



LARA SALES

**COMPARTILHANDO A PLANTA HOSPEDEIRA COM UM
ÁCARO FITÓFAGO: EFEITOS *BOTTOM-UP* E *TOP-DOWN*
BENEFICIAM A COCHONILHA-BRANCA *Planococcus minor***

**LAVRAS-MG
2019**

LARA SALES

**COMPARTILHANDO A PLANTA HOSPEDEIRA COM UM ÁCARO FITÓFAGO:
EFEITOS *BOTTOM-UP* E *TOP-DOWN* BENEFICIAM A COCHONILHA-BRANCA**

Planococcus minor

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

Prof (a): Dr (a). Maria Fernanda Gomes Villalba Peñaflor
Orientadora

Dr (a). Lenira Viana Costa Santa-Cecília
Coorientadora

**LAVRAS-MG
2019**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Sales, Lara.

Compartilhando a planta hospedeira com um ácaro fitófago: efeitos *bottom-up* e *top-down* beneficiam a cochonilha-branca *Planococcus minor* / Lara Sales. - 2019.

52 p. : il.

Orientador(a): Maria Fernanda Gomes Villalba Peñafior.

Coorientador(a): Lenira Viana Costa Santa-Cecília.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2019.

Bibliografia.

1. *Cryptolaemus montrouzieri*. 2. Olfatometria. 3. Interações tritróficas. I. Peñafior, Maria Fernanda Gomes Villalba. II. Santa-Cecília, Lenira Viana Costa. III. Título.

LARA SALES

**COMPARTILHANDO A PLANTA HOSPEDEIRA COM UM ÁCARO FITÓFAGO:
EFEITOS *BOTTOM-UP* E *TOP-DOWN* BENEFICIAM A COCHONILHA-BRANCA
*Planococcus minor***

**SHARING A HOST PLANT WITH A PHYTOPHAGOUS MITE: BOTTOM-UP AND
TOP-DOWN EFFECTS BENEFIT THE PASSIONVINE MEALYBUG *Planococcus minor***

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

APROVADA em 18 de fevereiro de 2019.

Dr (a). Maria Fernanda Gomes Villalba Peñaflor UFLA

Dr. Ernesto Prado Cordero

Dr (a). Bárbara Joana dos Reis Fatobene EPAMIG

Prof^ª: Dr (a). Maria Fernanda Gomes Villalba Peñaflor
Orientadora

Dr (a). Lenira Viana Costa Santa-Cecília
Coorientadora

**LAVRAS-MG
2019**

À Deus, minha eterna gratidão, pois sem Ele, nada seria possível. “Louvai ao Senhor, porque é bom; pois a sua benignidade dura perpetuamente” 1 Cr 16:34

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ser misericordioso e ter me sustentado, dando saúde e força, e permitindo que tudo isso acontecesse na minha vida.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Entomologia (DEN), pela oportunidade e por contribuir em mais uma etapa da minha vida.

A Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pela concessão da bolsa de estudos.

A Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), pelo fornecimento das sementes de café.

A Prof (a). Dr (a). Maria Fernanda G. V. Peñaflor, pela orientação, amizade, motivação e por todo ensinamento e paciência.

A Dr (a). Lenira V. C. Santa-Cecília, por sua disposição, amizade e por ter sido essencial no meu crescimento acadêmico e profissional.

Ao pesquisador Dr. Ernesto Prado Cordero pelo auxílio na identificação dos insetos.

Aos meus amigos do LEQIIP e do departamento, pela amizade e cumplicidade. Obrigada por todas risadas, ensinamentos, apoio e palavras nas horas do desânimo e cansaço.

Às técnicas do Departamento de Entomologia, Andréa e Elaine, e aos técnicos, Bruno e Raul, por toda ajuda oferecida.

Aos meus pais e toda minha família, a minha eterna gratidão por me apoiarem incondicionalmente e por investirem no meu futuro. Obrigada por todo apoio, orações e contribuições, serei sempre grata a todos.

Ao Felipe, pela força, coragem, carinho e companheirismo.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram com a minha formação.

RESUMO

As plantas se defendem do ataque dos herbívoros de várias maneiras, sendo uma delas através de substâncias químicas, que afetam diretamente os artrópodes herbívoros, ou indiretamente, por meio do recrutamento de inimigos naturais. A herbivoria múltipla, apesar de pouco estudada, merece grande importância, visto que a resposta induzida da planta geralmente difere da herbivoria simples, resultando em mudanças na interação tritrófica. Além do contexto ecológico, é relevante estudar a herbivoria múltipla sob o contexto aplicado devido às implicações para a atração de inimigos naturais e a perspectiva de desenvolver estratégias de manejo integrado de pragas. O cafeeiro *Coffea arabica* L. (Rubiaceae) é uma das culturas mais importantes para a economia do país, cuja produção é limitada pelo ataque de diversas pragas, dentre elas as cochonilhas-farinhas e o ácaro-vermelho-do-cafeeiro. Devido à carência de informações sobre a herbivoria múltipla no sistema cafeeiro, o objetivo deste estudo foi avaliar se a infestação prévia pelo ácaro-vermelho-do-cafeeiro *Oligonychus ilicis* (McGregor) (Acari: Tetranychidae) em plantas de café influencia a colonização e estabelecimento da cochonilha-branca *Planococcus minor* (Maskell) (Hemiptera: Pseudococcidae); e se a herbivoria múltipla pelas duas espécies influencia na resposta comportamental da joaninha predadora de cochonilhas, *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae), pelos voláteis induzidos pela herbivoria. Foram conduzidos testes com chance de escolha, em uma arena, com ninfas de 3º instar da cochonilha para avaliar a preferência hospedeira entre planta infestada pelo ácaro e não infestada, após 24, 48 e 72 h. Para o desempenho de *P. minor*, foram colocadas 50 ninfas de 1º instar em planta de cafeeiro infestada pelo ácaro e planta não infestada e, após 15 dias, os números de ninfas e adultos foram contabilizados. A preferência olfativa das joaninhas sob estímulo de voláteis de plantas de cafeeiro não infestada e infestadas por uma ou duas das espécies de herbívoro foi avaliada usando olfatômetro em Y. As cochonilhas preferiram e tiveram maior desenvolvimento em planta infestada pelo ácaro como hospedeira frente à planta não infestada, indicando ser um hospedeiro de melhor qualidade. Os ensaios de olfatosmetria mostraram que a joaninha teve preferência pelos voláteis da planta infestada com a sua presa, *P. minor*, mas não foi atraída pelos voláteis da planta infestada pelo ácaro, que não constitui uma presa. Já a planta infestada por cochonilha + ácaro emitiu uma mistura de voláteis repelentes para as joaninhas, que preferiram o ar limpo frente às plantas sob infestação múltipla. Dessa forma, a infestação prévia pelo ácaro torna a planta um hospedeiro de melhor qualidade para a cochonilha do que plantas não infestadas, propiciando a herbivoria múltipla. Além disso, a escolha por plantas de cafeeiro já colonizadas pelo ácaro *O. ilicis* deve favorecer a cochonilha-branca devido à emissão de voláteis que repelem a joaninha, constituindo em uma estratégia para escape da predação. Futuros estudos devem focar nos mecanismos manipulativos das defesas da planta de café pela herbivoria do ácaro por meio da mensuração de fitohormônios, expressão gênica e caracterização química do perfil de voláteis das plantas sob herbivoria simples e múltipla.

Palavras-chave: *Cryptolaemus montrouzieri*. Olfatosmetria. Interações tritróficas. Defesas induzidas.

ABSTRACT

Plants are able to defend themselves from herbivore attack in several ways, one of which is through chemical substances that can affect herbivore arthropods directly, or indirectly by recruiting natural enemies. Although it has been poorly studied, herbivory by multiple herbivore species deserves more attention, as induced response of plants upon multiple herbivory generally differs from those upon simple herbivory, in ways that can impact tritrophic interaction. In addition to the ecological context, studying multiple herbivory at the applied perspective is necessary because of the implications for the attraction of natural enemies and the perspective of developing integrated pest management strategies. The coffee *Coffea arabica* L. (Rubiaceae) is one of the most important crops for the country's economy, whose production is limited by the attack of several pests, among them the passionvine mealybug and the southern red mite. Considering the lack of information on multiple herbivory in the coffee system, the aim of this study was to evaluate whether previous infestation with *Oligonychus ilicis* (McGregor) (Acari: Tetranychidae) in coffee plants influences colonization and establishment of *Planococcus minor* (Maskell) (Hemiptera: Pseudococcidae); and, whether multiple herbivory by the two pests influences the behavioral response of the predatory ladybug, *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) to the herbivore-induced plant volatiles. In order to evaluate host preference between mite-infested plant and uninfested plant, choice tests were conducted in an arena using 3rd-instar mealybug nymphs at 24, 48 and 72 h. In order to evaluate *P. minor* performance, 50 1st-instar nymphs were transferred to a plant (mite-infested or uninfested) and, after 15 days, numbers of nymphs and adults were counted. Ladybug olfactory preference to volatiles emitted from uninfested and infested coffee plants with one or two of the herbivores were evaluated using a Y-tube olfactometer. Data showed that the mealybugs preferred mite-infested plants as a host over uninfested plant. Population growth of *P. minor* was higher in mite-infested plant than uninfested plant, indicating to be a better host. Olfactometer assays showed that the ladybug preferred volatiles emitted by plants infested with its prey, *P. minor*, but it was not attracted to volatiles mite-infested plants. Plants infested with both mealybug and mite emitted repellent volatiles to the ladybug that preferred clean air over the mealybug + mite-infested plants. Thus, previous infestation with mites induce changes in coffee plants that comprise in better hosts to passionvine mealybug than uninfested plants, favoring multiple herbivory. In addition, the mealybug choice for mite-infested plants should also favor the mealybug because of the emission of volatiles that repel the ladybird, being a strategy to escape predation. Future studies should focus on the manipulative mechanisms of coffee plant defenses by mite herbivory, phytohormone quantification, gene expression and chemical characterization of volatile profiles emitted by coffee plants upon simple and multiple herbivory.

Keywords: *Cryptolaemus montrouzieri*. Olfatometry. Tritrophic interactions. Induced defenses.

SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE	8
1	INTRODUÇÃO	10
1.1	Defesas de plantas mediadas por substâncias químicas.....	10
1.2	Herbivoria simples e múltipla nas interações tritróficas.....	12
1.3	A cultura do cafeeiro <i>C. arabica</i>	14
1.4	Cochonilha-branca (<i>P. minor</i>)	15
1.5	Ácaro-vermelho-do-cafeeiro (<i>O. ilicis</i>)	16
1.6	O predador <i>C. montrouzieri</i>	17
	REFERÊNCIAS	19
	SEGUNDA PARTE	28
2	ARTIGO.....	28
2.1	Introdução	30
2.2	Material e métodos.....	32
2.3	Resultados	38
2.4	Discussão	39
	REFERÊNCIAS.....	43
	FIGURAS.....	48
	APÊNDICE	52

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

Várias plantas quando atacadas por apenas uma espécie de herbívoros, emitem substâncias químicas específicas para favorecer os predadores e parasitoides encontrarem sua presa. Entretanto, em casos de ataques de múltiplos herbívoros, há mistura e mudança na composição desses voláteis, confundindo o predador e/ou parasitoide de localizarem sua presa, ou seja, o herbívoro passa despercebido por seu inimigo natural (SHIOJIRI et al., 2001). Nesse contexto, há grande importância estudos sobre o efeito da herbivoria múltipla em sistemas agrícolas, devido ao fato deste ser o cenário comum encontrado nestes ambientes.

Dentre as diversas culturas brasileiras, se destaca o cafeeiro *Coffea arabica* L. (Rubiaceae), por constituir a maior produção e exportação mundial (CONAB, 2018). No entanto, este é acometido por diversas pragas, das quais podemos citar a cochonilha-branca *Planococcus minor* (Maskell) (Hemiptera: Pseudococcidae) e o ácaro-vermelho-do-cafeeiro *Oligonychus ilicis* (McGregor) (Acari: Tetranychidae) (REIS et al., 2010), cujos ataques causam prejuízos aos produtores. O método ainda mais utilizado no controle dessas pragas é por meio do uso de produtos fitossanitários, porém, o controle biológico tem se tornado uma tática eficaz para o controle desses artrópodes.

À vista disso, este trabalho teve como objetivo avaliar a escolha hospedeira e o desenvolvimento da cochonilha-branca *P. minor* em plantas de cafeeiro *C. arabica* cv. Mundo Novo, infestada e não infestada pelo ácaro *O. ilicis*, e o efeito dos voláteis do cafeeiro, sob herbivoria simples e múltipla na atratividade do inimigo natural da cochonilha, *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae). Desta forma, os resultados obtidos poderão fornecer informações não só para a literatura, como também para o avanço de técnicas de manejo sustentáveis.

1.1 Defesas de plantas mediadas por substâncias químicas

As plantas deslocam parte de sua energia para seu crescimento, desenvolvimento e reprodução e parte para usarem na sua defesa contra os constantes estresses ambientais, dentre eles, os causados pela herbivoria (GATEHOUSE, 2002; LUCAS-BARBOSA; VAN LOON; DICKE, 2011). Como são organismos sésseis, elas respondem a esses ataques através de vários mecanismos morfológicos, bioquímicos e moleculares (DICKE, 2009; DICKE;

SABELIS; TAKABAYASHI, 1990; WAR et al., 2012). Dentre eles, a proteção química desempenha um papel decisivo na resistência das plantas contra patógenos e herbívoros, pois é um sistema amplo, altamente dinâmicos e pode ocorrer de maneira constitutivas e/ou induzidas, agindo de forma direta ou indireta sobre os herbívoros (ALMEIDA-CORTEZ, 2005; BEZEMER; VAN DAM, 2005).

