alguns casos fica evidente que a atração de inimigos naturais é influenciada negativamente pela herbivoria múltipla. Por exemplo, plantas de feijão infestadas simultaneamente pelo ácaro *Tetranychus urticae* Koch, 1836 (Acarina: Tetranychidae) e *Bemisia tabaci* Gennadius, 1889 (Hemiptera: Aleyrodidae) emitem menor quantidade de compostos voláteis, o que resulta em menor atração do ácaro predador *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acarina: Phytoseiidae) (ZHANG et al., 2009). Além disso, a infestação simultânea de *B. tabaci* e *Plutella xylostella* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Plutellidae) em plantas de *Arabidopsis thaliana* L. (Brassicaceae) interfere na atração do parasitoide *Diadegma semiclausum* Hellen (Hymenoptera: Ichneumonidae) (ZHANG et al., 2013). Por outro lado, Moayeri et al. (2007) em seus estudos demonstraram preferência acentuada do predador generalista *Macrolophus caliginosus* Wagner (Hemiptera: Miridae) para plantas com injúrias de *T. urticae* e *Myzus persicae* Sulzer, 1776 (Hemiptera: Aphididae) indicando um efeito sinérgico na indução de defesa pelos herbívoros.

Muitas questões envolvendo esse efeito de herbivoria múltipla na atração de inimigos naturais continuam sem ser exploradas. Exemplo disto é que, até o momento, nenhum estudo avaliou o efeito da herbivora múltipla na atração de predadores que buscam por sítio de oviposição. Sendo assim há

necessidade de mais estudos que considerem a relação tritrófica em um contexto de herbivoria múltipla para que haja avanços no conhecimento de como estas interações ocorrem e afetam inimigos naturais. O entendimento dos mecanismos relacionados à resposta da planta para múltiplos ataques poderá contribuir futuramente para o desenvolvimento de estratégias de controle biológico, no manejo de pragas agrícolas, permitindo maior exploração no uso de inimigos naturais. Isto se torna particularmente importante no contexto de culturas com complexos de pragas que atacam de forma simultânea ou sequencial, induzindo diferentes rotas bioquímicas na cultura.

Visando entender melhor como inimigos naturais, sobretudo predadores, se comportam frente aos voláteis de planta induzidos pela herbivoria múltipla na busca por sítio de oviposição adequada ao desenvolvimento de sua prole, no presente trabalho empregou-se um sistema modelo consistindo de *Brassica juncea* L.(Brassicaceae), os herbívoros *M. persicae* e *P. xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) e os predadores generalistas *Ceraeochrysa cubana* Hagen, 1861 *Chrysoperla externa* Hagen, 1861 (Neuroptera: Chrysopidae) com os objetivos de: avaliar a resposta olfativa dos predadores aos voláteis de *B. juncea* com injúria de *M. persicae* e investigar o efeito da indução de defesa pela herbivoria simultânea de *M. persicae* e *P. xylostella*, na atração de *C. externa*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Defesa indireta das plantas

As plantas são atacadas por uma grande diversidade de herbívoros, que podem provocar numerosos efeitos negativos no seu crescimento, sobrevivência e capacidade reprodutiva (COLEY; BARONE, 1996). Dentre estes, os insetos representam o maior e mais diversificado grupo (SCHOONHOVEN; VAN LOON; DICKE, 2005).

A riqueza em espécies deste grupo está relacionada a uma vasta diversidade de plantas hospedeiras, que lhes oferece ampla fonte de recursos. Diferentes espécies de insetos herbívoros podem se alimentar de diferentes formas, incluindo a mastigação de tecidos e sucção de seiva. Os diferentes herbívoros também variam na sua preferência alimentar e podem ser classificados em monófagos, que são aqueles que têm uma especificidade alimentar em uma espécie; em oligófagos, que se alimentam de gêneros de plantas hospedeiras dentro de uma mesma família e em polífagos, que podem se alimentar de um grande número de plantas de famílias diferentes (GULLAN; CRANSTON, 2008).

Ao contrário do que se pensou durante muitos anos, as plantas não são apenas passivas ao ataque dos insetos herbívoros (AGRAWAL, 2000), pois estas desenvolveram, ao longo do período evolutivo, a habilidade de reconhecer e responder defensivamente ao ataque dos insetos (HOWE; JANDER, 2008). As estratégias de defesa utilizadas pelas plantas podem ser classificadas como defesas diretas ou indiretas. As defesas diretas são qualquer característica da planta que afeta diretamente a susceptibilidade e ou o desempenho do herbívoro, aumentando, assim, a aptidão da planta quando atacada (KESSLER; BALDWIN, 2002). Este tipo de defesa pode impedir a alimentação dos

herbívoros através de barreiras físicas, como por exemplo: espinhos, tricomas e ceras, ou através de barreiras químicas, que são os metabólitos secundários das plantas (KOST; HEIL, 2005). Já as defesas indiretas afetam o herbívoro através de seus inimigos naturais (DICKE; VET, 1999)

O termo defesa indireta foi utilizado na literatura, pela primeira vez, há pouco mais de 20 anos por Dicke e Sabelis (1988), após a observação feita por Dicke (1986) de que ácaros predadores foram atraídos por plantas de feijão infestadas por ácaros fitófagos. Em geral este tipo de defesa ocorre quando as plantas atraem, fornecem alimento ou abrigam outros organismos na tentativa de reduzir a pressão dos herbívoros (BRONSTEIN; ALARCÓN; GEBER, 2006). Neste tipo de defesa encontram-se os nectários extraflorais, estruturas usadas como refúgio ou espaço de nidificação e os compostos orgânicos voláteis (HEIL, 2008).

Os nectários extraflorais (NEFs) são estruturas produtoras de néctar que, ao contrário de nectários florais, não estão diretamente relacionadas à polinização (COGNI; FREITAS, 2002). Assim, estes nectários representam uma fonte de recurso alimentar previsível e abundante, e são visitados principalmente por formigas que, geralmente exibem comportamento agressivo contra herbívoros (COGNI; FREITAS; OLIVEIRA, 2003; SCHULTZ; MCGHYNN, 2000).

As plantas podem também aumentar as densidades de predadores por meio da oferta de estruturas que servem como locais de nidificação ou de refúgio (HEIL, 2008). O exemplo mais característico neste caso são estruturas presentes nas folhas de diversas espécies de plantas, chamadas domácias, que podem abrigar formigas ou outros predadores menores (O'DOWD; WILSON, 1989).

Uma das principais defesas indireta das plantas é a produção de Compostos orgânicos voláteis induzidos após a herbivoria, que atraem

organismos carnívoros que se alimentam dos herbívoros, representando um “pedido de ajuda” por parte das plantas (HEIL, 2008).

2.1.1 Compostos orgânicos voláteis e seu uso pelos inimigos naturais

Segundo Hare (2011), o papel da planta hospedeira sobre a interação entre plantas, herbívoros e os inimigos naturais dos herbívoros foi por muito tempo ignorado. Exemplo disso é que, até por volta de 1980, pensava-se que os odores dos hospedeiros provenientes das escamas das asas, fezes ou feromônios seriam os principais mediadores na localização do hospedeiro ou presa pelos inimigos naturais (AUGER et al., 1989). No entanto, Price et al. (1980) sugeriram que as interações tritróficas entre plantas, herbívoros e inimigos naturais ocorrem como parte da estratégia de defesa da planta. Na tentativa de entender como estas interações eram mediadas, muitos estudos demonstraram que os compostos orgânicos voláteis produzidos e liberados pelas plantas após a herbivoria podem funcionar como um tipo de defesa indireta atraindo inimigos naturais dos herbívoros (e.g. DICKE, 1999; DICKE et al., 1990; DU; POPPY; POWELL, 1996; GUERRIERI; PENNACCHIO; TREMBLAY, 1993; TURLINGS; TUMLINSON, 1991; TURLINGS; TUMLINSON; LEWIS, 1990), tanto para forrageio quanto para localização de locais propícios para oviposição (BAVERSTOCK et al., 2005).

Vet e Dicke (1992) propuseram que o uso de pistas químicas por predadores e parasitoides na localização da presa ou hospedeiro depende da sua detectabilidade no ambiente e da precisão da informação quanto à presença do hospedeiro/presa. Embora, tanto a planta sem injúria quanto o herbívoro possam fornecer sinais químicos para os inimigos naturais, existem problemas quanto à utilização destes sinais, pois os voláteis das plantas, apesar de atuar a longas distâncias não são confiáveis, já que não informam da presença do herbívoro.

Por outro lado, os sinais químicos emitidos pelos herbívoros, apesar de confiáveis quanto à presença da presa são pouco detectáveis a longas distâncias, por estarem presentes em quantidades muito pequenas no ambiente (DICKE; VAN LOON, 2000; VET; DICKE, 1992).

A melhor forma de superar estes problemas é a utilização dos COVs induzidos pela herbivoria (VET; DICKE, 1992). Isto porque quando plantas são atacadas por insetos herbívoros elas sofrem mudanças no metabolismo secundário que leva a uma mudança no perfil de COVs liberados ao ambiente, o que pode ser um indicativo da presença de um herbívoro adequado na planta. Estudos têm demonstrado que tanto parasitoides quanto predadores podem detectar esta indução de voláteis e responder à distância com orientação em direção a estes COVs induzidos (DeMORAES et al., 1998; PAREJA et al., 2007; TURLINGS; TUMLINSON; LEWIS, 1990), podendo assim discriminar entre plantas sem injúria ou com injúrias feitas pelos herbívoros (DICKE; VAN LOON, 2000).

Uma questão interessante é como a especialização alimentar dos inimigos naturais dos herbívoros afeta sua utilização dos voláteis induzidos. Baseado na ecologia nutricional, os inimigos naturais podem ser classificados em especialistas, que são os que se alimentam de apenas uma ou poucas espécies de herbívoros e generalistas, que se alimentam de várias espécies de herbívoros. Embora todos os inimigos naturais sejam capazes de explorar a emissão de voláteis de plantas para localizarem suas presas ou hospedeiros, o grau de especialização alimentar deles pode afetar as respostas a esses voláteis.

De acordo com Vet e Dicke (1992), comparado aos predadores, os parasitoides são mais especializados devido a sua íntima dependência fisiológica do hospedeiro para seu desenvolvimento. Neste caso, somente o ataque de seu hospedeiro irá promover a liberação de um conjunto específico de voláteis que atrairá, de forma inata, o parasitoide (STEIDLE; VAN LOON, 2003). Por outro

lado, inimigos naturais generalistas, geralmente predadores, podem fazer uso de pistas gerais liberadas a partir do ataque de diferentes espécies de presas ou hospedeiros, o que torna mais difícil o processo de identificação de sinais específicos, requerendo, portanto maior aprendizado neste sentido. Sendo assim, os generalistas utilizam a aprendizagem de sinais associados com o alimento ou presa (STEIDLER; VAN LOON, 2003; VET; DICKE, 1992). Esta teoria, no entanto não se aplica de forma generalizada na natureza, sendo que resposta inata pode ser encontrada em alguns inimigos naturais generalistas da mesma forma que a aprendizagem mesmo sendo mais comum em espécies generalistas, pode ocorrer em espécies de inimigos naturais especialistas (STEIDLE; VAN LOON, 2003).

Os compostos orgânicos voláteis (COVs) liberados pela planta são resultado de processos fisiológicos que compreendem compostos pequenos, tendo entre cinco e vinte átomos de carbono, que volatilizam a temperatura ambiente (PICHESKY; NOEL; DUDAREVA, 2006), já os compostos voláteis induzidos pela herbivoria podem ser misturas complexas constituídas por dezenas de compostos (D' ALESSANDRO; TURLINGS, 2005), diferindo assim, quantitativamente e qualitativamente em composição de compostos daqueles que são emitidos antes da herbivoria (CLAVIJO et al., 2012), ou por injúria mecânico (DICKE, 1999). A emissão de compostos voláteis induzidos não é restrita apenas ao local danificado pelo herbívoro, mas ocorre também nos tecidos não danificados das plantas, caracterizando uma indução sistêmica que fornece maior proteção a elas (DICKE et al., 1990; TURLINGS; TUMLINSON, 1992).

Em geral, os compostos orgânicos voláteis podem ser divididos em diferentes grupos conforme a natureza bioquímica das moléculas, sendo eles os voláteis de folha verde (VFs), os terpenoides, os benzenoides e os phenylpropanoides (DUDAREVA; PICHESKY; GERSHENZON, 2004). Os

voláteis de folha verde são formados por aldeídos, álcoois e seus ésteres de seis carbonos produzidos através da rota da enzima lipoxigenase e são emitidos rapidamente quando as plantas sofrem injúrias mecânicas. O principal grupo de voláteis induzidos são os terpenoides, que tem sua produção mais tardia em relação aos VFVs uma vez que são produtos de rotas químicas mais complexas e que envolvem a indução de genes relacionados à sua biossíntese, mediada principalmente pelo ácido jasmônico (AJ), fitohormônio envolvido na defesa (VON DAHL; BALDWIN, 2007). Estudos apontam que este fitormônio, seus precursores e compostos relacionados são considerados como o estímulo principal na resposta da planta à herbívora, ativando genes que respondem a esse tipo de estresse (AMENT et al., 2004; KEESLER; HALITSCHKE; BALWIN, 2004; WEI et al., 2011). Esses genes envolvidos na síntese de compostos de defesa incluem sintases de terpenos para a produção de voláteis atrativos aos inimigos naturais (SCHNEE et al., 2006).

2.1.2 Indução de defesa na herbivoria múltipla

As vias de sinalização envolvidas na indução de defesa através dos voláteis são mediadas pela ativação de diferentes vias de transdução de sinal na planta, sendo que as três principais são: (1) a via octadecanoide com ácido jasmônico (JA) como um dos principais compostos, (2) a via do ácido chiquímico com ácido salicílico (AS), como um composto principal e (3) da via de etileno (THALER, 1999).

A maioria dos estudos de voláteis induzidos pela herbivoria foram realizados com apenas uma espécie de herbívoro sobre a planta hospedeira, no entanto frequentemente as plantas são atacadas por diferentes espécies de insetos herbívoros (STRAUSS, 1991; VOS et al., 2001). Embora os estudos acerca dos compostos das vias de sinalização tenham aumentado nos últimos anos, pouco se

sabe sobre como as plantas coordenam a sinalização em resposta a diferentes atacantes. Herbívoros podem causar alterações químicas e morfológicas no fenótipo vegetal específico para o tipo de injúria. Por exemplo, lagartas mastigadoras provocam um conjunto diferente de respostas das plantas que os insetos sugadores (INBAR et al., 1999; STOUT et al., 1998; WALLING, 2000), sendo assim a resposta da planta para herbivoria múltipla pode depender do modo de alimentação das espécies de herbívoros envolvidas (WALLING, 2000).

A alimentação de lagartas mastigadoras provocam graves injúrias aos tecidos das plantas. O ferimento mecânico feito pela alimentação destes insetos associados a indutores presentes na saliva deles induzem a sinalização de defesa através do ácido jasmônico (WALLING, 2000). Comparado ao mastigar das lagartas, insetos sugadores que se alimentam a partir do floema causam injúria limitada aos tecidos (WALLING, 2000). Estes insetos são, por exemplo, mosca branca e pulgões e frequentemente ativam a via de sinalização do ácido salicílico (KEMPEMA et al., 2007; ZARATE; KEMPENA; WALLING, 2007).

A coordenação das respostas de defesa por parte da planta atacada pode variar temporalmente e espacialmente no interior das plantas e para características diferentes, de modo que a resposta de plantas a ataques múltiplos pode ser drasticamente diferente da resposta a um único atacante (RODRIGUEZ-SAONA et al., 2010).

Estudos indicam que as relações fisiológicas são comuns, e que as diferentes vias bioquímicas que medeiam resistência podem interagir de forma antagonica (KOORNNEEF et al., 2008; THALER, 1999; ZARATE; KEMPENA; WALLING, 2007). Desta forma, as respostas das plantas para uma espécie de herbívoro pode ser afetada pela resposta da planta para outras espécies de herbívoros presentes na mesma planta o que por sua vez pode afetar as interações tritróficas (RODRIGUEZ-SAONA; CRAFTS-BRANDNER; CANÁS, 2003; VOS et al., 2001).

Mesmo sendo um fenômeno generalizado na natureza, poucos estudos sobre a defesa indireta das plantas têm considerado ataque por mais de uma espécie de herbívoro e como isso afeta a atração de inimigos naturais (por exemplo de BOER et al., 2008; MOAYERI et al., 2007; SHIOJIRI et al., 2001; SOLER et al., 2012; ZHANG et al., 2009, 2013). A principal hipótese neste caso é que injúria causada em plantas por herbívoros de uma guilda alimentar influencia o desempenho das espécies de outras guildas alimentares e que esta diferença resulta na interferência na atração de inimigos naturais (SOLER et al., 2012). Estudos recentes parecem suportar esta hipótese, por exemplo, plantas de feijão infestadas por ácaros e moscas brancas emitem menor quantidade de compostos voláteis, o que diminui a atração de ácaros predadores para plantas infestadas com ambos (ZHANG et al., 2009). Além disso, a infestação simultânea de *B. tabaci* e *P. xylostella* interfere na atração do parasitoide *D. semiclausum* (ZHANG et al., 2013). No entanto outros estudos mostram que diante da herbivoria múltipla, a constituição dos voláteis pode ser alterada quantitativamente atraindo mais fortemente os inimigos naturais (de BOER et al., 2008; MOAYERI et al., 2007). Sendo assim as respostas das plantas ao ataque de várias espécies de herbívoros pode resultar em três possíveis resultados: uma resposta aditiva devida à falta de especificidade na resposta a diferentes herbívoros; especificidade da resposta da planta sem nenhum interferência sendo que neste caso a planta responde a cada herbívoro diferentemente quando com injúria de diferentes herbívoros; a especificidade da resposta da planta com interferência, neste caso a planta responde a cada herbívoro diferente e há uma atenuação das respostas para cada um quando a planta é duplamente atacada (RODRIGUEZ-SAONA et al., 2010).