As defesas constitutivas da planta estão sempre presentes nos tecidos, agindo de forma contínua (AGRAWAL; KARBAN, 1999; ARIMURA; KOST; BOLAND, 2005; SCHOONHOVEN; VAN LOON; DICKE, 2005), podendo ser encontrada de diversas formas, como por exemplo, a presença de pêlos, espinhos, tricomas e cutículas espessas (SOARES; MACHADO, 2007) e até mesmo através de processos metabólitos secundários que são produzidos pelas plantas (SCHOONHOVEN; VAN LOON; DICKE, 2005). Já as defesas induzidas, são sintetizadas apenas após sofrerem algum estresse (KARBAN; BALDWIN, 1997). Essas defesas são classificadas como diretas quando compostos não voláteis ou voláteis afetam diretamente o comportamento ou fisiologia dos herbívoros (DUDAREVA et al., 2006; DUDAREVA et al., 2013; PARÉ; TUMLINSON, 1999); ou indiretas, quando afetam os herbívoros por meio dos seus inimigos naturais, que são recrutados, principalmente, pela emissão de voláteis de plantas induzidos pela herbivoria (ou *herbivore-induced plant volatiles*, HIPVs) (DICKE; VAN LOON, 2000; FATOUROS et al., 2005; HEIL, 2008; PRICE et al., 1980; TURLINGS; TUMLINSON, 1992). Porém, a simples injúria mecânica das folhas leva ao rompimento de células, liberando assim voláteis, os quais não são necessariamente indicadores específicos da presença de herbívoros nas plantas.

Os HIPVs podem mediar interações entre planta-planta, planta-inimigo natural e planta-microorganismo, representando um novo enfoque de interações entre os diferentes níveis tróficos (WAR et al., 2012). Essa mistura de compostos são liberadas de folhas, flores e frutos na atmosfera ou no solo em resposta ao ataque dos herbívoros (WAR et al., 2012), podendo variar seu perfil de acordo com as espécies, estágios de desenvolvimento e condições das plantas e herbívoros (ARIMURA; MATSUI; TAKABAYASHI, 2009). As funções ecológicas dos HIPVs são completamente dependentes do receptor, podendo ser adaptativamente favorável a ambos (planta e inimigo natural), quando os HIPVs são usados como pistas de busca por inimigos naturais que diminuem os danos causados por herbívoros removendo-os das plantas, ou favoráveis aos herbívoros, mas não a plantas infestadas, quando os mesmos HIPVs são usados por outras espécies herbívoras para encontrar seu hospedeiro (ARIMURA; MATSUI; TAKABAYASHI, 2009; DE MORAES et al., 1998).

1.2 Herbivoria simples e múltipla nas interações tritróficas

Na natureza, as plantas geralmente são hospedeiras de mais de uma espécie de herbívoro, podendo ser atacadas por vários micros e/ou macroorganismos ao mesmo tempo (VAN DER PUTTEN et al., 2001). Há diversos relatos na literatura sobre a atração de inimigos naturais das pragas por voláteis de plantas induzidos pela herbivoria (CUSUMANO et al., 2015; GOSSNER et al., 2014; MCCORMICK et al., 2014; MCCORMICK; UNSICKER; GERSHENZON, 2012; MUMM; DICKE, 2010; VET; DICKE, 1992; VOS et al., 2001), porém, a maioria dos estudos trata de sistemas com apenas uma espécie de praga e um inimigo natural, não considerando a realidade do campo.

As plantas podem apresentar mais de mil compostos voláteis (DUDAREVA et al., 2006; PICHERSKY; NOEL; DUDAREVA, 2006), sendo que estes números podem sofrer alterações quando as plantas sofrem algum tipo de dano (FARMER, 2001; TURLINGS et al., 1995). Apesar da mistura e variação na composição de voláteis, os inimigos naturais, na maioria das vezes, conseguem reconhecer sua presa através de um odor específico (DE MORAES et al., 1998), o que pode ocorrer de maneira instintiva ou após a experiência e aprendizado do predador ou parasitoide (STEIDLE; VAN LOON, 2003; VET; DICKE, 1992). Nos casos de interações envolvendo os três níveis tróficos, os predadores são capazes de diferenciar, através de compostos orgânicos voláteis (COVs) emitidos pelas plantas, as plantas danificadas ou não danificadas, infestadas por diferentes espécies de herbívoros ou mesmo diferentes espécies de plantas infestadas pelo mesmo herbívoro (PRICE et al., 1980).

Os voláteis emitidos pelas plantas são essenciais para muitos herbívoros para orientação e preferência por uma determinada planta (BRUCE; PICKETT, 2011). A seleção de um hospedeiro envolve a escolha correta da planta que seja viável à alimentação, sobrevivência e desenvolvimento dos artrópodes (BERNAYS; CHAPMAN, 1994; SLANSKY; RODRIGUEZ, 1987), assim como da proporção de ocupação por outros insetos ou da sua atratividade por inimigos naturais (BERNAYS, 2001; POELMAN; VAN LOON; DICKE, 2008; PRICE et al., 1980).

Os artrópodes que são atraídos pelos HIPVs podem obter vantagens nas plantas previamente atacadas quando, por exemplo, o herbívoro colonizador manipula as defesas da planta favorecendo a alimentação e desenvolvimento da segunda espécie (HEARD, 2000; POWELL; TOSH; HARDIE, 2006; SARMENTO et al., 2008; YONEYA; KUGIMIYA; TAKABAYASHI, 2009). Os herbívoros podem utilizar estratégias que manipule tanto a planta, quanto a atração de inimigos naturais. Ao se beneficiar da planta hospedeira, os

artrópodes sofrem o efeito *bottom-up*, que ocorre de baixo para cima, visto que a tentativa da planta em se defender acaba favorecendo seu herbívoro. Do mesmo modo, ao se beneficiar devido a repelência do inimigo natural, os herbívoros sofrem o efeito *top-down*, que ocorre de cima para baixo (WIMP; WHITHAM, 2001; BARONIO; PIRE; AOKI, 2012).

Os herbívoros, ao atacarem a planta, fazem com que ela responda induzindo três fitohormônios principais, o ácido jasmônico (AJ), ácido salicílico (AS) e etileno (ET). A ativação das rotas reguladas por esses hormônios é diferente dependendo do hábito alimentar do herbívoro. Por exemplo, um herbívoro mastigador ativa, predominantemente, a rota de defesa do AJ, ao passo que um sugador ativa a rota de defesa do AS (MORAN; THOMPSON, 2001). Em muitas plantas, as rotas do AJ e AS interagem de forma antagônica de modo que a elevação dos níveis de AS promovem supressão da rota do AJ, e vice-versa (DICKE; VAN LOON; SOLER, 2009). Assim, no contexto da herbivoria múltipla, é esperado que plantas danificadas por um inseto sugador e mastigador emitam voláteis menos atraente para os inimigos naturais do herbívoro mastigador, em relação à emissão de plantas infestadas somente pelo mastigador, devido à supressão da rota do AJ (ZHANG et al., 2009, 2013).

O fato dos herbívoros comumente possuírem diferentes hábitos alimentares, faz com que os perfis químicos dos voláteis emitidos pelas plantas nessas condições sejam alterados, podendo impactar a resposta que os inimigos naturais apresentariam em uma condição de herbivoria realizada por uma única espécie (RIJK; DICKE; POELMAN, 2013). Isso pode ser visto no estudo de Zhang et al. (2009), no qual observaram que a infestação por *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) suprime a síntese de AJ induzida pelo ácaro herbívoro *Tetranychus urticae* (Koch) (Acari: Tetranychidae), implicando na redução da atração do ácaro predador *Phytoseiulus persimilis* (Athias-Henriot) (Acari: Phytoseiidae). Dessa forma, a herbivoria múltipla pode aumentar (MOYAERI et al., 2007; SHIOJIRI et al., 2001), reduzir (SHIOJIRI et al., 2001; ZHANG et al., 2009) ou não alterar (ERB; FORESTI; TURLINGS, 2010) a atratividade da planta ao inimigo natural se comparada à uma planta atacada por apenas um herbívoro. Alguns inimigos naturais podem ser mais atraídos aos voláteis produzidos por mais de uma espécie de herbívoro (DE BOER et al., 2008) e outros terem maior preferência por voláteis liberados por uma única espécie (SHIOJIRI et al., 2001). Vale salientar que ainda não foi possível estabelecer um padrão sobre o efeito da herbivoria múltipla na atratividade dos voláteis da planta para os inimigos naturais, já que pode exercer um efeito variável em relação à herbivoria simples (PAREJA; PINTO-ZEVALLOS, 2016).

1.3 A cultura do cafeeiro *C. arabica*

O cafeeiro é um arbusto da família Rubiaceae e do gênero *Coffea*. No Brasil, ele se encontra em áreas com latitudes maiores que quatro graus, em condições tropicais (CAMARGO, 1985). Seu ciclo fenológico é bem preciso, sendo que o florescimento acontece na primavera, a frutificação no verão, maturação no outono e a colheita ocorre no inverno. A espécie *C. arabica*, por exemplo, apresenta uma sequência de fases vegetativas e reprodutivas, levando dois anos para completar seu ciclo fenológico (CAMARGO; CAMARGO, 2001). No primeiro ano, é formado seus ramos vegetativos, com gemas axilares nos nós. Já em janeiro, quando os dias ficam mais curtos, as gemas vegetativas axilares são transformadas em gemas reprodutivas (GOUVEIA, 1984).

Essa cultura é considerada uma das mais importantes para o Brasil, visto que o país é o maior produtor e exportador de café e o segundo maior consumidor do produto, sendo seu volume similar à soma dos outros seis maiores países produtores. A estimativa é alcançar uma produção de cerca de 59,9 milhões de sacas com a safra brasileira de 2018, ou seja, um crescimento de 33% comparado ao ano anterior. Dentre esses números, Minas Gerais concentra a maior produção de café, sendo responsável por mais de 50% da safra nacional, seguido do Espírito Santo e São Paulo (CONAB, 2018).

Apesar da importância econômica do café no Brasil, este é acometido por inúmeros fatores que podem ocasionar prejuízos ao produtor, sendo um dos problemas a suscetibilidade a diferentes pragas (RENA et al., 1986). Dentre os diversos agentes fitossanitários, pode-se destacar a broca-do-cafeeiro *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytinae), o bicho-mineiro *Leucoptera coffeella* (Guér-Mènev) (Lepidoptera: Lyonetiidae), os ácaros (Acari), as cigarras (Hemiptera: Cicadidae) e as cochonilhas-farinentas (Hemiptera: Pseudococcidae) (REIS et al., 2010). Devido à redução da produtividade e qualidade do café ocasionado por esses artrópodes e a atual demanda por uma menor dependência de produtos fitossanitários, pesquisas têm focado no desenvolvimento de táticas de manejo alternativas e mais sustentáveis na agricultura.

Os voláteis do cafeeiro têm sido objeto de pesquisas no contexto de busca por compostos funcionais, principalmente aqueles associados à qualidade do café (AMSTALDEN; LEITE; MENEZES, 2001; SHIMODA; SHIBAMOTO, 1990). Por outro lado, há poucos trabalhos que mostram o papel dos voláteis da planta de café no recrutamento de pragas e seus inimigos naturais. Por exemplo, sabe-se que os voláteis do cafeeiro têm influência sobre o comportamento do bicho-mineiro-do-cafeeiro (FONSECA et al., 2013), da

broca-do-cafeeiro (SILVA, 2009), do ácaro-vermelho-do-cafeeiro (TOLEDO, 2015) e das cochonilhas *Planococcus* spp. (SANTA-CECÍLIA et al., 2018), porém ainda há necessidade de mais estudos, principalmente envolvendo a herbivoria múltipla dessas pragas e seus inimigos naturais em vista do grande interesse que a cafeicultura orgânica tem exercido (GIOMO; PEREIRA; BLISKA, 2007).

1.4 Cochonilha-branca (*P. minor*)

As cochonilhas são insetos sugadores que se alimentam do floema da planta, tanto da parte aérea quanto radicular, e no cafeeiro podem ser encontradas quinze espécies, sendo que destas, oito são frequentes nas raízes e sete na parte aérea (SANTA-CECÍLIA; SOUZA, 2014). Dentre este complexo, se destaca a *P. minor*, também conhecidas como “cochonilhas-das-rosetas” ou “cochonilhas-brancas”, por possuírem o tegumento mole recoberto por uma secreção branca finamente granulada, atribuindo o aspecto de terem sido envolvidas em farinha (SANTA-CECÍLIA et al., 2007; SANTA-CECÍLIA; PRADO, 2008).

As cochonilhas *P. minor* vivem em colônias compostas por indivíduos em vários estágios de desenvolvimento (ovos, ninfas e adultos). O período embrionário desses insetos dura em torno de 3,5 dias. Os machos possuem dois ínstars e as fêmeas três, sendo que estes possuem duração similar, em média 8 dias cada ínstar, à $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, 70 ± 10 de UR e em escotofase total (CORREA et al., 2011; COSTA et al., 2016; FRANCIS; KAIRO; RODA, 2012). As fêmeas vivem em torno de 30 dias e podem colocar em média 220 ovos durante seu ciclo de vida (SANTA-CECÍLIA et al., 2007).

Surtos das cochonilhas do gênero *Planococcus* em cafeeiro são os mais relevantes por serem imprevisíveis, causando o secamento das rosetas e queda dos frutos (SANTA-CECÍLIA; SOUZA, 2014). Seu ataque ocorre em reboleiras, sendo que as ninfas podem se dispersar para plantas vizinhas através do vento ou de formigas que se alimentam da secreção açucarada (*honeydew*) excretada por elas (FORNAZIER et al., 2000; SANTA-CECÍLIA et al., 2007; VENNETE; DAVIS, 2004). Esses insetos agridem diversos sistemas, podendo atacar plantas silvestres ou cultivadas, tanto em campo como em cultivos protegidos (CLAPS; TERÁN, 2001; SANTA-CECÍLIA; SOUZA, 2005). Há ocorrência de danos significativos em plantas extremamente infestadas com esses insetos, ocasionando queda de até 100% de flores e frutos e/ou seca das rosetas (FORNAZIER; SANTA-CECÍLIA; MARTINS, 2009; SANTA-CECÍLIA; SOUZA, 2014).