Diante da complexidade de respostas de defesa da planta sob múltiplo ataque, faz-se necessário mais estudos envolvendo este tipo de situação para que se entenda melhor como as interações tritróficas ocorrem.

O sistema estudado neste trabalho se baseia na planta de *B. juncea*. Esta planta, assim como outras da família Brassicaceae é atacada por muitos insetos herbívoros entre eles o pulgão *M. persicae* e a lagarta *P. xylostella*, herbívoros escolhidos para este estudo. Estes insetos possuem formas de alimentação diferentes, sendo o afídeo sugador de floema e a lagarta um inseto mastigador.

Os crisopídeos *C. cubana* e *C. externa* foram escolhidos para este estudo por serem predadores generalistas importantes na cultura brassica atacando principalmente *M. persicae* e outros pulgões que atacam estas plantas. A predação ocorre apenas pelo estágio larval nestas espécies de crisopídeos, no entanto, utilizou-se fêmeas acasaladas nos experimentos, uma vez que possam buscar por sítios de oviposição em locais de ocorrência de pulgões, a fim de garantir o sucesso na viabilidade e sobrevivência de sua prole.

2.2. Aspectos gerais sobre os herbívoros *Myzus persicae* e *Plutella xylostella*

2.2.1 *Myzus persicae*

O pulgão *M. persicae* é uma inseto praga polífago e cosmopolita (BLACKMAN; EASTOP, 1984). Podendo atacar plantas de diversas famílias, dentre elas as espécies dentro da família Brassicaceae. Além de injúrias diretas resultantes da sucção contínua da seiva das plantas, essa espécie é altamente eficiente na transmissão de várias viroses (BLACKMAN; EASTOP, 1984).

M. persicae apresenta ciclo de vida curto e alta capacidade reprodutiva, atingindo quase sempre altas densidades populacionais nas culturas, o que influencia a intensidade de ataque desta praga (COSTELLO; ALTIERI, 1995). Ataques intensos causam queda significativa na produtividade e qualidade das plantas. As folhas atacadas por *M. persicae* apresentam-se enroladas e

encarquilhadas, os brotos tornam-se curvos e achatados e os ramos terminais podem secar e morrer.

O método de controle mais utilizado no manejo de pulgões em culturas é o químico. No entanto, o uso indiscriminado desses produtos pode ter consequências graves, tais como resistência aos princípios ativos, redução de populações de insetos benéficos e contaminação ambiental. Tais características, associadas a crescente demanda por produtos livres de agrotóxicos têm contribuído para a utilização de estratégias de manejo integradas e sustentáveis. Entre as táticas utilizadas no manejo integrado, o controle biológico se apresenta como um importante método de controle destas pragas.

Dentre os inimigos naturais de afídeos na cultura brassica estão os parasitoides, importantes devido à especificidade e velocidade com que se reproduzem, e os predadores sendo que os grupos mais importantes são Coccinellidae (Coleoptera), Syrphidae e Chamaemyiidae (Diptera), Anthochoridae e Reduviidae (Hemiptera) e Chrysopidae (Neuroptera) (CERMELI, 2007).

2.2.2 *Plutella xylostella*

P. xylostella, também conhecida como traça das crucíferas é a praga mais importante da cultura das brássicas, sendo responsável por considerável redução na produção destas culturas (TALEKAR; SHELTON, 1993; WALKER; MacDONALD; WALLACE, 2011).

O ciclo de vida destes insetos é curto variando de 15 a 35 dias, apresenta quatro instares larvais (MONNERAT, 1995). O período larval varia de 6 a 30 dias e o pupal dura em média oito dias (MAU; KESSING, 2007). Os adultos apresentam cerca de 10 mm de comprimento. Cada fêmea pode ovipositar em média 160 ovos durante sua vida (MONNERAT, 1995).

As lagartas comem a folha, com exceção das nervuras podendo se alimentar apenas da epiderme inferior criando um efeito de transparência nas folhas (MAU; KESSING, 2007).

De ocorrência em diversas regiões do mundo, essa praga causa sérias injúrias á brássicas de importância econômica, tais como perfurações e redução de áreas foliares, acarretando na depreciação do produto, retardamento no crescimento e até mesmo a morte das plantas.

O controle químico ainda é o mais utilizado para combater esta praga, no entanto o uso exacerbado e desordenado de inseticidas nas culturas brássicas tem resultado no aparecimento de insetos geneticamente resistentes a inseticidas (THULER, 2003). Devido aos inconvenientes do método de controle químico, novos métodos vêm sendo estudados que podem ser adequadamente integrados para o controle desta praga, como por exemplo o controle biológico através de parasitoides e predadores. Neste método de controle os parasitoides recebem destaque sendo que mais de 90 espécies são reconhecidas em diferentes partes do mundo (WATERHOUSE, 1987).

2.3 Aspectos dos predadores generalistas *C. cubana* e *C. externa*

Os crisopídeos são insetos pertencentes à família Chrysopidae e representam a segunda maior família da ordem Neuroptera com aproximadamente 1.200 espécies e subespécies identificadas, distribuídas em 86 gêneros (FREITAS, 2002). São considerados os holometábolos mais primitivos (ASPÖCK; PLANT; NEMESCHKAL, 2001), sendo que os adultos se diferem radicalmente da fase imatura quanto aos hábitos, o que lhes confere grande vantagem evolucionária podendo explorar diversos nichos ecológicos (FREITAS, 2002). Além disso, eles possuem condições de adaptabilidade a

diferentes ambientes, o que lhes garante uma ampla distribuição geográfica (BROOKS; BARNARD, 1990).

Estes insetos são considerados importantes predadores, destacando-se por sua alta capacidade reprodutiva, grande voracidade e pela presença em diversas culturas, podendo alimentar-se de ovos, lagartas neonatas, pulgões, cochonilhas, ácaros e vários outros artrópodes de pequeno tamanho e tegumento perfurável (CARVALHO; SOUZA, 2000). Portanto os crisopídeos se caracterizam como predadores generalistas com grande potencial como agentes de controle biológico.

No Brasil, as espécies *C. externa* e *C. cubana* destacam-se em estudos de biologia, direcionados a futuros programas de controle integrado de pragas (FREITAS, 2002). Essas espécies são bastante semelhantes em alguns aspectos, por exemplo, os adultos não são predadores, se alimentam de pólen e soluções açucaradas e as fêmeas colocam seus ovos em plantas hospedeiras de insetos pragas que servem de presas para suas larvas (FREITAS, 2002).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Ecologia Química do Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras, a 25 ± 2 °C e umidade relativa de $70\pm 10\%$.

3.1 Obtenção e preparação de plantas

Sementes de *B. juncea* obtidas comercialmente foram cultivadas na casa de vegetação, inicialmente plantadas em sementeiras de isopor (36 células) contendo substrato comercial. Após a germinação as plantas foram transferidas para copos de plástico (300 ml) contendo uma mistura de terra e substrato na proporção de 1:1. As plantas foram irrigadas diariamente e mantidas na casa de vegetação até sua utilização nos experimentos. Em todos os experimentos utilizou-se plantas com idade entre 5-7 semanas, que apresentavam quatro folhas totalmente expandidas.

3.2 Criação dos insetos herbívoros *M. persicae* e *P. xylostella*

Os insetos utilizados nos experimentos foram obtidos a partir de criações estabelecidas em laboratórios do Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras (DEN/UFLA).

A criação do pulgão *M. persicae* foi estabelecida em placas de Petri (15 cm de diâmetro) contendo uma folha de *Nicandra physaloides* (Solanaceae), sobre uma camada de água-ágar 1%. As placas foram vedadas com papel toalha a fim de evitar a fuga dos pulgões e permitir entrada de ar. Essas placas foram mantidas em câmaras climatizadas do tipo BOD a 22 ± 1 °C, UR de $70\pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. A cada quatro dias as placas eram substituídas. As plantas

de *N. physaloides* utilizadas na criação foram provenientes da casa de vegetação do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras.

As lagartas de *P. xylostella* foram criadas em recipientes de plástico ventilados (30x15x7cm) sobre folhas de couve (*Brassica oleracea*) em laboratório de criação do DEN/UFLA a $22\pm 1^{\circ}\text{C}$, UR $70\pm 10\%$ e 12 horas de fotofase. As folhas foram trocadas a cada dois dias. Para a manutenção da criação, ao atingirem o estágio de pupa, estas eram transferidas para gaiolas de acrílico (30x30x20cm) para emergência dos adultos. Após a emergência, semanalmente colocava-se uma folha de couve no interior destas gaiolas para oviposição das fêmeas. Após 24 horas, estas folhas com ovos eram retiradas das gaiolas e transferidas para os recipientes para eclosão das lagartas. Lagartas de terceiro ínstar foram utilizadas nos experimentos.

3.3 Criação dos predadores

Para a criação dos predadores *C. externa* e *C. cubana*, ovos destes insetos de até 24 horas foram obtidos da criação estabelecida no laboratório de Biologia de Insetos do DEN-UFLA. As criações de cada espécie foram feitas de forma separada, no entanto foram mantidas nas mesmas condições em laboratório de criação de insetos a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, UR $70\pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Para a eclosão das larvas, os ovos de *C. cubana* foram transferidos para gaiolas cilíndricas de PVC (20 cm de altura e 20 cm de diâmetro) revestidas com papel filtro branco e com pedaços de papel toalha que serviam como refúgio contra canibalismo. Essas gaiolas foram fechadas na parte superior e inferior com filme de PVC laminado. Já os ovos de *C. externa* foram individualizados em tubos de ensaio cilíndricos, onde as larvas foram criadas. Após a eclosão, as larvas das duas espécies foram alimentadas a cada três dias com ovos de *Anagasta kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). Ao atingirem o estágio de pupa as

larvas tanto de uma espécie quanto da outra, foram retiradas das gaiolas, no caso de *C. cubana* e dos tubos de ensaio, no caso de *C. externa*, e transferidas para uma gaiola de acrílico para a emergência dos adultos. Após a emergência, os adultos foram transferidos para gaiolas de PVC (20 cm de altura e 20 cm de diâmetro), revestidas internamente com papel filtro branco, tendo a parte superior fechada com papel filme e a parte inferior apoiada em pratos plásticos de 25 cm de diâmetro forrados com papel toalha. No interior de cada gaiola, foi colocado um frasco contendo um chumaço de algodão embebido em água.

Os adultos foram alimentados à base de uma dieta composta por levedo de cerveja e mel, preparada na proporção de 1:1 pinceladas em tiras de Parafilm®. Em cada gaiola, fazia-se anotação correspondente à espécie e data de emergência para que as fêmeas fossem utilizadas nos experimentos em idade padronizada, 10-12 dias após a emergência, período em que as fêmeas encontram-se acasaladas (SALAMANCA, 2013). Para a utilização nos experimentos de olfatométrica, os adultos foram transferidos novamente para a gaiola de acrílico, e as fêmeas foram individualizadas em tubos de ensaio de fundo reto. A sexagem foi feita através de observações da genitália.

3.4 Preparação das plantas para os bioensaios

Para os bioensaios em olfatômetro as plantas foram levadas ao laboratório submetidas aos seguintes tratamentos de injúrias:

- Plantas sem injúria: utilizadas como controle para comparações com os tratamentos de injúria feito por *M. persicae*, *P. xylostella* e injúria simultânea dos dois herbívoros.
- Plantas com injúria ou infestadas por *M. persicae*: 100 indivíduos de *M. persicae* foram colocados com a ajuda de um pincel de ponta fina nas plantas.

- Plantas com injúria de *P. xylostella*: três lagartas de terceiro ínstar foram transferidas para as plantas através de pincel de ponta fina.
- Plantas com injúria de *M. persicae* e *P. xylostella*: 100 indivíduos de *M. persicae* foram colocados sobre as plantas e imediatamente três lagartas de *P. xylostella* foram colocadas na mesma planta.

A quantidade de herbívoros nas plantas determinando injúria foi estabelecida através da pesagem dos herbívoros em balança de precisão, sendo que as lagartas pesaram cerca de 0,002g e os afídeos aproximadamente 0,003g. Após receberem o tratamento de injúria correspondente ao experimento as plantas foram cobertas com saco de plástico micro perfurado (Figura 1) para mantê-las isoladas e mantidas em câmaras climatizadas do tipo BOD a $22\pm 1^{\circ}\text{C}$, UR $70\pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. A planta sem injúria também foi isolada da mesma forma para controlar qualquer efeito deste procedimento. As plantas foram usadas para os bioensaios após três dias (72 horas) de injúria em todos os tratamentos. Após este período, as plantas correspondentes ao bioensaio a ser realizado no dia foram removidas da câmara climatizada cerca de uma hora antes de seu uso.

Nos tratamentos em que foram utilizadas plantas com injúria os insetos foram removidos com pincel de ponta fina e os traços de honeydew, no caso daquelas com injúria de pulgões, foram cuidadosamente removidos com algodão molhado em água morna. Este procedimento é necessário para ter certeza que os semioquímicos dos pulgões não estão interferindo no experimento. O mesmo procedimento foi feito nas plantas sem injúria para controlar qualquer efeito da limpeza. No experimento com planta infestada, os afídeos não foram retirados e as plantas não foram submetidas ao procedimento de limpeza. Os bioensaios a partir deste tratamento foram realizados para ser comparado aos bioensaios feitos por plantas com injúria

de *M. persicae* com o intuito de avaliar o efeito da limpeza na resposta dos predadores. Após o procedimento de limpeza o substrato dos copos contendo as plantas foi coberto com papel alumínio visando eliminar possíveis efeitos de voláteis emitidos pelo substrato de plantio.



Figura 1 Planta com injúria de *M. persicae* em saco de plástico microperfurado.

3.5 Resposta olfativa

Para determinar respostas olfativas de *C. cubana* e *C. externa* aos COVs de *B. juncea* foram utilizados olfatômetros em “Y” com 15 cm de comprimento 2 cm de diâmetro e ângulo de 120° entre os braços, um modelo modificado de Han e Chen (2002), onde os insetos foram expostos ao odor das plantas sem estímulos visuais. Os copos com as plantas de *B. juncea* foram colocadas individualmente em câmaras de vidro, às quais foram conectados tubos de teflon levando ar filtrado por carvão ativado. As câmaras foram conectados ao olfatômetro em Y com tubos de teflon, apresentando assim dois odores para o inseto que se encontra no olfatômetro. O olfatômetro operou com fluxo de ar

contínuo de 1,5 L/min. calibrado através de um fluxômetro. Os ensaios foram realizados durante o período da tarde (14- 17 h). Em cada repetição uma fêmea acasalada de *C. cubana* ou *C. externa* foi introduzida individualmente na base do olfatômetro e a resposta foi medida como o primeiro braço do Y que o inseto ultrapassava 1/3 ao longo do braço, no tempo máximo de 10 minutos e permanecia por no mínimo 15 segundos. O tubo Y de vidro foi trocado a cada inseto testado e o lado de apresentação dos odores foi trocado a cada três insetos. Já que a produção de COVs é muito variável entre plantas individuais (PAREJA et al., 2009) a cada dez insetos testados, as plantas utilizadas foram trocadas por novas para controlar esta variação. Antes de cada bioensaio a vidraria foi lavada com água, detergente, água destilada e álcool a 70% e secado em uma estufa a 120°C para eliminar contaminação.

Para avaliar se a resposta olfativa de *C. cubana* foram feitos três experimentos testando-se 60 insetos para a primeira combinação a seguir e 100 para as demais, onde cada exemplar representou uma repetição. As combinações estudadas foram:

- Ar limpo vs. Ar limpo
- Plantas sem injúria vs. Ar limpo
- Plantas com injúria de *M. persicae* vs. Planta sem injúria.

Para avaliar a resposta olfativa de *C. externa* foram feitos sete experimentos testando-se 80 insetos em cada um deles, com exceção do experimento ar vs. ar em que testou-se apenas 61 insetos. As combinações foram as seguintes:

- Ar vs. Ar
- Plantas sem injúria vs. Ar limpo.
- Plantas com injúria de *M. persicae* vs. Planta sem injúria
- Plantas infestadas por *M. persicae* vs. Planta sem injúria
- Planta com injúria de *P. xylostela* vs. Planta sem injúria

- Planta com injúria de *M. persicae* e *P.xylostella* vs. Planta sem injúria
- Planta com injúria de *M. persicae* e *P. xylostella* vs. Planta com injúria de *M. persicae*.

3.6 Análise dos dados

As análises dos dados obtidos nos ensaios de olfatometria foram feitas com teste de qui-quadrado (χ^2), com uma resposta esperada de 50% dos insetos em cada braço do olfatômetro. Os insetos que não escolheram nenhum dos braços não foram considerados nas análises. Foi utilizado o ambiente “R” (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2006). Os gráficos foram feitos no programa sigma plot.

4 RESULTADOS

As comparações estabelecidas entre os tratamentos de ar limpo vs ar limpo para a calibragem do aparelho não foram significativas quanto às porcentagens de resposta de *C. cubana* ($\chi^2 = 0.267$, $P=0.606$) (Figura 2) e *C. externa* ($\chi^2 = 0.016$, $P = 0.898$) (Figura 3) mostrando que não houve outra interferência nos experimentos que não fosse os semioquímicos.

Não houve preferência pelo ar limpo por fêmeas de *C. cubana* ($\chi^2 = 3.247$, $P=0.0715$) (Figura 2) nem de *C. externa* ($\chi^2= 0.352$, $P=0.553$) (Figura 3). As fêmeas de *C. cubana* também não apresentaram preferência entre os odores de *B. juncea* sem injúria e com injúria do afídeo *M. persicae* ($\chi^2 = 0.527$, $P = 0.468$) (Figura 2). Em contrapartida, ao se oferecer as mesmas fontes de odores para fêmeas de *C. externa*, observou-se uma preferência significativa pelos odores provenientes da planta com injúria do pulgão ($\chi^2 = 8.803$, $P = 0.003$) (Figura 3). Também houve preferência pelas plantas infestadas por *M. persicae* ($\chi^2 = 9.72$, $P = 0.002$) (Figura 3). Este experimento feito com planta infestada pelo pulgão mostrou que o processo de limpeza feito nas plantas com injúria de pulgão, não altera a resposta do predador.