No Brasil, essa cochonilha possui diversos hospedeiros, estando registrada para o cafeeiro (Rubiaceae), cacauieiro (Malvaceae), abacateiro (Lauraceae), bananeira (Musaceae), algodoeiro (Malvaceae), aboboreira (Cucurbitaceae), dentre outros (CULIK et al., 2011; WILLIAMS; GRANARA DE WILLINK, 1992). Apesar de polífago, esse pseudococcídeo pode apresentar preferência por determinado hospedeiro, como foi visto no trabalho de Santa-Cecília et al. (2018), em que esses insetos demonstraram maior preferência e atratividade por cafeeiro quando contrastado com outro odor.

O controle desse artrópode-praga pode ser realizado com produtos fitossanitários, e também com utilização de inimigos naturais que tem sido bastante promissora por ser menos agressivas ao meio ambiente e à saúde humana. Em algumas regiões, onde foram encontradas cochonilhas-brancas em Minas Gerais e no Espírito Santo, foram identificados larvas e adultos de coccinelídeos (Coleoptera: Coccinellidae) de vários gêneros, larvas de crisopídeos (Neuroptera: Chrysopidae) e microhimenópteros da família Encyrtidae (SANTA-CECÍLIA et al., 2007).

1.5 Ácaro-vermelho-do-cafeeiro (*O. ilicis*)

Outro artrópode praga de grande importância para o cafeeiro são os ácaros, destacando-se o ácaro-vermelho-do-cafeeiro *O. ilicis* (AMARAL, 1951; FRANCO et al., 2009), que foi relatado como a segunda praga de maior importância para o café Conillon no Estado do Espírito Santo (REIS et al., 2004). Tanto a forma jovem quanto a adulta do ácaro perfuram as células na parte superior das folhas e absorvem seu conteúdo celular, fazendo com que estas percam o brilho natural e tornem-se bronzeadas (DE MORAES; FLECHTMANN, 2008; FRANCO et al., 2010; REIS, 2005), reduzindo assim sua taxa fotossintética (POLANCZYK et al., 2011; REIS, 2005).

Um dos fatores ambientais mais importantes na população desses artrópodes é a temperatura (SILVA, 2002), sendo que ocorrem em maior quantidade nos períodos secos levando ao retardo da produção do cafeeiro (FRANCO et al., 2008; REIS et al., 2004). Há relatos em que a oscilação na temperatura pode tanto atrasar quanto adiantar o desenvolvimento dessa espécie (CALZA; SAUER, 1952).

O ácaro-vermelho-do-cafeeiro apresenta ovos com coloração vermelho escura e formato arredondado. As larvas possuem cor rósea e são hexápodes (3 pares de pernas). Já o estágio de ninfa apresenta quatro pares de pernas (octópodes), assim como os adultos. Os machos possuem tamanhos menores, pernas mais longas e são mais afinados que as fêmeas, que

possuem formato ovalado (MINEIRO; MORAES, 2001; REIS; ZACARIAS, 2007). Outro aspecto importante, é que esses tetraniquídeos produzem teia, onde ficam grudados fezes, detritos e o resto de suas exúvias, dando fisionomia de sujeira (REIS; ZACARIAS, 2007), apesar disso, essas teias são de grande importância para a espécie, pois tem função de protegê-los contra o ataque de predadores (McMURTRY; HUFFAKER; VAN DE VRIE, 1970).

Estudos da biologia de *O. ilicis* relatam que o período larval destes é em média 1,6 dias, já as ninfas, tanto as protoninfas (primeiro instar) como as deutoninfas (segundo instar) possuem duração média de 1,2 dias cada (REIS; ALVES; SOUZA, 1997). O ciclo total de ovo a fêmea é totalizado em 11,6 dias e para os machos 11,8 dias, sendo a longevidade de 24 e 23 dias, respectivamente (CALZA; SAUER, 1952).

Para o controle dessa praga, o método ainda mais usado é por meio de produtos fitossanitários. Porém, devido à localização desse artrópode na superfície foliar, chuvas intensas e constantes podem auxiliar no controle físico, reduzindo pequena parte da sua população (REIS; SOUZA; VENZON, 2002; REIS; ZACARIAS, 2007). Quanto ao controle biológico, já é comercializado e descrito a eficiência de diversas espécies de ácaros predadores da família Phytoseiidae no controle dessa praga (PALLINI FILHO; DE MORAES; BUENO, 1992).

1.6 O predador *C. montrouzieri*

Os Coccinélídeos (Coleoptera: Coccinellidae) são considerados um dos principais agentes de controle biológico de pragas (PARRA et al., 2002). Dentre eles, a joaninha *C. montrouzieri*, conhecida também como joaninha “superpredadora” e “destruidora” de cochonilhas, é uma das mais importantes, sendo um dos primeiros coccinélídeos utilizados no controle biológico, principalmente para o controle de cochonilhas-farinhentas (MANI; KRISHNAMOORTHY, 2008).

Devido ao fato de ser considerado o predador mais voraz, eficaz e especializado em cochonilhas, esse coleóptero de origem australiana foi introduzido em todo o mundo para o controle dessa praga (FISHER, 1963; KAIRO et al., 2013; REDDY et al., 2009; SANCHES et al., 2002), sendo criado em massa e comercializado em mais de 40 países (ROY; MIGEON, 2010). Apesar dessa joaninha ser usada principalmente para controle das cochonilhas, estudos tem relatado que ela também se alimenta de outros Hemiptera, como pulgões (Hemiptera: Aphididae) e moscas-brancas (Hemiptera: Aleyrodidae) (MALAIS; RAVENSBERG, 2002;

SANCHES; CARVALHO, 2010), porém não se sabe ao certo sobre seu potencial de desenvolvimento e de reprodução quando alimentadas com essas presas alternativas.

Os ovos da *C. montrouzieri* possuem coloração amarela brilhante e são depositados na massa cotonosa produzida pela cochonilha, como estratégia para enganar a presa e como cuidado para maior disponibilidade de alimento para sua prole (MERLIN et al., 1996). As larvas são brancas, cobertas de secreções cerosas semelhante as das cochonilhas, constituindo outra estratégia do predador mimetizar a presa e assim confundi-la. Essa fase é composta por quatro estádios larvais, com duração média de 15,5 dias. Já os adultos possuem o corpo com coloração marrom-escura e cabeça alaranjada (SANCHES et al., 2001).

Esses predadores são vorazes tanto na fase larval quanto adulta. Os machos são capazes de preda 37,5 cochonilhas por dia, e as fêmeas 33 cochonilhas (AL KHATEEB; RAIE, 2001), apresentando capacidade de gerar de 400 a 500 ovos durante seu ciclo de vida (SANCHES et al., 2001). Em cultivos de café na Índia, o controle de cochonilhas *Planococcus* spp. é realizado por meio de liberações de *C. montrouzieri*, que são em torno de 10 a 15 mil adultos por hectare (REDDY; SEETHARAMA, 1997). Parte desse potencial é devido a sua habilidade de percepção da presa, visto que eles utilizam a visão e o olfato no processo de busca de alimento (HEIDARI; COPLAND, 1992).

REFERÊNCIAS

- AGRAWAL, A. A.; KARBAN, R. Why induced defenses may be favored over constitutive strategies in plants. In: TOLLRIAN, R.; HARVELL, C. D. **The Ecology and Evolution of Inducible Defenses**, 1999, p. 45-61.
- AL KHATEEB, N.; RAIE, A. A study of some biological parameters of the predator *Cryptolaemus montrouzieri* (Mulsant) introduced to *Planococcus citri* (Risso) in Syria, and estimate of its predation rate in the laboratory. **Arab Journal of plant protection**, v. 19, n. 2, p. 131-135, 2001.
- ALMEIDA-CORTEZ, J. S. Herbivoria e mecanismos de defesa vegetal. In: NOGUEIRA, R. J. M. C.; ARAÚJO, E. L.; WILLADINO, L. G.; CALVALCANTE, U. M. T. (eds.). **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas**, 2005, p. 389-396.
- AMARAL, J. F. O ácaro dos cafezais. **Boletim da Superintendência dos Serviços do Café**, v. 26, n. 296, p. 846-848, 1951.
- AMSTALDEN, L. C.; LEITE, F.; MENEZES, H. C. Identificação e quantificação de voláteis de café através de cromatografia gasosa de alta resolução/espectrometria de massas empregando um amostrador automático de “Headspace”. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 1, p. 123-128, 2001.
- ARIMURA, G.; KOST, C.; BOLAND, W. Herbivore-induced, indirect plant defences. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1734, n. 2, p. 91-111, 2005.
- ARIMURA, G.; MATSUI, K.; TAKABAYASHI, J. Chemical and molecular ecology of herbivore-induced plant volatiles: Proximate factors and their ultimate functions. **Plant and Cell Physiology**, v. 50, n. 5, p. 911–923, 2009.
- BARONIO, G.; PIRES, A. C. V.; AOKI, C. *Trigona branneri* (Hymenoptera: Apidae) as a collector of honeydew from *Aethalion reticulatum* (Hemiptera: Aethalionidae) on *Bauhinia forficata* (Fabaceae: Caesalpinioideae) in a Brazilian savanna. **Sociobiology**, v. 59, n. 2, p. 407-414, 2012
- BERNAYS, E. A. Neural limitations in phytophagous insects : Implications for diet breadth and evolution of host affiliation. **Annual Review of Entomology**, v. 46, n. 1, p. 703–727, 2001.
- BERNAYS, E. A.; CHAPMAN, R. F. **Host-plant selection by phytophagous insects**. Chapman & Hall, 1994. 312 p.
- BEZEMER, T. M.; VAN DAM, N. M. Linking aboveground and belowground interactions via induced plant defenses. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 20, n. 11, p. 617–624, 2005.
- BRUCE, T. J. A.; PICKETT, J. A. Perception of plant volatile blends by herbivorous insects - Finding the right mix. **Phytochemistry**, v. 102, n. 2, p. 1605–1611, 2011.
- CALZA, R.; SAUER, H. F. G. A aranha vermelha dos cafezais. **Biológico**, v. 18, n. 12, p.

201–208, 1952.

CAMARGO, A. P. **Florescimento e frutificação de café arábica nas diferentes regiões (cafeiras) do Brasil**. Embrapa Informação Tecnológica, v. 20, n.1, p. 2-3, 1985.

CAMARGO, A. P.; CAMARGO, M. B. P. Definição e esquematização das fases fenológicas do cafeeiro arábica nas condições tropicais do Brasil. **Bragantia**, v. 60, n. 1, p. 65-68, 2001.

CLAPS, L. E.; TERÁN, Y. L. A. Diaspididae (Hemiptera: Coccoidea) associadas a cítricos en la provincia de Tucumán (República Argentina). **Argentina Neotropical Entomology**, v. 4000, n. 3, p. 391–402, 2001.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira: café**. Brasília: Conab, v. 5, n. 4, dez. 2018. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/>>. Acesso em: 22 de dezembro 2018.

CORREA, L. R. B. et al. Estudos biológicos de cochonilhas do gênero *Planococcus* (Hemiptera: Pseudococcidae) em diferentes hospedeiros. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78, n. 2, p. 233-240, 2011.

COSTA, M. B. et al. Tabela de vida de *Planococcus citri* (Risso) e *Planococcus minor* (Maskell) (Hemiptera: Pseudococcidae) em cafeeiros. **Coffee Science**, v. 11, n. 2, p. 204-210, 2016.

CULIK, M. P. et al. Hemiptera, Coccoidea: distribution extension and new records for the states of Espírito Santo, Ceará, and Pernambuco, Brazil. **Cheklis**, v. 7, n. 4, p. 567-570, 2011.

CUSUMANO, A. et al. Attraction of egg-killing parasitoids toward induced plant volatiles in a multi-herbivore context. **Oecologia**, v. 179, n. 1, p.163-174, 2015.

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**, v. 21, n. 2, p. 281–290, 2008.

DE MORAES, C. M. et al. Herbivore-infested plants selectively attract parasitoids. **Nature**, v. 393, n. 32, p. 570-573, 1998.

DE MORAES, G.J.; FLECHTMANN, C.H.W. **Manual de acarologia: acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil**. Holos, 2008. 308p.

DICKE, M. Behavioural and community ecology of plants that cry for help. **Plant Cell Environ**, v. 32, n. 4, p. 654–665, 2009.

DICKE, M.; SABELIS, M. W.; TAKABAYASHI, J. Do plants cry for help? Evidence related to a tritrophic system of predatory mites, spider mites and their host plants. **Symposia Biologica Hungarica**, v. 39, n. 2, p. 127-134, 1990.

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

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

DUDAREVA, N. et al. Plant volatiles: recent advances and future perspectives. **Critical Reviews in Plant Science**, v. 25, n. 5, p. 417-440, 2006.

DUDAREVA, N. et al. Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. **New Phytologist**, v. 198, n. 20, p.16-32, 2013.

ERB, M.; FORESTI, N.; TURLINGS, T. C. J. A tritrophic signal that attracts parasitoids to host-damaged plants withstands disruption by non-host herbivores. **BMC Plant Biology**, v. 10, n. 3, p. 247-258, 2010.

FARMER, P. **Infections and inequalities: The modern plagues**. University of California Press, v. 2, n. 1, p. 117-119, 2001.

FATOUROS, N. E. et al. Herbivore-induced plant volatiles mediate in-flight host discrimination by parasitoids. **Journal of Chemical Ecology**, v. 31, p. 2033–2047, 2005.

FISHER, T. W. Mass culture of *Cryptolaemus* and *Leptomastix* - Natural enemies of citrus mealybug. **California Agricultural Bulletin**, v. 11, n. 1, p. 1-37, 1963.

FONSECA, M. G. et al. Influência da planta hospedeira no comportamento reprodutivo de *Leucoptera coffeella* (Guérin-Méneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae). **Coffee Science**, v.8, n.1, p. 101-108, 2013.

FORNAZIER, M. J. et al. Cochonilha-branca-da-roseta em café conilon (*Coffea canephora*) no estado do Espírito Santo. In: Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, 26, 2000, Marília. **Anais...** 2000. p. 176 - 177.

FORNAZIER, M. J.; SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; MARTINS, D. S. Cochonilhas-farinhas associadas ao Café Conilon. **Tecnologias para produção do café conilon**, 2009. 360 p.

FRANCIS, A. W.; KAIRO, M. T. K.; RODA, A. L. Developmental and reproductive biology of *Planococcus minor* (Hemiptera: Pseudococcidae) under constant temperatures. **Florida Entomologist**, v. 95, n. 2, p. 296-303, 2012.

FRANCO, R. A. et al. Dinâmica populacional de *Oligonychus ilicis* (McGregor, 1917) (Acari: Tetranychidae) em cafeeiro e de fitoseídeos associados a ele. **Coffee Science**, v. 3, n. 1, p. 38-46, 2008.

FRANCO, R. A. et al. Influência da infestação de *Oligonychus ilicis* (McGregor, 1917) (Acari: Tetranychidae) sobre a taxa de fotossíntese potencial de folhas de cafeeiro. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, n. 2, p. 205-210, 2009.

- FRANCO, R. A. et al. Influência da teia de *Oligonychus ilicis* (McGregor) (Acari: Tetranychidae) sobre os fitoseídeos predadores associados. **Neotropical Entomology**, v. 39, n. 1, p. 97-100, 2010.
- GATEHOUSE, J. A. Plant resistance towards insect herbivores: A dynamic interaction. **New Phytologist**, v. 156, n.1, p.145-169, 2002.
- GIOMO, G. S.; PEREIRA, S.P.; BLISKA, F. M. M. Panorama da cafeicultura orgânica e perspectivas para o setor. **O Agrônomo**, v. 59, n. 1, p. 33-36, 2007.
- GOSSNER, M. M. et al. Insect attraction to herbivore-induced beech volatiles under different forest management regimes. **Oecologia**, v. 176, n. 2, p. 569-580, 2014.
- GOUVEIA, N. M. **Estudo da diferenciação e crescimento das gemas florais de *Coffea arabica* L.: observações sobre antese e maturação dos frutos**. 1984. 237 p. Dissertação (Mestrado em Biologia)–Instituto de Biologia, UNICAMP, Campinas, 1984.
- HEARD, T. A. concepts in insect host-plant selection behavior and their application to host specificity testing. **Proceedings: Host specificity testing of exotic arthropod biological control agents: This biological basis for improvement if safety**, v. 11, n. 1, p. 1-10, 2000.
- HEIDARI, M.; COPLAND, M. J. W. Host finding by *Cryptolaemus montrouzieri* (Col., Coccinellidae) a predator of mealybugs (Hom., Pseudococcidae). **Entomophaga**, v. 37, n. 4, p. 621-625, 1992.
- HEIL, M. Indirect defence via tritrophic interactions. **New Phytologist**, v. 32, n. 4, p. 41-61. abr. 2008.
- KAIRO, M. T. K. et al. *Cryptolaemus montrouzieri* (Mulsant) (Coccinellidae: Scymninae): a review of biology, ecology, and use in biological control with particular reference to potential impact on non-target organisms. **CAB Rev**, v. 8, n. 5, p. 1-20, 2013.
- KARBAN, R.; BALDWIN, I. T. **Induced Responses to Herbivory**. Chicago: The University of Chicago Press, 1997. 330 p.
- LUCAS-BARBOSA, D.; VAN LOON, J. J. A.; DICKE, M. The effects of herbivore-induced plant volatiles on interactions between plants and flower-visiting insects. **Phytochemistry**, v. 72, n. 13, p. 1647–1654, 2011.
- MALAIS, M. H.; RAVENSBERG, W.J. Kennen en herkennen: levenswijzen van kasplagen en hun natuurlijke vijanden. **Reed Business Information**, v. 41, n. 2, p. 71-74, 2002.
- MANI, M. ; KRISHNAMOORTHY, A. Biological suppression of the mealybugs *Planococcus citri* (Risso), *Ferrisia virgata* (Cockerell) and *Nipaecoccus viridis* (Newstead) on pummelo with *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant in India. **Journal of Biological Control**, v. 22, n. 1, p. 169–172, 2008.
- MCCORMICK, A. C. et al. Herbivore-induced volatile emission in black poplar: regulation and role in attracting herbivore enemies. **Plant, Cell & Environment**, v. 37, n. 8, p. 1909-1923, 2014.

- MCCORMICK, A. C.; UNSICKER, B. S.; GERSHENZON, J. The specificity of herbivore-induced plant volatiles in attracting herbivore enemies. **Trends in Plant Science**, v. 17, n. 5, p. 303-310, 2012.
- MCMURTRY, J. A.; HUFFAKER, C. B.; VAN DE VRIE, M. Ecology of tetranychid mites and their natural enemies: A review: I. Tetranychid enemies: Their biological characters and the impact of spray practices. **Hilgardia**, v. 40, n. 11, p. 331–390, 1970.
- MERLIN, J., O. et al. Oviposition in *Cryptolaemus montrouzieri* stimulated by wax filaments of its prey. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 21, n. 3, p. 141–146, 1996.
- MINEIRO, J. L. C.; MORAES, G. J. Systematics, Morphology and Physiology. Gamasida (Arachnida: Acari) Edáficos de Piracicaba, Estado de São Paulo. **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 3, p.379-385, 2001.
- MORAN, P. J.; THOMPSON, G. A. Molecular responses to aphid feeding in arabidopsis in relation to plant defense pathways. **Plant Physiology**, v. 125, n. 2, p. 1074-1085, 2001.
- MOAYERI, H. R. S. et al. Olfactory response of a predatory mirid to herbivore induced plant volatiles: multiple herbivory vs. single herbivory. **Journal of Applied Entomology**, v. 131, n. 5, p. 326-332, 2007.
- 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**, v. 88, n. 7, p. 628-667, 2010.
- PALLINI FILHO, A.; DE MORAES, G. J.; BUENO, V. H. P. Ácaros associados ao cafeeiro (*Coffea arabica* L.) no Sul de Minas Gerais. **Ciência e Prática**, v. 16, n. 2, p. 303-307, 1992.
- PARÉ, P. W.; TUMLINSON, J. H. Plant volatiles as a defense against insect herbivores. **Plant Physiology**, v. 121, n. 2, p. 325-332, 1999.
- PAREJA, M.; PINTO-ZEVALLOS, D. M. Impacts of induction of plant volatiles by individual and multiple stresses across trophic levels. In: BLANDE, J. D; GLINWOOD R. (Org.). Signaling and communication in plants. 1 ed.: **Springer International Publishing**, 2016. p. 61-93.
- PARRA, J. R. P. et al. **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. Editora Manole, v. 11, n. 4, p. 609, 2002.
- PICHERSKY, E.; NOEL, J. P.; DUDAREVA, N. Biosynthesis of plant volatiles: nature's diversity and ingenuity. **Science**, v. 311, n. 5762, p. 808-811, 2006.
- POELMAN, E. H.; VAN LOON, J. J.A.; DICKE, M. Consequences of variation in plant defense for biodiversity at higher trophic levels. **Trends in Plant Science**, v. 13, n. 10, p.534-541, 2008.
- POLANCZYK, R. A. et al. Development of *Oligonychus ilicis* on *Coffea canephora* under different temperatures. **Bragantia**, v. 70, n. 2, p. 370-374, 2011.

POWELL, G.; TOSH, C. R.; HARDIE, J. Host plant selection by aphids: behavioral, evolutionary, and applied perspectives. **Annual Review of Entomology**, v. 51, n. 8, p. 309-330, 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**, v. 11, p. 41-65, 1980.

REDDY, G. V. P. et al. Present status of *Maconellicoccus hirsutus* (Hemiptera: Pseudococcidae) in the Mariana Islands and its control by two fortuitously introduced natural enemies. **Journal of Economic Entomology**, v. 102, n. 4, p. 1431-1439, 2009.

REDDY, K. B.; SEETHARAMA H. G. Integrated management of mealybugs in coffee. **Indian Coffee**. v. 61, n. 3, p. 26-28, 1997.

REIS, P. R. Ácaro-vermelho. **Cultivar Grandes Culturas**, v. 7, n. 72, p. 14-17, 2005.

REIS, P. R.; ALVES, E. B.; SOUZA, E. O. Biologia do ácaro- vermelho do cafeeiro *Oligonychus ilicis* (McGregor,1917). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 21, n. 1, p. 260-266, 1997.

REIS, P. R. et al. Control of *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) and *Oligonychus ilicis* (McGregor, 1917) (Acari: Tenuipalpidae, Tetranychidae) in coffee plants and the impact on beneficial mites: I-Abamectin and emamectin. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 2, p. 269-281, 2004.

REIS, P. R. et al. Manejo Integrado das pragas do cafeeiro. In: REIS, P. R.; CUNHA, R. I. (Ed.). **Café arábica: do plantio à colheita**. Lavras: EPAMIG, 2010. Cap. 10. p. 573-688.

REIS, P. R.; SOUZA, J. C. DE; VENZON, M. Manejo ecológico das principais pragas do cafeeiro. **Informe Agropecuario**, v. 23, n. 2, p. 83-99, 2002.

REIS, P. R.; ZACARIAS, M. S. Ácaros em cafeeiro. **Boletim técnico**, v. 21, n. 32, 76 p., 2007.

RENA, A. B. et al. **Cultura do cafeeiro. Fatores que afetam a produtividade**. Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato Piracicaba, 1986.

RIJK, M.; DICKE, M.; POELMAN, E. H. Foraging behaviour by parasitoids in multiherbivore communities. **Animal Behaviour**, v. 85, n. 6, p. 1517–1528, 2013.

ROY, H.; MIGEON, A. Ladybeetles (Coccinellidae). **BioRisk**, v. 4, p. 293–313, 2010.

SANCHES, N. F. et al. Técnica de multiplicação do predador exótico *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) em laboratório. In: Simpósio de Controle Biológico, 7, 2001, Poços de Caldas. **Resumos...** Poços de Caldas, MG: UFLA/EMBRAPA, 2001. p. 428.

SANCHES, N. F. et al. Técnica de criação do predador exótico *Cryptolaemus montrouzieri* (Coleoptera: Coccinellidae) em laboratório. **Circular técnica**, Embrapa Mandioca e Fruticultura, v. 1, n. 47, p. 14, 2002.

SANCHES, N. F.; CARVALHO, R. S. Procedimentos para manejo da criação e multiplicação do predador exótico *Cryptolaemus montrouzieri*. **Circular Técnica**, Embrapa Mandioca e Fruticultura, n. 99, 2010.

SANTA-CECÍLIA, L. V. C. et al. Cochonilhas-farinhentas em cafeeiros: bioecologia, danos e métodos de controle. **Boletim Técnico**, n. 79, 2007.

SANTA-CECÍLIA et al. Potential of mealybugs infestation, *Planococcus* spp. (Hemiptera: Pseudococcidae), in an agroforestry system in coffee crops. **Ijoear**, v. 4, n. 7, p. 1-9, 2018.

SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; PRADO, E. Manejo de cochonilhas (Pseudococcidae) em cafeeiro. In: Núcleo de Estudos em Fitopatologia (Org.). **Manejo Fitossanitário da Cultura do Cafeeiro**. 2008. Cap. 14. p. 185-194.

SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; SOUZA, B. Controle biológico de cochonilhas-farinhentas em cultivos protegidos. **Informe Agropecuário**, v. 26, n. 105, p. 24-30, 2005.

SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; SOUZA, B. Cochonilhas-farinhentas de maior ocorrência em cafeeiros no Brasil. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 35, n. 280, p. 45-54, 2014.

SARMENTO, R.A. et al. Infoquímicos induzidos por herbivoria mediando a comunicação entre plantas de tomate e o predador *Cycloneda sanguinea* (Coleoptera: Coccinellidae). **Revista Ceres**, v.55, n.5, p. 439-444, 2008.

SCHOONHOVEN, L. M.; VAN LOON, J. J. A; DICKE, M. Plant chemistry: endless variety. In: SCHOONHOVEN, L. M.; VAN LOON, J. J. A; DICKE, M. **Insect-plant biology**. Oxford: University Press on Demand, 2005. 421 p.

SHIMODA, M.; SHIBAMOTO, T. Isolation and identification of headspace volatiles from brewed coffee with an on-column GC/MS method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, n. 3, p. 802-804, 1990.

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

SILVA, C. A. D. Biologia e exigências térmicas do ácaro-vermelho (*Tetranychus ludeni*) (Zacher) em folhas de algodoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, n. 70, p. 573-580, 2002.

SILVA, W. D. **Comportamento sexual da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae)**. 2009. 58 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2009.

SLANSKY, F. Jr.; RODRIGUEZ, J. G. **Nutritional ecology of insects, mites, spiders, and related invertebrates**. J. Wiley, 1987. 955 p.

SOARES, A. M. S.; MACHADO, O. L. T. Defesa de plantas: Sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Trópica Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 1, n. 1, p. 10, 2007.

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

TOLEDO, M. A. **Estudos de métodos não convencionais visando o controle do ácaro *Oligonychus ilicis* (McGregor, 1917) (Acari: Tetranychidae) em cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. 2015. 119 p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras-MG, 2015.