Fêmeas de *C. externa* não mostraram preferência pelos voláteis emitidos por plantas com injúria de *P. xylostella* comparados com plantas sem injúria ($\chi^2= 0.5$, $P = 0.479$) (Figura 4). Constatou-se ainda que fêmeas de *C. externa* foram mais atraídas pelos voláteis provenientes de plantas com injúria simultânea dos dois herbívoros, que aos emitidos pela planta sem injúria ($\chi^2= 6.722$, $P = 0.009$) ou com injúria de *M.persicae* ($\chi^2= 7.451$, $P= 0.006$) (Figura 4).

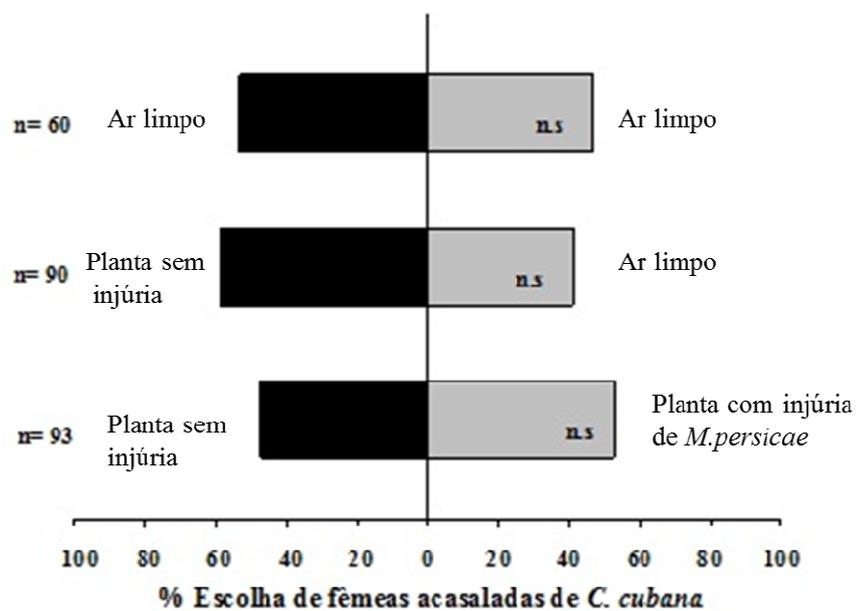


Figura 2 Resposta olfativa de *C. cubana* em olfatômetro “Y” aos voláteis de *B. juncea* sem injúria ou com injúria de *M. persicae*. As barras representam a resposta dos insetos quando estes alcançaram ao menos um terço de um dos braços do olfatômetro (n= n°de insetos que responderam à atratividade de odor) (χ^2 test: ns: não significativo * $P \leq 0.05$).

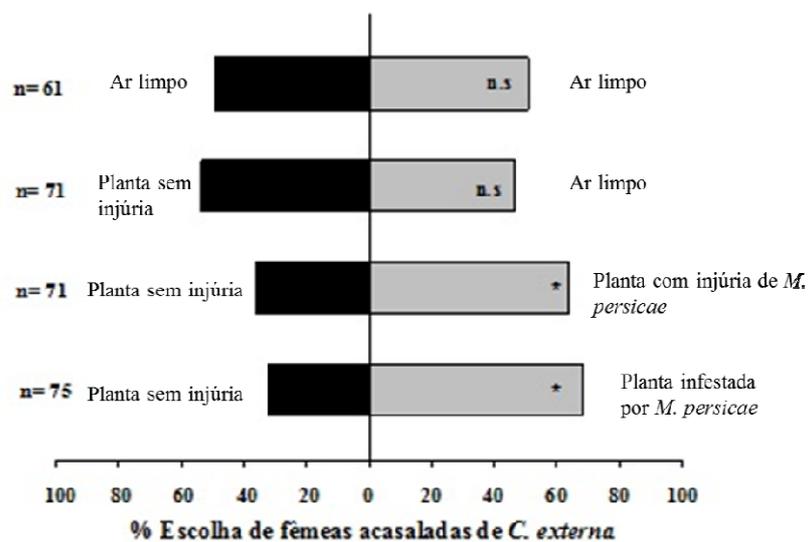


Figura 3 Resposta olfativa de *C. externa* em olfatômetro “Y” aos voláteis de plantas de *B. juncea* sem injúria, com injúria e infestada por *M. persicae*. As barras representam a resposta dos insetos quando estes alcançaram ao menos um terço de um dos braços do olfatômetro (n= n° de insetos que responderam à atratividade do odor) (χ^2 test: ns: não significativo * $P \leq 0.05$).

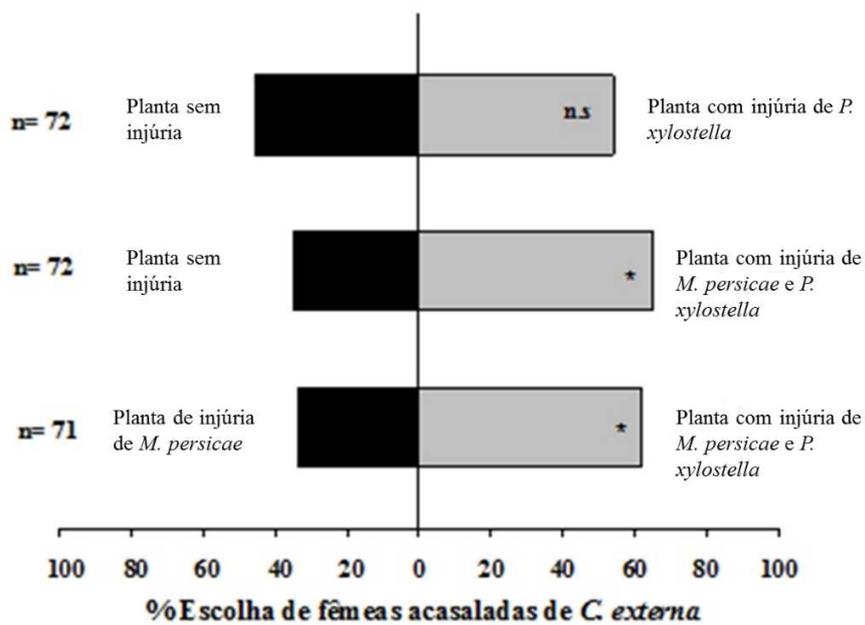


Figura 4 Resposta olfativa de *C. externa* em olfatômetro “Y” aos voláteis de *B. juncea* com injúria de *P. xylostella* e pela injúria simultânea de *M. persicae* e *P. xylostella*. As barras representam a resposta dos insetos quando estes alcançaram ao menos um terço de um dos braços do olfatômetro (n= n° de insetos que responderam à atratividade do odor) (χ^2 test: ns: não significativo * $P \leq 0.05$).

5 DISCUSSÃO

Dentre as estratégias de defesa empregadas pelas plantas contra a herbivoria está a produção de voláteis induzidos pelos herbívoros, que podem ser detectados a longas distancias pelos inimigos naturais que utilizam destes voláteis para localizar sua presa ou hospedeiro (VET; DICKE, 1992). Frequentemente as plantas podem ser atacadas por herbívoros de guildas alimentares diferentes simultaneamente, podendo produzir diferentes misturas voláteis de acordo com o injúria causada por estes insetos, devido às distintas vias de sinalização de defesa que eles induzem (LEITNER; BOLAND; MITHÖFER, 2005).

O presente trabalho traz contribuições para o melhor entendimento de como predadores generalistas respondem a emissão de voláteis por uma ou diferentes espécies de herbívoros na busca por sitio de oviposição. Os resultados apresentados neste trabalho revelam que diferentes espécies de predadores generalistas podem responder ou não a emissão de voláteis por planta atacada por uma espécie de herbívoro e mostra o efeito positivo da herbivoria múltipla na atração de uma das espécies de predador estudada.

Primeiramente, investigou-se as fêmeas de *C. cubana* e *C. externa* seriam capazes de localizar ambiente propício para oviposição a partir de voláteis de *B. juncea*. Foi demonstrado que as fêmeas das duas espécies predadoras não respondem a odores de *B. juncea* sem injúria . Embora os voláteis de planta liberados antes da herbivoria possam ser produzidos em quantidades detectáveis, eles não fornecem informações confiáveis da presença do herbívoro aos inimigos naturais (VET; DICKE, 1992), sendo assim, o resultado encontrado neste trabalho indica que voláteis emitidos pela planta antes da herbivoria não são atrativos às fêmeas destes predadores, por não serem indicadores da presença de recursos alimentares que possa garantir o

desenvolvimento e sobrevivência da sua progênie. Resultado similar a este foi encontrado por Tatemoto e Shimoda (2008) estudando a resposta olfativa do ácaro predador *Neoseiulus cucumeris* Oudemans (Acarina: Phytoseiidae) e do inseto predador *Orius strigicollis* Poppius (Hemiptera: Anthocoridae) a plantas de pepino e cebolinha infestados por *Thrips tabaci* Lindeman, 1888 (Thysanoptera: Thripidae). Esses autores constataram que nenhum dos predadores estudados apresentou preferência entre planta sem injúria e ar limpo. Em contrapartida, alguns inimigos naturais, podem utilizar destes voláteis como indicadores de áreas propícias para forrageio. Exemplo disso foi observado por Pareja et al. (2007) que demonstraram que o parasitoide de afídeos *Aphidius funebris* Mackauer (Hymenoptera: Braconidae) foi mais atraído para plantas sem alguma injúria que para o ar limpo.