TURLINGS, T. C. et al. How caterpillar-damaged plants protect themselves by attracting parasitic wasps. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 92, n. 10, p. 4169-4174, 1995.

TURLINGS, T. C.; TUMLINSON, J. H. Systemic release of chemical signals by herbivore-injured corn. **Proceedings of The National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 89, n. 17, p. 8399-8402, 1992.

VAN DER PUTTEN, W. H. et al. Linking above-and belowground multitrophic interactions of plants, herbivores, pathogens, and their antagonists. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 16, n. 10, p. 547-554, 2001.

VENNETE, R. C.; DAVIS E. E. **Mini risk assessment passionvine mealybug: *Planococcus minor* (Malkell) (Pseudococcidae: Hemiptera)**. Saint Paul: University of Minnesota, 2004. 30p.

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

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

WAR, A. R. et al. Behavior mechanisms of plant defense against insect herbivores. **Plant Signaling & Behavior**, v. 7, n. 10, p. 1306–1320, 2012.

WILLIAMS, D. J.; GRANARA DE WILLINK, M. C. **Mealybugs of Central and South America**. Walingford: CABI, 1992. 629 p.

YONEYA, K.; KUGIMIYA, S.; TAKABAYASHI, J. Can herbivore-induced plant volatiles inform predatory insect about the most suitable stage of its prey? **Physiological Entomology**, v. 34, n. 4, p. 379-386, 2009.

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 United States of America**, v. 106, n. 50, p. 21202-21207, 2009.

ZHANG, P. J. et al. Jasmonate and ethylene signaling mediate whitefly-induced interference with indirect plant defense in *Arabidopsis thaliana*. **New Phytologist**, v.197, n. 4, p. 1291-1299, 2013.

SEGUNDA PARTE

2 ARTIGO

COMPARTILHANDO A PLANTA HOSPEDEIRA COM UM ÁCARO FITÓFAGO: EFEITOS *BOTTOM-UP* E *TOP-DOWN* BENEFICIAM A COCHONILHA-BRANCA

Planococcus minor

Lara Sales¹; Fernanda Moreira de Andrade²; Lenira Viana Costa Santa-Cecília³; Maria Fernanda Gomes Villalba Peñaflo^{1*}

¹Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG, Brasil, Câmpus Universitário, CEP 37200-000

²Departamento de Biologia, Setor de Ecologia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG, Brasil, Câmpus Universitário, CEP 37200-000

³Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), Lavras- MG, Brasil, CEP 37200-000

* *Autora correspondente*: Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG, Brasil, Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Telefone (35) 3829- 5128/ (35) 3829-1287
Email: fernanda.penaflor@den.ufla.br

Versão preliminar formatado de acordo com as normas do periódico Ecological Entomology

RESUMO

A infestação de plantas por herbívoros pode conferir vantagens a uma das espécies, propiciando a herbivoria múltipla, com implicações para as interações tritróficas. Porém, pouco se sabe sobre os efeitos da herbivoria múltipla envolvendo herbívoros com modos de alimentação distintos. Assim, o objetivo do trabalho foi investigar duas questões: (i) se a infestação pelo ácaro *Oligonychus ilicis* (McGregor) (Acari: Tetranychidae) facilita a colonização da cochonilha-branca *Planococcus minor* (Maskell) (Hemiptera: Pseudococcidae) em plantas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.); (ii) se a herbivoria pelo ácaro e a cochonilha altera a atratividade dos voláteis de cafeeiro para o inimigo natural da cochonilha, a joaninha *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae). Foram conduzidos ensaios de preferência hospedeira e desempenho de *P. minor*, testando-se planta infestada pelo ácaro e não infestada. Para preferência olfativa, joaninhas foram submetidas a voláteis de plantas de cafeeiro não infestadas e infestadas por uma ou duas das espécies de herbívoro. Observou-se que *P. minor* teve preferência e melhor desenvolvimento em plantas infestadas por ácaros. Nos ensaios de olfatometria, a joaninha foi atraída pelos voláteis das plantas infestadas somente pela *P. minor*. Já a herbivoria múltipla emitiu odores repelentes à joaninha. Os resultados de preferência indicaram que a cochonilha é favorecida pelos efeitos da própria planta (*bottom-up*) e pela repelência da planta sob herbivoria múltipla ao seu predador (*top-down*). Esse é o primeiro relato que a escolha hospedeira de um herbívoro por uma planta previamente infestada reduz sua vulnerabilidade ao inimigo natural por meio da emissão de voláteis repelentes.

Palavras-chave: *Coffea arabica*. Defesas de plantas induzidas. Herbivoria múltipla. *Natural enemy-free space*.

2.1- Introdução

As plantas, ao serem atacadas por herbívoros artrópodes, sintetizam novas defesas que atuam de maneira direta, tornando-as menos atrativas, menos palatáveis, ou até mesmo tóxicas, (AGRAWAL; KARBAN, 1999; ALMEIDA-CORTEZ, 2005; CINGOLANI et al., 2005; MACDONALD; BACH, 2005), ou indireta por meio da emissão de compostos voláteis orgânicos que recrutam os inimigos naturais dos herbívoros, denominados de *herbivore-induced plant volatiles* (HIPVs) (DICKE; BALDWIN, 2010; DICKE et al., 1990; MOAYERI et al., 2007; TURLINGS; TUMLINSON; LEWIS, 1990; WAR et al., 2011). Essas mudanças no perfil químico da planta induzida pela herbivoria podem também afetar o comportamento de seleção hospedeira por outras espécies de herbívoros. Por exemplo, a herbivoria de algumas espécies de artrópodes podem tornar as plantas mais suscetíveis ou resistentes à colonização e estabelecimento de uma segunda espécie (PALLINI; JANSSEN; SABELIS, 1997; SILVA et al., 2013, 2014).

O compartilhamento de uma planta hospedeira por mais de uma espécie de artrópode (herbivoria múltipla) é um cenário comum em ambientes naturais (PUTMAN, 1994) e confere vantagens a, pelo menos, uma das espécies (SARMENTO et al., 2011). A maioria dos estudos buscam compreender as interações tritróficas mediadas pelos voláteis induzidos pela herbivoria emitidos pela planta sob ataque de apenas uma espécie (DICKE; VAN LOON; SOLER, 2009; MALLINGER; HOGG; GRATTON, 2011; MUMM; DICKE, 2010; POELMAN; VAN LOON; DICKE, 2008; ZHANG et al., 2009, 2013) e, mais recentemente, informações sobre o efeito da herbivoria múltipla na indução de defesas de plantas foram publicadas, mas ainda é insuficiente para o entendimento de um padrão de resposta induzida da planta frente à herbivoria múltipla (PAREJA; PINTO-ZEVALLOS, 2016).

Uma das predições clássicas refere-se à herbivoria de espécies com modos de alimentação distintos, como mastigadores e sugadores de floema, que induzem a rota do ácido jasmônico (AJ) e do ácido salicílico (AS), respectivamente (DICKE; VAN LOON; SOLER, 2009; KEMPEMA et al., 2007; KESSLER; BALDWIN, 2002; PINTO-ZEVALLOS et al., 2013; MORAN; THOMPSON, 2001; ZARATE; KEMPEMA; WALLING, 2007). Devido à interação antagonista entre as rotas do AJ e AS (*negative cross-talk*) (KOORNNEEF et al., 2008; NIKI et al., 1998; THALER, 1999; THALER; HUMPHREY; WHITEMAN, 2012; ZHANG et al., 2013), é esperado que a herbivoria múltipla por uma espécie mastigadora e outra sugadora de floema promova a supressão das defesas da planta quando comparado à herbivoria simples, como comprovado em alguns estudos (RODRIGUEZ-SAONA; CRAFTS-

BRANDNER; CANAS, 2003; SCHWARTZBERG; BOROCZKY; TURLINSON, 2011; ZHANG et al., 2013). Entretanto, a literatura mostra resultados conflitantes com esse padrão da herbivoria múltipla por sugadores e mastigadores, indicando que outros fitohormônios e um conjunto particular de genes devem estar envolvidos na resposta induzida por uma espécie de herbívoro (CLAVIJO MCCORMICK, 2016; PONZIO et al., 2014).

Os ácaros fitófagos são também sugadores, mas, diferentemente dos pulgões (Hemiptera: Aphididae), moscas-brancas (Hemiptera: Aleyrodidae) e cochonilhas (Hemiptera: Pseudococcidae) que sugam seiva, eles se alimentam do conteúdo das células parenquimáticas e induzem nas plantas defesas moduladas tanto pelo AJ quanto pelo AS (KANT et al., 2004; MATSUSHIMA et al., 2006). Algumas espécies de ácaros fitófagos da Família Tetranychidae (Acari) são capazes de manipular as defesas das plantas suprimindo a expressão de genes modulados pelo AJ ou AS sem, no entanto, promover um *cross-talk* negativo entre as duas rotas como é a estratégia manipulativa dos sugadores de floema (ALBA et al., 2015; GLAS et al., 2014; VILLARROEL et al., 2016; ZHANG et al., 2011).

Pouca atenção foi dada à herbivoria múltipla envolvendo ácaros (sugadores de conteúdo celular) e sugadores da seiva do floema na indução de defesas de plantas. Apenas dois estudos foram conduzidos e mostraram resultados diferentes. No primeiro estudo, Moayeri et al. (2007) verificaram que a infestação por pulgões *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) e ácaro-rajado *Tetranychus urticae* (Koch) (Acari: Tetranychidae) em pimentão induziu uma mistura de HIPVs distinta das plantas sob infestação simples, promovendo uma maior atração de predadores mirídeos *Macrolophus caliginosus* (Wagner) (Hemiptera: Miridae). Já no trabalho de Zhang et al. (2009), a herbivoria por moscas-brancas *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) e ácaro-rajado *T. urticae* em plantas de feijão lima reduziu a emissão de alguns compostos na mistura de HIPVs que se tornou menos atrativa para o ácaro predador *Phytoseiulus persimilis* (Athias-Henriot) (Acari: Phytoseiidae) em relação às plantas infestadas somente pelo ácaro praga.

Em função da carência de estudos sobre a herbivoria múltipla, em particular da co-ocorrência de sugadores de conteúdo celular e de floema na planta hospedeira, o presente trabalho investigou duas importantes questões sobre a herbivoria múltipla em plantas de café *Coffea arabica* L. (Rubiaceae): (i) a infestação pelo ácaro-vermelho-do-cafeeiro *Oligonychus ilicis* (McGregor) (Acari: Tetranychidae) facilita a colonização e estabelecimento da cochonilha-branca *Planococcus minor* (Maskell) (Hemiptera: Pseudococcidae)?; e (ii) a herbivoria pelo ácaro e a cochonilha altera a atratividade dos voláteis de plantas de cafeeiro para o inimigo natural da cochonilha, a joaninha *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant

(Coleoptera: Coccinellidae), em relação à herbivoria simples? As questões foram estudadas conduzindo experimentos de escolha hospedeira e desempenho da cochonilha-branca frente a plantas não infestadas e infestadas pelo ácaro, e a resposta olfativa da joaninha em ensaios de olfatometria. Como resultados desses experimentos, esperava-se que a herbivoria pelo ácaro aumentasse a suscetibilidade para a infestação da cochonilha; e a herbivoria múltipla pelo ácaro e cochonilha reduzisse a atratividade dos HIPVs para a joaninha em relação à herbivoria somente pela cochonilha.

Além da importância ecológica da herbivoria múltipla sobre as interações tritróficas, o sistema de estudo tem relevância econômica já que o café é uma das *commodities* de maior importância mundial. Os dois herbívoros selecionados para o estudo constituem pragas que limitam a produção cafeeira no Brasil, líder mundial em exportação de café. Apesar de ser uma cultura de destaque mundial, pouco se sabe sobre as interações envolvendo o café, suas pragas e inimigos naturais, de forma que as informações fornecidas por este estudo irão permitir um entendimento inicial, que dará suporte para futuros estudos direcionados ao desenvolvimento de estratégias para o manejo de pragas.

2.2- Material e métodos

Plantio e cultivo de *C. arabica*

O plantio das sementes de *C. arabica* cv. Mundo Novo 379/19 foi realizado em dois lotes, sendo o primeiro semeado em agosto/2017 e o segundo em dezembro/2017. Em cada lote foram plantadas 400 sementes após a remoção manual dos endocarpos para o aceleramento na germinação e emergência das plântulas de café (COELHO, 2014). As sementes também foram tratadas com fungicida (Maxim XL, Syngenta, São Paulo, SP, Brasil), na concentração de 1mL/kg de semente, 24h antes do plantio.

Foram colocadas duas sementes em cada saquinho de polietileno perfurado (20 cm x 25 cm) contendo solo, substrato (Tropstrato HA, Vida Verde, Mogi Mirim, SP, Brasil) e areia, na proporção 2:1:1, respectivamente, que foram mantidos em casa de vegetação sob oscilações naturais de temperatura e luz (Lavras, MG, Brasil).

Após a emergência das plântulas, foi realizado o desbaste, deixando apenas uma plântula por saquinho. Ao atingirem o estágio cotiledonar (“orelha de onça”), as plântulas foram adubadas semanalmente e irrigadas diariamente. Em todos os bioensaios, foram utilizadas plântulas de café entre seis a nove meses ou 5-6 pares de folhas.

Criação de *O. ilicis*

Foram coletados indivíduos de *O. ilicis* em cafeeiros (*C. arabica* cv. Novo Mundo) sem tratamento com produtos fitossanitários em Lavras, MG, Brasil. A criação foi mantida no laboratório de Acarologia da EPAMIG Sul/EcoCentro (Lavras, MG, Brasil) sob condições controladas ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$; $70 \pm 10\%$ de UR; 14 horas de fotofase).