As fêmeas de *C. externa* preferiram aos odores liberados pelas plantas com injúria e infestadas por *M. persicae* que aos emitidos por planta sem injúria. O resultado deste estudo indica que os voláteis da planta liberados após a herbivoria tem papel importante na atração de fêmeas de *C. externa* podendo auxiliar na localização de ambiente favorável a oviposição com a presença de presas adequadas à sobrevivência de sua prole. Esse resultado corrobora com o trabalho feito por Salamanca (2013) em que a mesma espécie de crisopídeo preferiu odores provenientes de roseiras infestadas com o afídeo *Macrosiphum euphorbiae* Thomas, 1878 (Hemiptera: Aphididae) quando oferecido como alternativa, plantas sem injúria.

Contrariamente à resposta encontrada para *C. externa* para plantas com injúria de *M. persicae*, no mesmo experimento feito com *C. cubana* constatou-se que esta espécie não foi capaz de distinguir entre os voláteis de plantas atacadas por *M. persicae* e plantas não atacadas. Como este é o primeiro trabalho a abordar a resposta olfativa desta espécie de predador aos voláteis de *B. juncea*, não se pode simplesmente afirmar que esta espécie é incapaz de

responder aos voláteis emitidos por plantas com injúria de afídeos, sem antes estudar outros fatores que podem ter influenciado essa não resposta, sendo assim futuros estudos poderão abordar fatores como o idade e horário de resposta destes indivíduos. Outro fator interessante a ser estudado seria a aprendizagem de sinais nesta espécie, uma vez que algumas espécies de inimigos naturais podem não responder de forma inata aos voláteis de planta. Trabalhos experimentais de Drukker et al. (2000) por exemplo, demonstraram que somente após a aprendizagem o predador *Anthocoris nemoralis* F. (Hemiptera: Anthocoridae) foi capaz de associar a emissão de voláteis a partir de Salicilato de Metila, com a presença da presa mostrando preferência pronunciada para estes voláteis. Estes estudos poderão contribuir para que se entenda a capacidade de utilização dos voláteis de planta por parte desta espécie de predador, o que futuramente poderá contribuir para seu uso eficiente em estratégias de controle destes herbívoros.

Neste trabalho, também investigou-se o efeito da herbivoria múltipla na atração *C. externa*. Em olfatometro em Y, as fêmeas de *C. externa* foram fortemente atraídas para plantas com injúria de pelos dois herbívoros simultaneamente. Isto indica que a herbivoria múltipla tem um efeito positivo sobre a resposta deste predador, melhorando sua capacidade de localizar sitio de oviposição em ambientes onde esta situação ocorra.

Em uma situação de herbivoria múltipla, situação bastante comum na natureza, existe um potencial de interferência entre as vias de sinalização que medeiam defesa, sendo que as interações entre herbívoros de diferentes guildas alimentares podem afetar a indução de defesa indireta das plantas (KOORNNEEF et al., 2008). A principal hipótese neste caso é que as vias sinalizadoras que medeiam defesa atuem de forma antagônica, uma interferindo na outra resultando em uma atenuação da resposta do inimigo natural (DICKE; VAN LOON; SOLER, 2009). Alguns estudos tem demonstrado que este efeito

antagônico ocorre e pode reduzir as respostas tanto de predadores (ZHANG et al., 2009), quanto de parasitoides (ZHANG et al., 2013). No entanto, o resultado encontrado no presente estudo mostra uma resposta acentuada do predador aos voláteis provenientes de plantas com injúria de simultâne dos dois herbívoros, indicando que estas vias podem atuar de forma sinérgica o que torna a atração do predador mais fortalecida.

Há pelo menos duas explicações possíveis para a forte atração de inimigos naturais a plantas sob múltiplo ataque, uma delas seria que não ocorre interferência entre as vias de sinalização e a planta responde normalmente a cada herbívoro de forma diferente, o que não modifica a resposta do inimigo natural (RODRIGUEZ et al., 2010). É o que ocorre, por exemplo, para o parasitoide de afídeos *Diaretiella rapae* Mc Intosh (Hymenoptera: Braconidae) que responderam igualmente aos odores liberados por plantas de couve infestada apenas com *M. persicae* ou por planta de couve infestada pelo pulgão e a lagarta *P. xylostella* (AGBOGBA; POWELL, 2007). Embora, os resultados do presente estudo mostrem claramente que as respostas para as plantas são diferentes de acordo com o herbívoro, o que fica evidente pelo fato de *C. externa* não ser atraída por plantas com injúria de *P. xylostella* enquanto é atraída pelos voláteis induzidos por *M. persicae*, essa primeira explicação não corresponde com o que encontramos neste estudo. Se esse fosse o caso, as respostas do predador não iriam variar quando oferecido plantas com injúria de *M. persicae* vs. planta com injúria dos herbívoros simultaneamente, sendo que a planta responderia da mesma forma, mesmo na presença de *P. xylostella*.

Outra explicação é que talvez esteja mais de acordo com os resultados deste trabalho é que a maior atração de *C. externa* para os voláteis a partir da herbivoria múltipla seria que as plantas são mais fortemente induzidas por dois herbívoros que por um, resultando em taxas de emissões mais elevadas de uma mistura volátil, sendo assim a herbivoria múltipla teria um efeito aditivo na

atração de inimigos naturais (RODRIGUEZ-SAONA et al., 2010). Exemplo disso, foi demonstrado por de Boer et al. (2008) que verificaram que a maioria dos compostos de defesa em plantas de feijão foram mais fortemente induzidos pela herbivoria simultânea do ácaro *T. urticae* e *Spodoptera exigua* Hubner, 1808 (Lepidoptera: Noctuidae) que pelos herbívoros individualmente, podendo atrair mais o ácaro predador *P. persimilis*. O mesmo efeito foi constatado para o mirídeo *M. caliginosus* que se mostraram mais atraídos para voláteis emitidos por plantas de pimentão infestadas simultaneamente com o ácaro *T. urticae* e afídeo *M. persicae* do que aqueles emitidos a partir de plantas infestadas por apenas um herbívoro independente da espécie, isso porque análise de cromatografia gasosa revelou que a quantidade de misturas emitidas a partir da pimenta sob a herbivoria dos dois foi significativamente mais elevada que a infestada por uma única espécie.

Neste trabalho, no entanto não se pode confirmar se o efeito observado no comportamento do predador foi causado por emissões mais altas de voláteis atuando de forma sinérgica, pois não foram avaliados os perfis voláteis das plantas com injúria de uma única espécie de herbívoros ou em herbivoria conjunta. Neste caso, há necessidade de estudos futuros, analisando a qualidade e quantidade das misturas voláteis dos tratamentos avaliados.

Com base nos resultados encontrados no presente estudo, podemos supor que *C. externa* consegue localizar sua presa em situações mais complexas e próximo do que ocorre na natureza. Parece que este é o primeiro estudo a investigar o comportamento olfativo de espécies de predadores que na fase adulta não estão diretamente interessados em forrageio, mas em localização de ambiente favorável ao desempenho de sua prole neste contexto de múltipla herbivoria. Este é um passo importante para desvendar as interações entre plantas e inimigo naturais.

6 CONCLUSÃO

- *C. externa* responde aos voláteis de *B. juncea* com injúria de *M. persicae*.
- *C. cubana* não responde aos voláteis de *B. juncea* com injúria de *M. persicae*.
- Há efeito positivo na atração de *C. externa* para os voláteis de *B. juncea* com injúrias de *M. persicae* e *P. xylostella*.

REFERENCIAS

AGBOGBA, B. C.; POWELL, W. Effect of the presence of a nonhost herbivore on the response of the aphid parasitoid *Diaeretiella rapae* to host-infested cabbage plants. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 33, n. 12, p. 2.229-2.235, Dec. 2007.

AGRAWAL, A. A. Specificity of induced resistance in wild radish: causes e consequences for two specialist and two generalist caterpillars. **Oikos**, Copenhagen, v. 89, p. 493-500, 2000.

AMENT, K. et al. Jasmonic acid is a key regulator of spider mite-induced volatile terpenoid and methyl salicylate emission in tomato. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 135, n. 4, p. 2.025-2.037, Aug. 2004.

ARIMURA, G.; KOST, C.; BOLAND, W. Herbivore-induced, indirect plant defences. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids**, Amsterdam, v. 1.734, n. 2, p. 91-111, maio 2005.

ASPÖCK, U.; PLANT, J. D.; NEMESCHKAL, H. L. Cladistic analysis of Neuroptera and their systematic position within Neuropterida (Insecta: Holometabola: Neuropterida: Neuroptera). **Systematic Entomology**, Oxford, v. 26, n. 1, p. 73-86, 2001.

AUGER, J. et al. Identification of leek-moth and diamondback-moth frass volatiles that stimulates parasitoid: *Diadromus pulchellus*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 15, n. 4, p. 1.391-1.398, Apr. 1989.