Os ácaros foram mantidos em discos foliares de café (*C. arabica*) e dispostos sobre uma espuma (1 cm de altura) umedecida com água destilada cobrindo todo o fundo da placa de Petri (20 cm de diâmetro). Ao redor da folha e em contato com a esponja umedecida, foram colocados algodão hidrófilo de aproximadamente 2 cm de largura, servindo de fonte de água e barreira física para evitar o escape dos ácaros (REIS; ALVES; SOUSA, 1997).

Criação de *P. minor*

A criação de cochonilha-branca (*P. minor*) foi iniciada com colônias coletadas em plantas de cacau (*Theobroma cacao* L.) em Lavras, MG, Brasil. Após a confirmação da identidade da espécie (Dr. Ernesto Prado Cordero), os insetos foram mantidos e criados em frutos de abóboras (*Cucurbita maxima* L. cv. Cabotchá), previamente higienizadas com hipoclorito de sódio, em gaiolas cobertas com tecido de cor preta (SANTA-CECÍLIA et al., 2007, 2009). Periodicamente, foram adicionadas novas abóboras à criação para colonização e descarte das abóboras antigas (SANTA-CECÍLIA; PRADO; OLIVEIRA, 2013). A criação foi mantida em sala sob condições controladas ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$; $70 \pm 10\%$ de UR; e em escotofase total).

Criação do predador *C. montrouzieri*

A criação da joaninha *C. montrouzieri* foi iniciada a partir de indivíduos de uma criação já estabelecida no Laboratório de Controle Biológico de Pragas da EPAMIG Sul/EcoCentro (Lavras, MG, Brasil). Os adultos da joaninha foram mantidos em gaiolas plásticas cilíndricas (20 cm de diâmetro e 20 cm de altura) revestidas interiormente com papel branco que serviu como substrato para deposição de ovos. Para manter a umidade, uma pequena porção de algodão hidrófilo umedecido foi colocado no interior da gaiola. A cada

dois dias, os insetos foram alimentados com uma massa cotonosa de ovos, ninfas e adultos de cochonilhas *P. minor* provindos da criação em laboratório.

Os adultos também realizaram a postura na massa de ovos das cochonilhas, sendo estas removidas e colocados em novas placas para se desenvolver e atingir a fase adulta. Após a emergência dos adultos, eles foram colocados novamente em gaiolas, dando início a um novo ciclo de desenvolvimento. A criação foi mantida em laboratório sob condições controladas ($25 \pm 2^\circ\text{C}$; $70 \pm 10\%$ de UR; 12 h de fotofase).

Tratamentos

Com base em testes prévios com diferentes níveis de infestação da muda de café com o ácaro-vermelho-do-cafeeiro (25, 50, 75 e 100 fêmeas), foi estabelecido que a infestação com 75 fêmeas de *O. ilicis* foi suficiente para ocasionar dano sem resultar na morte da planta. Considerando que a razão sexual de populações de *O. ilicis* é de 1 macho: 9 fêmeas (REIS; ALVES; SOUSA, 1997), infestou-se as plantas com 8 machos e 75 fêmeas de *O. ilicis*, que permaneceram por 15 dias antes dos experimentos de escolha hospedeira e desempenho da cochonilha-branca (TABELA 1).

Já nos experimentos de olfatométrica com a joaninha *C. montrouzieri*, o tratamento da planta infestada pelo ácaro foi obtido usando os mesmos números de ácaros fêmeas e machos descritos acima, porém, mantidos por 30 dias nas plantas antes dos ensaios, para compará-lo ao efeito da herbivoria múltipla. As plantas infestadas pela cochonilha receberam 10 fêmeas adultas contendo ovissaco e, após 20 dias, quando estavam colonizadas por aproximadamente 100 ninfas de segundo e terceiro ínstar, foram usadas nos ensaios. Já na infestação múltipla (planta infestada com cochonilha + ácaro), as mudas foram primeiramente infestadas com o ácaro-vermelho-do-cafeeiro (75 fêmeas e 8 machos) por 10 dias e, em seguida, com 10 cochonilhas adultas com ovissaco por mais 20 dias, totalizando um período de 30 dias de infestação (TABELA 1). A sequência de infestação do tratamento de herbivoria múltipla foi escolhida devido à preferência da cochonilha-branca por plantas previamente infestadas pelo ácaro, como verificado neste estudo, mas não na sequência inversa (Moreira, F.A., dados não publicados).

Em todas as infestações, as plantas foram individualmente ensacadas com tecido *voile* para evitar a fuga dos ácaros e cochonilhas. As plantas do controle (planta não infestada) também foram cobertas pelos sacos de *voile* para controlar um possível efeito dessa cobertura sobre a planta. As plantas de todos os tratamentos foram mantidas em casa de vegetação

durante o período de indução. Antes dos ensaios, os sacos de *voile* foram retirados e os ácaros e cochonilhas mantidos nas plantas durante os experimentos.

Tabela 1-Metodologia utilizada para a obtenção dos tratamentos de plantas de café (*Coffea arabica*).

Tratamentos	Experimentos		
	Escolha hospedeira de <i>P. minor</i>	Desempenho de <i>P. minor</i>	Resposta olfativa de <i>C. montrouzieri</i>
Planta não infestada	ausência de herbivoria	ausência de herbivoria	ausência de herbivoria
Planta infestada pelo ácaro <i>O. ilicis</i>	75 fêmeas e 8 machos de <i>O. ilicis</i> por 15 dias	75 fêmeas e 8 machos de <i>O. ilicis</i> por 15 dias	75 fêmeas e 8 machos de <i>O. ilicis</i> por 30 dias
Planta infestada pela cochonilha <i>P. minor</i>	-	-	10 fêmeas e <i>P. minor</i> com ovissaco por 20 dias
Planta infestação pela cochonilha + ácaro	-	-	75 fêmeas e 8 machos de <i>O. ilicis</i> por 10 dias e 10 fêmeas de <i>P. minor</i> com ovissaco por 20 dias, totalizando 30 dias de indução

- tratamentos não testados nos experimentos

Fonte: Do autor (2019).

Experimento de escolha hospedeira de *P. minor*

A escolha hospedeira de *P. minor* frente a plantas de cafeeiro intactas e infestadas pelo ácaro-vermelho-do-cafeeiro foi avaliada em um experimento conduzido em casa de vegetação em fevereiro de 2018 (Lavras, MG, Brasil). A unidade experimental consistiu em uma arena retangular plástica (24,5 cm x 15,0 cm) forrada internamente com papel de filtro e com duas aberturas nas laterais opostas, onde os caules das plantas foram posicionados de modo que as folhas ficaram no interior da arena (FIGURA 1A). Os caules foram envoltos por algodão umedecido com óleo mineral para vedar as aberturas e evitar o escape dos ácaros e cochonilhas. Dessa forma, cada arena continha um par de plantas, sendo uma planta não

infestada e a outra planta infestada pelo ácaro (TABELA 1). O experimento de preferência hospedeira foi iniciado com a liberação de 20 ninfas de terceiro instar de *P. minor*, privadas de alimento por 1 hora, no centro de um disco de papel filtro (6 cm diâmetro) ligando uma planta a outra. Para evitar o escape dos ácaros e cochonilhas, a arena foi fechada por uma tampa que permitiu ventilação por ser revestida de tecido *voile*. As avaliações foram realizadas 24, 48 e 72 h após a liberação das ninfas, registrando-se o número de cochonilhas presentes em cada planta.

Foi adotado para esse experimento o delineamento de blocos casualizados (DBC), com dois tratamentos (plantas infestadas pelo ácaro e plantas não infestadas) e 10 repetições. Os números de insetos em cada planta em intervalo de tempo foram analisados pelo teste de normalidade de Shapiro-Wilk e, por apresentarem distribuição normal, a escolha entre os tratamentos foram analisadas pelo *Two-way* ANOVA, considerando tempo como variável aleatória e tratamento como fixa. As análises foram realizadas no Minitab versão 14 (Minitab Inc., State College, PA, USA).

Experimento de desempenho de *P. minor*

O desempenho de cochonilhas *P. minor* alimentadas em plantas não infestada e infestada pelo ácaro foi avaliado em casa de vegetação entre março e abril de 2018 (Lavras, MG, Brasil). Após os 15 dias de infestação pelo ácaro, foram colocadas 50 ninfas de primeiro ínstar da cochonilha em cada planta, que foi coberta por um saco de *voile* (FIGURA 1B). As avaliações foram realizadas após 15 dias da liberação das ninfas, quando foi contabilizado, em cada planta, o número de ninfas de segundo e terceiro instar, de fêmeas adultas e casulos dos machos.

O delineamento usado nesse experimento foi o inteiramente casualizado (DIC), com dois tratamentos (planta infestada pelo ácaro e planta não infestada – TABELA 1) e 10 repetições. Os dados foram analisados pelos modelos lineares generalizados (GLM) com distribuição *Poisson*. As análises foram realizadas usando o pacote estatístico RStudio (University of Auckland, Auckland, Nova Zelândia).

Experimento de resposta olfativa de *C. montrouzieri*

A resposta olfativa de adultos da joaninha *C. montrouzieri* aos voláteis de plantas de café foi avaliada em olfatômetro em ‘Y’ de vidro (15 cm de cada braço e 4 cm de diâmetro).

Os ensaios foram realizados no período de julho a outubro de 2018 no laboratório sob condições controladas ($25 \pm 2^\circ\text{C}$ e $60 \pm 10\%$ de UR) entre 8:00 e 18:00 h, já que as joaninhas são ativas no período diurno (RAFAEL et al., 2012). O olfatômetro foi colocado dentro de uma caixa para evitar a influência de pistas visuais do ambiente, e posicionado verticalmente à superfície da bancada (FIGURA 1C), pois os insetos iniciam o caminhar mais rapidamente, devido ao comportamento de geotropismo negativo (CHAPMAN, 1998).

Para realização dos bioensaios, as plantas de café foram ensacadas, individualmente, com sacos de poliéster (41 cm x 33 cm) com aberturas para entrada de mangueiras de silicone que conectaram os tratamentos às extremidades dos braços laterais do olfatômetro. Uma bomba compressora de ar introduziu o ar do ambiente no sistema, que era filtrado e umidificado pela passagem em um filtro de carvão ativado e umidificador e, em seguida, conduzido às plantas ensacadas (tratamentos) e braços laterais do olfatômetro. O fluxo de ar no sistema, estabelecido em ensaios preliminares com *C. montrouzieri*, foi calibrado em 4,5 L/min por meio de um fluxômetro. Além disso, os sacos dos tratamentos foram cobertos com papel branco para evitar possíveis estímulos visuais das plantas para as joaninhas.

No dia anterior aos experimentos, as joaninhas foram individualizadas em tubos de ensaios e privadas de alimento por 24 h. Em cada bioensaio, foram utilizados 5 pares de planta e 58 adultos de joaninhas (10 a 12 indivíduos/par de plantas) na proporção de 10 fêmeas: 1 macho de *C. montrouzieri*, de acordo com a razão sexual da criação em laboratório. Cada repetição consistiu na resposta de uma fêmea ou macho adulto de *C. montrouzieri*, que foi inserido no braço central do olfatômetro e observado por 5 min, no máximo. A escolha do inseto foi registrada quando este ultrapassou uma linha localizada no terço distal de um dos braços laterais do olfatômetro. Quando o inseto não escolheu um dos braços por 5 min, a repetição foi considerada como 'não resposta'.

Após cada teste, o inseto foi descartado e as posições dos tratamentos foram invertidas no olfatômetro para detectar tendências de lado na escolha. Após 12 repetições, o olfatômetro foi lavado com detergente neutro e enxaguado com água, acetato de etila (Acetato de Etila P.A. ACS., Vetec Química Fina Ltda., Duque de Caxias, RJ, Brasil) e álcool 70% (Start, Lima & Pergher, São Paulo, SP, Brasil) e, por fim, seco em estufa a 100°C .

No sistema de olfatometria, as joaninhas foram expostas aos voláteis emitidos pelas próprias plantas, nas combinações: (i) planta não infestada vs. planta infestada pela cochonilha; (ii) planta não infestada vs. planta infestada pelo ácaro; (iii) planta não infestada vs. planta infestada pela cochonilha + ácaro; (iv) planta infestada pela cochonilha vs. planta infestada pelo ácaro; (v) planta infestada pela cochonilha vs. planta infestada pela cochonilha

+ ácaro; (vi) planta infestada pelo ácaro vs. planta infestada pela cochonilha + ácaro. Além desses ensaios, para avaliar a repelência ou a não preferência da joaninha por determinados tratamentos, os odores das plantas foram contrastados com o ar limpo, que consistiu na passagem de ar por um saco de etileno vazio. As combinações foram: (vii) planta não infestada vs. ar limpo; (viii) planta infestada pelo ácaro vs. ar limpo; (ix) planta infestada pela cochonilha + ácaro vs. ar limpo.

Os dados de escolha olfativa no olfatômetro, desconsiderando os ‘não resposta’, foram analisados pelo teste binomial considerando a distribuição de 50% para cada tratamento. As análises foram realizadas usando o pacote estatístico RStudio (University of Auckland, Auckland, Nova Zelândia).

2.3- Resultados

Escolha hospedeira e desempenho de *P. minor*

Em testes de dupla escolha, as ninfas de cochonilha *P. minor* preferiram plantas de café infestadas com *O. ilicis* a plantas não infestadas (efeito tratamento $F_{1,47} = 158,11$; $P < 0,001$), independente do intervalo de tempo (efeito tempo $F_{2,47} = 0,62$; $P = 0,541$) (FIGURA 2).