BAVERSTOCK, J. et al. Response of the entomopathogenic fungus *Pandora neoaphidus* to aphid-induced plant volatiles. **Journal of Invertebrate Pathology**, New York, v. 89, n. 2, p. 157-164, June 2005.

BLACKMAN, R. L.; EASTOP, V. F. **Aphids on the world's crops: an identification guide**. New York: Wiley, 1984.

BRONSTEIN, J. L.; ALARCÓN, R.; GEBER, M. The evolution of plant–insect mutualisms. **New Phytologist**, Oxford, v. 172, n. 3, p. 412-428, 2006.

BROOKS, S. J.; BARNARD, P. C. The green lacewings of the world: a generic review (Neuroptera: Chrysopidae). **Bulletin of the British Museum (Natural History), Entomology Series**, London, v. 59, n. 2, p. 117-286, 1990.

CARVALHO, C. F.; SOUZA, B. Métodos de criação e produção de crisopídeos . In: BUENO, V. H. P. (Ed.). **Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade**. Lavras: Ed. UFLA, 2000. p. 91-109.

CERMELI, M. Los Áfidos de importancia agrícola en Venezuela y algunas observaciones sobre ellos (Homoptera; Aphididae). **Agronomía Tropical**, Maracay, v. 20, n. 1, p. 15-61, 2007.

CLAVIJO, M. C. et al. The specificity of herbivore-induced plant volatiles in attracting herbivore enemies. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 17, n. 5, p. 303-310, May 2012.

COGNI, R.; FREITAS, A. V. L. The ant assemblage visiting extrafloral nectaries of *Hibiscus pernambucensis* (Malvaceae) in a mangrove forest in Southeast Brazil (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, Chico, v. 40, n. 2, p. 373-383, 2002.

COGNI, R.; FREITAS, A. V. L.; OLIVEIRA, P. S. Interhabitat differences in ant activity on plant foliage: ants at extrafloral nectaries of *Hibiscus pernambucensis* in sandy and mangrove forests. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 107, n. 2, p. 125-131, May 2003.

COLEY, D.; BARONE, J. A. Herbivory and plant defenses in tropical forests. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 27, p. 305-35, Nov. 1996.

COSTELLO, M. J.; ALTIERI, M. A. Abundance, growth-rate and parasitism of *Brevicoryne brassicae* and *Myzus persicae* (Homoptera, Aphididae) on broccoli grown in living mulches. **Agriculture Ecosystems & Environment**, Amsterdam, v. 52, n. 1, p. 187-196, Feb. 1995.

D'ALLESANDRO, M.; TURLINGS, T. C. J. In situ modification of herbivore-induced plant odors: A novel approach to study the attractiveness of volatile organic compounds to parasitic wasps. **Chemical Senses**, Oxford, v. 30, n. 9, p. 739-753, Nov. 2005.

De BOER, J. G. et al. Prey and non-prey arthropods sharing a host plant: Effects on induced volatile emission and predator attraction. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 34, n. 3, p. 281-290, Mar. 2008.

De MORAES, C. M. et al. Herbivore infested plants selectively attract parasitoids. **Nature**, London, v. 393, n. 6.685, p. 570-573, June 1998.

DICKE, M. Are herbivore-induced plant volatiles reliable indicators of herbivore identity to foraging carnivorous arthropods? **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 91, n. 1, p. 131-142, Apr. 1999.

DICKE, M. Volatile spider-mite pheromone and host-plant kairomone, involved

in spaced-out gregariousness in the spider mite *Tetranychus urticae*.

Physiological Entomology, Oxford, v. 11, n. 3, p. 251-262, Sept. 1986.

DICKE, M.; SABELIS, M. W. How plants obtain predatory mites as bodyguards. **Journal of Zoology**, v. 38, n. 2-4 p. 148-165, 1988.

DICKE, M.; VAN LOON, J. J. A. Multitrophic effects of herbivore-induced plant volatiles in an evolutionary context. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 97, n. 3, p. 237-249, Dec. 2000.

DICKE, M.; VET, L. E. M. Plant-carnivore interactions: evolutionary and ecological consequences for plant, herbivore and carnivore. In: OLFF, H.; BROWN, V. K.; DRENT, R. H. **Herbivores: Between Plants and Predators**. Oxford: Blackwell Science Oxford, 1999. p. 483-520.

DICKE, M.; VAN LOON, J. J.A.; SOLER, R. Chemical complexity of volatiles from plants induced by multiple attack. **Nature Chemical Biology**, New York, v. 5, n. 5, p. 317-324, May 2009.

DICKE, M. et al. Isolation and identification of volatile kairomone that affects *Acarine* predator-prey interactions. Involvement of the host plant in its production. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 16, n. 2, p. 381-395, 1990.

DRUKKER, B. et al. How predatory mites learn to cope with variability in volatile plant signals in the environment of their herbivorous prey. **Experimental & Applied Acarology**, Amsterdam, v. 24, n. 12, p. 881-895, 2000.

DU, Y. J.; POPPY, G. M.; POWELL, W. Relative importance of semiochemicals from the first and second trophic level in host foraging behaviour of *Aphidius ervi*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 22, n. 9, p. 1.591-1.605, Sept. 1996.

DUDAREVA, N.; PICHERSKY, E.; GERSHENZON, J. Biochemistry of plant volatiles. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 135, n. 4, p. 1.893-1.902, Aug. 2004.

FREITAS, S. The green lacewings (Neuroptera: Chrysopidae) of Brazilian agroecosystems. **Proceedings of the California Academy of Sciences**, San Francisco, v. 52, n. 19, p. 245-398, 2002.

GUERRIERI, E.; PENNACCHIO, F.; TREMBLAY, E. Flight behaviour of the aphid parasitoid *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Braconidae) in response to plant and host volatiles. **European Journal of Entomology**, Branisovska, v. 90, n. 4, p. 415-421, 1993.

GULLAN, P. J.; CRANSTON, P. S. **Os insetos: um resumo de entomologia**. 3. ed. São Paulo: Roca, 2008.

HAN, B. Y.; CHEN, Z. M. Behavioral and electrophysiological responses of natural enemies to synomones from tea shoots and kairomones from tea aphids, *Toxoptera aurantii*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 28, n. 11, p. 2.203-2.219, Nov. 2002.

HARE, J. D. Ecological role of volatiles produced by plants in response to damage by herbivorous insects. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 56, p. 161-18, 2011.

HEIL, M. Indirect defence via tritrophic interactions. **New Phytologist**, London, v. 178, n. 1, p. 41-61, 2008.

HOBALLAH, M. E. F.; TURLINGS, T. C. J. Experimental evidence that plants under caterpillar attack may benefit from attracting parasitoids. **Evolutionary Ecology Research**, v. 3, n. 5, p. 553-565, 1999.

HOWE, G. A.; JANDER, G. Plant immunity to insect herbivores. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 59, p. 41-66, 2008.

INBAR, M. et al. The role of plant rapidly induced responses in asymmetric interspecific interactions among insect herbivores. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 25, n. 8, p. 1.961-1.979, 1999.

KARBAN, R.; BALDWIN, I. T. **Induce responses to herbivory**. Chicago: University of Chicago Press, 1997.

KEMPEMA, L. A. et al. Arabidopsis transcriptome changes in response to phloem-feeding silverleaf whitefly nymphs. Similarities and distinctions in responses to aphids. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 143, n. 2, p. 849-865, Feb. 2007.

KESSLER, A.; BALDWIN, I. T. Plant responses to insect herbivory: the emerging molecular analysis. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 53, n. 1, p. 299-328, 2002.

KESSLER, A.; HALITSCHKE, R.; BALDWIN, I. T. Silencing the jasmonate cascade: induced plant defenses and insect populations. **Science**, New York, v. 305, n. 5.684, p. 665-668, July 2004.

KOORNNEEF, A. et al. Kinetics of salicylate-mediated suppression of jasmonate signaling reveal a role for redox modulation. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 147, n. 3, p. 1.358-1.368, July 2008.

KOST, C.; HEIL, M. Increased availability of extrafloral nectar reduces herbivory in Lima bean plants (*Phaseolus lunatus*, Fabaceae). **Basic and Applied Ecology**, Jena, v. 6, n.3, p. 237-248, 2005.

LEITNER, M.; BOLAND, W.; MITHÖFER, A. Direct and indirect defences induced by piercing-sucking and chewing herbivores in *Medicago truncatula*. **New Phytologist**, London, v. 167, n. 2, p. 597-606, Aug. 2005.

MAU, R. F. L.; KESSING, J. L. M. *Plutella xylostella* (Linnaeus). Apr. 2007. Disponível em: <<http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/Type/plutella.htm>>. Acesso em: 12 dez. 2012.

MOAYERI, H. R. S. et al. Olfactory response of a predatory mirid to herbivore induced plant volatiles: Multiple herbivory vs. single herbivory. **Journal Applied of Entomology**, Berlin, v. 131, n. 5, p. 326-332, June 2007.

MONNERAT, R. G. **Interrelations entre la teigne des cruciferes *Plutella xylostella* (Lep.: Yponomeitidae), son parasitoide *Diadegma* sp. (Hym.: Ichneumonidae) et la bacterie entomopathogene *Bacillus thuringiensis* Berliner., ENSA-M.** 1995. 168 p. Thesis (Doctoral degree in Agronomy) - Ecole Nationale Superieure Agronomique de Montpellier, Montpellier, 1995.

MORAN, P. J.; THOMPSON, G. A. Molecular responses to aphid feeding in Arabidopsis in relation to plant defense pathways. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 125, n. 2, p. 1.074-1.085, Feb. 2001.

MUMM, R.; DICKE, M. Variation in natural plant products and the attraction of bodyguards involved in indirect plant defense The present review is one in the special series of reviews on animal-plant interactions. **Canadian Journal of Zoology**, Ottawa, v. 88, n. 7, p. 628-667, 2010.

O'DOWD, D. J.; WILSON, M. F. Leaf domatia and mites on Australian plants: ecological and evolutionary implications. **Biological Journal of the Linnean Society**, London, v. 37, n. 3, p. 191- 236, July 1989.

PARÉ, P. W.; TUMLINSON J. H. Plant volatiles as a defense against insect herbivores. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 121, n. 2, p. 325-331, Oct. 1999.

PAREJA, M. A. et al. Multivariate statistics coupled to generalized linear models reveal complex use of chemical cues by a parasitoid. **Animal Behaviour**, London, v. 77, n. 4, p. 901-909, 2009.

PAREJA, M. et al. Response of the aphid parasitoid *Aphidius funebris* to volatiles from undamaged and aphid-infested *Centaurea nigra*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 33, n. 4, p. 695-710, Apr. 2007.

PICHERSKY, E.; NOEL, J. P.; DUDAREVA, N. Biosynthesis of plant volatiles: nature's diversity and ingenuity. **Science**, London, v. 311, n. 5762, p. 808-811, Feb. 2006.

PRICE, P. W. et al. Interactions among three trophic levels: influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 11, p. 41-65, Nov. 1980.

RODRIGUEZ-SAONA, C. et al. Molecular, biochemical, and organismal analyses of tomato plants simultaneously attacked by herbivores from two feeding guilds. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 36, n. 10, p. 1.043-1.057, Oct. 2010.

RODRIGUEZ-SAONA, C.; CRAFTS-BRANDNER, S. J.; CANÃS, L. A. Volatile emissions triggered by multiple herbivore damage: beet armyworm and whitefly feeding on cotton plants. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 29, n. 11, p. 2.521-2.532, Nov. 2003.

SALAMANCA, J. B. **Influencia da Interaço Roseira Coentro (*Coriandrum sativum*)- Pulgo (*Macrosiphum euphorbiae*) (Aphididae) no comportamento de *Chrysoperla externa* (Chrysopidae)**. 2013. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

SCHNEE, C. et al. The products of a single maize sesquiterpene synthase form a volatile defense signal that attracts natural enemies of maize herbivores. **Proceedings of the National Academy Sciences**, v. 103, n. 4, p. 1.129-1.134, Jan. 2006.

SCHOONHOVEN, L. M.; VAN LOON, J. J. A.; DICKE, M. **Insect: plant biology**. 2nd ed. Oxford: Oxford University Press, 2005.

SCHULTZ, T. R.; McGLYNN, T. P. The interactions of ants with other organisms. In: AGOSTI, D. et al. (Ed.). **Ants**: standard methods for measuring and monitoring biodiversity. Washington: Smithsonian Institution Press, 2000. p. 35-44.

SHIOJIRI, K. et al. Infochemically mediated tritrophic interaction webs on cabbage plants. **Population Ecology**, Tokyo, v. 43, n. 1, p. 23-29, May 2001.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R**: a language and environment for statistical computing. Vienna. 2006. Software. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>. Acesso em: 12 dec. 2012.

SOLER, R. et al. Plant-mediated facilitation between a leaf-feeding and a phloem-feeding insect in a brassicaceous plant: from insect performance to gene transcription. **Functional Ecology**, Oxford, v. 26, n. 1, p. 156-166, Feb. 2012.

STEIDLE, J. L. M.; VAN LOON, J. J. A. Dietary specialization and infochemical use in carnivorous arthropods: testing a concept. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 108, n. 3, p. 133-148, Sept. 2003.

STOUT, M. J. et al. Specificity of induced resistance in the tomato, *Lycopersicon esculentum*. **Oecologia**, Berlin, v. 113, n. 1, p. 74-81, 1998.

STRAUSS, S. Y. Direct, indirect, and cumulative effects of three native herbivores on a shared host plant. **Ecology**, Durham, v. 72, n. 2, p. 543-558, Apr. 1991.

TALEKAR, N. S.; SHELTON, A. M. Biology, ecology and management of the diamondback moth. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 38, n. 1, p. 275- 301, 1993.

TATEMOTO, S.; SHIMODA, T. Olfactory Responses of the Predatory Mites (*Neoseiulus cucumeris*) and Insects (*Orius strigicollis*) to Two Different Plant

Species Infested with Onion Thrips (*Thrips tabaci*). **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 34, n. 5, p. 605-613, May 2008.

THALER, J. S. Jasmonate-inducible plant defenses cause increased parasitism of herbivores. **Nature**, London, v. 399, n. 6.737, p. 686-688, June 1999.

THALER, J. S.; HUMPHREY, P. T.; WHITEMAN, N. K. Evolution of jasmonate and salicylate signal crosstalk. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 17, n. 5, p. 260-270, May 2012.

THOMMA, B. P. et al. The complexity of disease signaling in Arabidopsis. **Current Opinion in Immunology**, Philadelphia, v. 13, n. 1, p. 63-68, Feb. 2001.

THULER, R. T. **Efeito da bacterização de cultivares de repolho com isolados endofíticos e epifíticos no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutelidae)**. 2003. 74 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2003.

TURLINGS, T. C. J.; TUMLINSON, J. H. Do parasitoids use herbivore-induced plant chemical defenses to locate host? **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 74, n. 1, p. 42-50, Mar. 1991.

TURLINGS, T. C. J.; TUMLINSON, J. H. Systemic release of chemical signals by herbivore-injured corn. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Allahabad, v. 89, n. 17, p. 8.399-8.402, 1992.

TURLINGS, T. C. J.; TUMLINSON, J. H.; LEWIS, W. J. Exploitation of herbivore-induced plant odors by host-seeking parasitic wasps. **Science**, London, v. 250, n. 4.985, p. 1.251-1.253, Nov. 1990.

VAN LOON, J. J. A.; de BOER, J. G.; DICKE, M. Parasitoid-plant mutualism:

parasitoid attack of herbivore increases plant reproduction. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 97, n. 2, p. 219-227, Nov. 2000.

VET, L. E. M.; DICKE, M. Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 37, n. 1, p. 141-172, Jan. 1992.

Von DAHL, C. C.; BALDWIN, I. T. Deciphering the role of ethylene in plant-herbivore interactions. **Journal Plant Growth Regulation**, New York, v. 26, n. 2, p. 201-209, 2007.

VOS, M.; JANDER, G. Volatile communication in plant-aphid interactions. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 13, n. 4, p. 366-371, Aug. 2010.

VOS, M. et al. Plant-mediated indirect effects and the persistence of parasitoid-herbivore communities. **Ecology Letter**, [s.l.], v. 4, n. 1, p. 38-45, Jan. 2001.

VOS, M. et al. Signal signature and transcriptome changes of Arabidopsis during pathogen and insect attack. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 18, n. 9, p. 923-937, Sept. 2005.

WALLING, L. L. The myriad plant responses to herbivores. **Journal Plant Growth Regulation**, New York, v. 19, n. 2, p. 195-216, 2000.

WALKER, G. P.; MacDONALD, F. H.; WALLACE, A. R. Recent developments in management of diamondback moth in New Zealand. In: International workshop on management of the diamondback moth and other crucifer insect pests, 6., 2011, Taiwan. **Proceedings...** Taiwan: AVRDC – The World Vegetable Center, Taiwan. 2011. p. 234-240.

WATERHOUSE, D. F. *Plutella xylostella* (Linnaeus) Lepidoptera: Plutellidae, diamondback cabbage moth. In: WATERHOUSE, D. F.; NORRIS, K. B. (Ed.). **Biologica control**: pacific prospects. Maelbourne: Inkata Press, 1987. p. 177-191.

WEI, J. N. et al. Ecological trade-offs between jasmonic acid-dependent direct and indirect plant defences in tritrophic interactions. **New Phytologist**, London, v. 189, n. 2, p. 557-567, Jan. 2011.

ZARATE, S. I.; KEMPEMA, L. A.; WALLING, L. L. Silverleaf whitefly induces salicylic acid defenses and suppresses effectual jasmonic acid defenses. *Plant Physiology*, Lancaster, v. 143, n. 2, p. 866-875, Feb. 2007.

ZHANG, P. J. et al. Jasmonate and ethylene signaling mediate whitefly-induced interference with indirect plant defence in *Arabidopsis thaliana*. **New Phytologist**, London, v. 197, n. 4, p. 1.291-1.299, Mar. 2013.

ZHANG, P. J. et al. Whiteflies interfere with indirect plant defense against spider mites in lima bean. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 106, n. 50, p. 21.202-21.207, Dec. 2009.