No desempenho da cochonilha, observou-se que a planta infestada com *O. ilicis* interfere consideravelmente no desenvolvimento das cochonilhas *P. minor*. Não foram encontradas ninfas de 1º ínstar da cochonilha em nenhum dos tratamentos. Ninfas de segundo ínstar não foram afetadas, já que não houve diferença no número encontrado em plantas de café não infestadas e infestadas com *O. ilicis* (FIGURA 3, GLM, $P = 1,000$). Já em relação ao terceiro ínstar, foram encontradas, em média, um número duas vezes maior de cochonilhas em plantas infestadas com *O. ilicis* do que em plantas não infestadas (FIGURA 3, GLM, $P < 0,001$). De modo similar, na fase adulta da *P. minor*, tanto fêmeas quanto machos (estimados com base no número de casulos) foram encontrados em números significativamente maiores em plantas infestadas com *O. ilicis* do que plantas não infestadas. (FIGURA 3, fêmeas: GLM, $P < 0,001$; casulo do macho: GLM, $P < 0,01$), com destaque para o número médio de fêmeas, que foi cerca de 2,5 vezes maior em plantas infestadas com *O. ilicis*.

Resposta olfativa de *C. montrouzieri*

O predador *C. montrouzieri* foi atraído pelos voláteis da planta de café infestada somente com sua presa, a cochonilha (FIGURA 4, teste binomial, $P < 0,001$), mas não pelos voláteis da planta infestada pela não presa, o ácaro, frente aos odores da planta não infestada (FIGURA 4, teste binomial, $P > 0,05$). De modo inesperado, no ensaio de planta infestada pelo ácaro vs. planta não infestada, houve uma alta proporção (~70%) de joaninhas que não escolheu nenhum dos tratamentos. A herbivoria múltipla (cochonilha + ácaro), por sua vez, emitiu odores menos preferidos pela joaninha do que aqueles emitidos pela planta não infestada (FIGURA 4, teste binomial, $P < 0,001$).

Ao serem expostas aos voláteis de planta de cafeeiro infestada pelo ácaro vs. planta de cafeeiro infestado pela cochonilha, as joaninhas preferiram as plantas infestadas pelas cochonilhas (FIGURA 4, teste binomial, $P < 0,001$). De forma similar, as joaninhas também preferiram os voláteis da planta infestada pela cochonilha nos testes de planta de cafeeiro infestada pela cochonilha vs. planta com infestação múltipla (cochonilha + ácaro) (FIGURA 4, teste binomial, $P < 0,001$).

No teste de planta de cafeeiro infestada pelo ácaro vs. planta de cafeeiro com infestação múltipla (cochonilha + ácaro), não houve diferença significativa na escolha entre os tratamentos e houve um alto número de não resposta (~80%) (FIGURA 4, teste binomial, $P > 0,05$). O mesmo ocorreu nos testes em que ar limpo foi confrontado com planta não infestada e planta com infestação múltipla (cochonilha + ácaro), nos quais as joaninhas não discriminaram os odores dos tratamentos e cerca de 45% e 91%, respectivamente, não responderam nos ensaios (FIGURA 4, teste binomial, $P > 0,05$). Já os odores de plantas com infestação múltipla (cochonilha + ácaro) foram menos preferidos por *C. montrouzieri* em relação ao ar limpo (FIGURA 4, teste binomial, $P < 0,001$).

2.4- Discussão

Apesar da importância ecológica e aplicada, pouco se sabe a respeito dos efeitos da herbivoria múltipla sobre o terceiro nível trófico (DICKE; VAN LOON; SOLER, 2009; PAREJA; PINTO-ZEVALLOS, 2016). Muitos estudos não consideraram a relevância ecológica da interação entre os dois herbívoros, ou seja, se a colonização por um dos herbívoros facilita ou não a colonização e estabelecimento da segunda espécie, visto que as plantas sob herbivoria múltipla respondem de maneira diferente quando comparado com o

ataque somente de uma das espécies de herbívoros (RODRIGUEZ-SAONA et al., 2010; SCHWARTZBERG; BOROCZKY; TUMLINSON, 2011; ZHANG et al., 2013). Neste trabalho, essa foi a primeira questão investigada e os resultados indicaram que a co-infestação de plantas de café pelo ácaro-vermelho-do-cafeeiro e a cochonilha-branca é provável e tem relevância ecológica, pois ninfas de 3º ínstar da cochonilha-branca apresentaram forte preferência por plantas infestadas com *O. ilicis* frente a plantas não infestadas. Essa preferência do herbívoro deve estar associada à melhor qualidade da planta hospedeira, pois a cochonilha teve um desempenho melhor como previsto pela teoria do forrageamento ótimo (STEPHENS; JOHN, 1986).

É plausível que plantas de café infestadas pelo ácaro tenham suas defesas suprimidas devido a mecanismos de manipulação de defesas pelo herbívoro, especialmente por se tratar de uma espécie de Tetranychidae fitófago especialista em café, pelo menos no Brasil, onde é frequentemente reportado em café, mas raramente em outras plantas (FLECHTMANN, 1967, 1983; MORRIS, 2003; ROTA; BIRAGHI, 1987). A literatura mostra que o mecanismo de supressão das defesas pelos ácaros se deve à regulação da expressão de genes que são induzidos pelo AJ e AS, e não aos níveis desses fitohormônios (GLAS et al., 2014; LEITNER; BOLAND; MITHÖFER, 2005; MOAYERI et al., 2007; SHIMODA et al., 2002; VILLARROEL et al., 2016; ZHANG et al., 2009). Os poucos estudos que abordam a interação das cochonilhas da Família Pseudococcidae e suas plantas hospedeiras mostram que, assim como os ácaros, elas manipulam as defesas das plantas, porém por um mecanismo diferente que se deve ao aumento do AS e a interação antagonista dessa rota com a do AJ (ZHANG et al., 2011, 2015). Desse modo, os dados deste estudo, juntamente com a literatura, sugerem que a cochonilha-branca pode se beneficiar de uma manipulação induzida pela herbivoria de *O. ilicis* para se alimentar da planta hospedeira.

Por outro lado, os resultados de Teodoro; Tschardtke; Klein (2009) não fornecem suporte à hipótese de manipulação das defesas da planta de café por *O. ilicis*. Os autores constataram que a herbivoria pelo ácaro-vermelho-do-cafeeiro induziu a resistência de plantas de café (*C. arabica* var. Caturra) à infestação do bicho-mineiro-do-cafeeiro e co-específicos, mas esses resultados não foram congruentes com as observações em campo, onde as infestações pelas duas espécies ocorreram frequentemente. Apesar desses resultados, é possível que a capacidade de manipulação das defesas de plantas varie entre populações de *O. ilicis*, como ocorre em *T. urticae* (MOAYERI et al., 2007; ZHANG et al., 2009), ou da resposta induzida entre variedades de café.

Independente de uma possível manipulação de defesas pela infestação da cochonilha-branca, como mencionado anteriormente, a joaninha *C. montrouzieri* foi atraída pelos voláteis das plantas de café infestadas pela cochonilha-branca, sua presa. Esse resultado era esperado, já que *C. montrouzieri* é uma espécie predadora com uma marcante preferência por cochonilhas como presa (KAIRO et al., 2013) e deve se orientar por voláteis sintetizados por rotas moduladas pelo AS, como é o caso de inimigos naturais da mosca-branca, um sugador de floema que também induz o aumento de AS como mecanismo de manipulação das defesas mediadas pelo AJ (ZHANG et al., 2013).

De modo congruente, a joaninha não foi atraída pelos voláteis emitidos pela planta de café infestada por *O. ilicis*, que não constitui uma presa. No entanto, uma alta proporção de insetos (70 e 90%) não escolheram nenhum dos tratamentos quando expostos aos voláteis da planta infestada pelo ácaro vs. planta não infestada, ou vs. ar limpo. As joaninhas que fizeram escolha nesses ensaios aparentemente não diferenciaram os odores da planta infestada por *O. ilicis* frente aos da planta não infestada ou ar limpo. Porém, esses resultados são questionáveis devido ao número insuficiente de repetições (17 e 5 insetos, FIGURA 4), apesar do esforço amostral de 58 insetos para cada ensaio. Esse comportamento de redução da movimentação do predador pode ser tanto decorrente de um efeito repelente dos voláteis das plantas infestadas pelo ácaro, como da não atratividade dessa mistura de compostos, já que não são relevantes ecologicamente no forrageamento da joaninha.

Já a exposição das joaninhas aos odores da planta infestada pela cochonilha simultaneamente aos da planta infestada pelo ácaro estimulou o caminhar dos insetos no olfatômetro, que se direcionaram preferencialmente à planta infestada pela sua presa. Devido ao aumento do AS e redução do AJ, a herbivoria pela cochonilha deve induzir uma composição distinta de voláteis daquela emitida por plantas induzidas pela herbivoria dos ácaros, que é regulada pelo aumento dos níveis de AJ e AS (GLAS et al., 2014; LEITNER; BOLAND; MITHÖFER, 2005; VILLARROEL et al., 2016), resultando em diferentes interações tritróficas.

A herbivoria do ácaro e cochonilha na mesma planta hospedeira, por sua vez, induziram a emissão de voláteis claramente repelentes para a joaninha, que preferiu odores da planta não infestada ou mesmo o ar limpo. Interessante notar que as plantas sob herbivoria múltipla testadas na olfatometria estavam altamente infestadas por cochonilhas e a contagem do número de insetos revelou que essas plantas continham cerca de quatro vezes mais presas do que plantas infestadas somente pela cochonilha (FIGURA 5). Esses resultados indicam que a seleção da cochonilha por plantas infestadas pelo ácaro-vermelho-do-cafeeiro provê um

espaço livre de inimigos naturais (*natural enemy-free space*), pois reduz a sua vulnerabilidade para um importante inimigo natural, a joaninha *C. montrouzieri* (JEFFRIES; LAWTON, 1984). Além disso, os resultados dão suporte à hipótese de que o ácaro-vermelho-do-cafeeiro e a cochonilha suprimem as defesas da planta de modo distinto à resposta induzida da planta sob herbivoria por uma das espécies, porém estudos futuros devem investigar melhor essa questão.

O efeito repelente da herbivoria múltipla para a joaninha não foi constatado somente no ensaio em que se testou o tratamento da herbivoria múltipla frente aos odores da planta infestada por *O. ilicis*. Assim como mencionado anteriormente sobre a resposta da joaninha aos voláteis da planta infestada somente pelo ácaro, grande parte dos insetos não escolheram um dos tratamentos (aproximadamente 80%) nesse ensaio, aparentemente prevalecendo o efeito dos voláteis emitidos pela planta infestada por *O. ilicis* sobre o comportamento da joaninha mesmo sob o estímulo dos voláteis repelentes da planta infestada pela herbivoria múltipla.

Assim, os resultados deste estudo sugerem que a preferência da cochonilha-branca por plantas infestadas pelo ácaro, beneficia tanto devido aos efeitos da própria planta hospedeira (efeitos *bottom-up*) quanto pela resposta do terceiro nível trófico aos voláteis da planta (efeitos *top-down*). Este é o primeiro relato na literatura mostrando que a herbivoria múltipla pode induzir uma mistura de voláteis repelentes para o terceiro nível trófico, criando um espaço livre de inimigos naturais. Além disso, este estudo apresenta uma relevância aplicada, já que a infestação pelo ácaro-vermelho-do-cafeeiro facilita a infestação pela cochonilha-branca e provavelmente interfere negativamente no controle natural por meio do recrutamento de um inimigo natural importante, a joaninha *C. montrouzieri*. Futuros estudos poderão revelar o perfil químico dos voláteis das plantas sob infestação simples e múltipla afim de investigar o papel de compostos isolados ou em mistura no comportamento da joaninha, bem como possíveis mecanismos manipulativos promovidos pelos dois herbívoros nas rotas de defesas moduladas por moléculas sinalizadoras, como o AJ e AS.

REFERÊNCIAS

- AGRAWAL, A. A.; KARBAN, R. The ecology and evolution of inducible defenses. **Quarterly Review of Biology**, v. 65, n. 2, p. 323-340, 1999.
- ALBA, J. M. et al. Spider mites suppress tomato defenses downstream of jasmonate and salicylate independently of hormonal crosstalk. **New Phytologist**, v. 205, n. 2, p. 828-840, 2015.
- ALMEIDA-CORTEZ, J. S. Herbivoria e mecanismos de defesa vegetal. In: NOGUEIRA, R. J. M. C.; ARAÚJO, E. L.; WILLADINO, L. G.; CALVALCANTE, U. M. T. (eds.). **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas**. Recife: UFRPE/Imprensa Universitária, 2005, p. 389-396.
- CHAPMAN, R. F. **The insects: structure and function**. Cambridge University Press, 1998. 788 p.
- CINGOLANI, A. M. et al. Plant functional traits, herbivore selectivity and response to sheep grazing in Patagonian steppe grasslands. **Journal of Applied Ecology**, v. 42, n.1, p. 50-59, 2005.
- CLAVIJO MCCORMICK, A. Can plant–natural enemy communication withstand disruption by biotic and abiotic factors? **Ecology and Evolution**, v. 6, n. 23, p. 8569-8582, 2016.
- COELHO, S. V. B. **Secagem e resfriamento de sementes de *Coffea arabica* L. visando o armazenamento em temperaturas supra e sub zero**. 2014. 129 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.
- DICKE, M. et al. Isolation and identification of volatile kairomone that affects acarine predator-prey interactions. Involvement of host plant in its production. **Journal of Chemical Ecology**, v.16, n. 2, p. 381-396, 1990.
- DICKE, M.; VAN LOON, J. J.; SOLER, R. T. Chemical complexity of volatiles from plants induced by multiple attack. **Nature Chemical Biology**, v. 5, n. 5, p. 317-324, 2009.
- DICKE, M.; BALDWIN, I. T. The evolutionary context for herbivore-induced plant volatiles: beyond the ‘cry for help’. **Trends in plant science**, v. 15, n. 3, p. 167-175, 2010.
- FLECHTMANN, C. H. W. Introdução à família Tarsonemidae Kramer, 1877 (Acarina) no Estado de São Paulo. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, v. 24, n. 24, p. 265-272, 1967.
- FLECHTMANN, C. A. H. Dois ácaros novos para o eucalipto, com uma lista daqueles já assinalados para esta planta. **Instituto de Pesquisa e Estudos Florestais**, v. 16, n. 23, p. 43-46, 1983.
- GLAS, J. J. et al. Defense suppression benefits herbivores that have a monopoly on their feeding site but can backfire within natural communities. **BMC biology**, v. 12, n. 1, p. 98, 2014.

JEFFRIES, M. J.; LAWTON, J. H. Enemy free space and the structure of ecological communities. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 4, n. 1, p. 269–286, 1984.

KAIRO, M. T. K. et al. *Cryptolaemus montrouzieri* (Mulsant) (Coccinellidae: Scymninae): a review of biology, ecology, and use in biological control with particular reference to potential impact on non-target organisms. **CAB Rev**, v. 8, n. 5, p. 1-20, 2013.

KANT, M. R. et al. Differential timing of spider mite-induced direct and indirect defenses in tomato plants. **Plant Physiology**, v. 135, n. 1, p. 483-495, 2004.

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**, v. 143, n. 2, p. 849-865, 2007.

KESSLER, A.; BALDWIN, I. T. Plant responses to insect herbivore: The emerging molecular analysis. **Annual Review of Plant Biology**, v. 53, n. 2, p. 299-328, 2002.

KOORNNEEF, A. et al. Open access kinetics of salicylate-mediated suppression of jasmonate signaling reveal a role for redox modulation. **Plant Physiology**, v. 147, n. 3, p. 1358-1368, 2008.

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

MACDONALD, K. P.; BACH, C. E. Resistance and tolerance to herbivory in *Salix cordata* are affected by different environmental factors. **Ecological Entomology**, v. 30, n. 5, p. 581-589, 2005.

MALLINGER, R. E.; HOGG, D. B.; GRATTON, C. Methyl salicylate attracts natural enemies and reduces populations of soybean aphids (Hemiptera: Aphididae) in soybean agroecosystems. **Journal of economic entomology**, v. 104, n. 1, p. 115-124, 2011.

MATSUSHIMA, R., et al. Intraspecies variation in the Kanzawa spider mite differentially affects induced defensive response in lima bean plants. **Journal of Chemical Ecology**, v. 12, n. 4, p. 2501–2512, 2006.

MINITAB STATISTICAL SOFTWARE, Version 14: **Minitab Inc**, State College, PA, USA, 2006.

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

MORAN, P. J.; THOMPSON, G. A. Molecular responses to aphid feeding in arabidopsis in relation to plant defense pathways. **Plant Physiology**, v. 125, n. 2, p. 1074-1085, 2001.

MORRIS, D. W. Toward and ecological synthesis: A case for habitat selection. **Oecologia**, p. 1-13, 2003.

- MUMM, R.; DICKE, M. Variation in natural plant products and the attraction of bodyguards involved in indirect plant defense. **Canadian journal of zoology**, v. 88, n. 7, p. 628-667, 2010.
- NIKI, T. et al. Antagonistic effect of salicylic acid and jasmonic acid on the expression of pathogenesis-related (PR) protein genes in wounded mature tobacco leaves. **Plant & Cell Physiology**, v. 39, n. 5, p. 500-507, 1998.
- PALLINI, A.; JANSSEN, A.; SABELIS, M. W. Odour-mediated responses of phytophagous mites to conspecific and heterospecific competitors. **Oecologia**, v. 110, n. 2, p. 179-185, 1997.
- PAREJA, M.; PINTO-ZEVALLOS, D. M. Impacts of induction of plant volatiles by individual and multiple stresses across trophic levels. In: BLANDE, J. D; GLINWOOD R. (Org.). Signaling and communication in plants. 1 ed.: **Springer International Publishing**, 2016. p. 61-93.
- PINTO-ZEVALLOS, D. M. et al. Compostos orgânicos voláteis na defesa induzida das plantas contra insetos herbívoros. **Química Nova**, v. 36, n. 2, p. 1395-1405, 2013.
- POELMAN, E. H.; VAN LOON, J. J.A.; DICKE, M. Consequences of variation in plant defense for biodiversity at higher trophic levels. **Trends in Plant Science**, v. 13, n. 10, p.534-541, 2008.
- PONZIO, C. et al. Caterpillar-induced plant volatiles remain a reliable signal for foraging wasps during dual attack with a plant pathogen or non-host insect herbivore. **Plant, cell & environment**, v. 37, n. 8, p. 1924-1935, 2014.
- PUTMAN, R. J. **Community ecology**. London: Chapman & Hall, 1994. 178 p.
- RAFAEL, J. A. et al. **Insetos do Brasil: diversidade e taxonomia**. Holos, 2012. 795 p.
- R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, University of Auckland, Auckland, Nova Zelândia, 2017.
- REIS, P. R.; ALVES, E. B.; SOUSA, E. O. Biologia do ácaro vermelho do cafeeiro, *Oligonychus ilicis* (McGregor, 1917). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 21, n. 3, p. 260-266, 1997.
- RODRIGUEZ-SAONA, C.; CRAFTS-BRANDNER, S. J.; CANAS, L. A. Volatile emissions triggered by multiple herbivore damage: beet armyworm and whitefly feeding on cotton plants. **Journal of Chemical Ecology**, v. 29, n. 3, p. 2539–2550, 2003.
- 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**, v. 36, n. 10, p. 1043-1057, 2010.

- ROTA, P.; BIRAGHI, C. *Oligonychus ilicis* (Mc Gregor): acaro tetranichide nuovo per l' Europe, fitofago su azalee, camelie e rododendri. **Informatore Agrario**, v. 43, n. 15, p. 105-107, 1987.
- SANTA-CECÍLIA, L. V. C. et al. Cochonilhas-farinhas em cafeeiros: bioecologia, danos e métodos de controle. **Boletim Técnico**, n. 79, 2007.
- SANTA-CECÍLIA, L. V. C. et al. Desenvolvimento de *Planococcus citri* (Risso, 1813) (Hemiptera: Pseudococcidae) em cafeeiros. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 31, n. 1, p. 13-15, abr. 2009.
- SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; PRADO, E.; OLIVEIRA, M. S. Sobre o condicionamento alimentar na cochonilha-branca, *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 1, p. 86-92, 2013.
- SARMENTO, R.A. et al. A herbivore that manipulates plant defence. **Ecology Letters**, v. 34, n. 2, p. 229–236, 2011.
- SCHWARTZBERG, E. G.; BOROCZKY, K.; TUMLINSON, J. H. Pea aphids, *Acyrtosiphon pisum*, suppress induced plant volatiles in broad bean, *Vicia faba*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 37, n. 1, p. 1055-1062, 2011.
- SHIMODA, T. et al. Olfactory responses of two specialist insect predators of spider mites toward plant volatiles from lima bean leaves induced by jasmonic acid and/or methyl salicylate. **Applied Entomology and Zoology**, v. 32, n. 4, p. 535–541, 2002.
- SILVA, R.; FURLONG, M. J.; WILSON, L. J.; WALTER, G. H. How Predictable Are the Behavioral Responses of Insects to Herbivore Induced Changes in Plants? Responses of Two Congeneric Thrips to Induced Cotton Plants. **PLoS ONE**, v. 8, n. 5, p. e63611, 2013.
- SILVA, R.; WALTER, G. H.; WILSON, L. J.; FURLONG, M. J. Responses of *Thrips tabaci* to odours of herbivore-induced cotton seedlings. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 151, n. 3, p. 239–246, 2014.
- STEPHENS, D. W.; JOHN R. K. Foraging theory. **Princeton University Press**, 1986.
- TEODORO, A. V.; TSCHARNTKE, T.; KLEIN, A. M. From the laboratory to the field: contrasting effects of multi-trophic interactions and agroforestry management on coffee pest densities. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 131, n. 2, p. 121-129, 2009.
- THALER, J. S. Jasmonate-inducible plant defenses cause increased parasitism of herbivores. **Nature**, v. 399, n. 1, p. 686-688, 1999.
- THALER, J. S.; HUMPHREY, P. T.; WHITEMAN, N. K. Evolution of jasmonate and salicylate signal crosstalk. **Trends in plant science**, v. 17, n. 5, p. 260-270, 2012.
- TURLINGS, T. C. J.; TUMLINSON, J. H.; LEWIS, W. J. Exploitation of herbivore-induced plant odors by host-seeking parasitic wasps. **Science**, v. 250, n. 4985, p. 1251-1253, 1990.

VILLARROEL, C. A. et al. Salivary proteins of spider mites suppress defenses in *Nicotiana benthamiana* and promote mite reproduction. **The Plant Journal**, v. 86, n. 2, p. 119-131, 2016.

WAR, A. R. et al. Herbivore induced plant volatiles: their role in plant defense for pest management. **Plant signaling & behavior**, v. 6, n. 12, p. 1973-1978, 2011.

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

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 United States of America**, v. 106, n. 50, p. 21202-21207, 2009.

ZHANG, P. J. et al. Jasmonate and ethylene signaling mediate whitefly-induced interference with indirect plant defense in *Arabidopsis thaliana*. **New Phytologist**, v.197, n. 4, p. 1291-1299, 2013.

ZHANG, P. J. et al. Suppression of jasmonic acid-dependent defense in cotton plant by the mealybug *Phenacoccus solenopsis*. **PLoS One**, v. 6, n. 7, p. 372-378, 2011.

ZHANG, P. J. et al. The mealybug *Phenacoccus solenopsis* suppresses plant defense responses by manipulating JA-SA crosstalk. **Scientific reports**, v. 5, n. 1, p. 1-7, 2015.

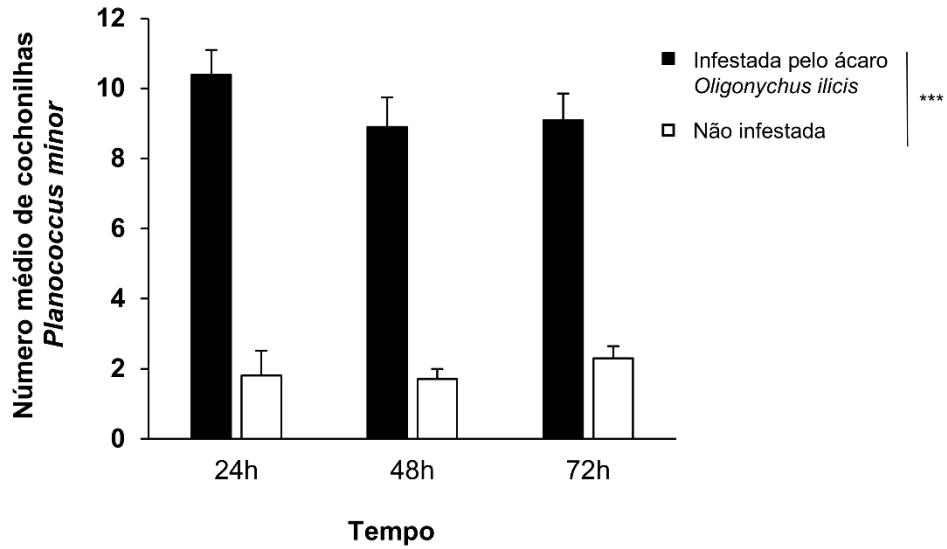
FIGURAS

Figura 1- Experimentos realizados em plantas de cafeeiro não infestadas, infestadas com *Oligonychus ilicis* e com infestação múltipla com *Planococcus minor* e *O. ilicis*. Escolha hospedeira de *P. minor* (A); Desempenho de *P. minor* (B); Olfatometria de *Cryptolaemus montrouzieri* (C).



Fonte: Do autor (2018).

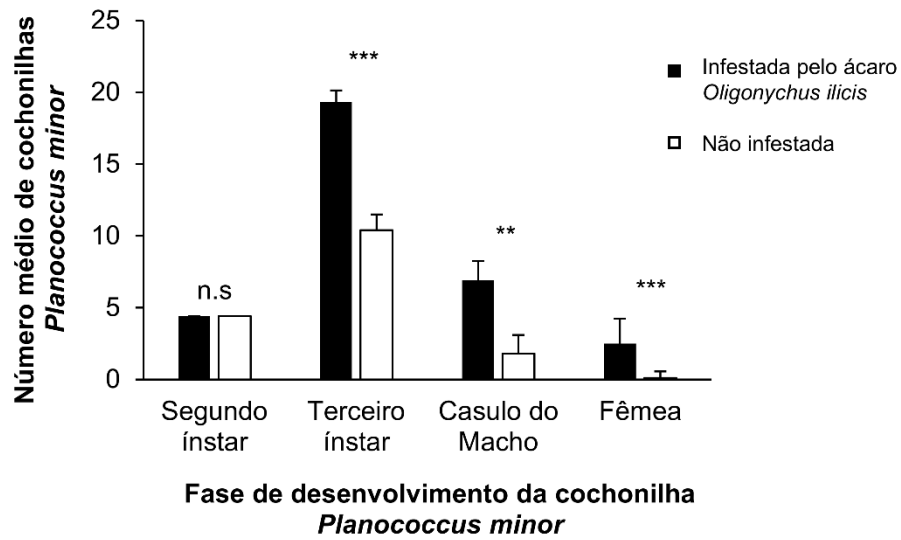
Figura 2- Teste de escolha hospedeira com ninfas de terceiro instar de cochonilha *Planococcus minor* avaliado após 24, 48 e 72 horas, em plantas de cafeeiro *Coffea arabica* infestadas e não infestadas pelo ácaro *Oligonychus ilicis* (n=10).



*** diferença significativa em 0,1% de acordo com o *Two-way* ANOVA, considerando o tempo como variável aleatória ($F_{2, 47} = 0,62$; $P = 0,541$) e tratamento como variável fixa ($F_{1, 47} = 158,11$; $P < 0,001$).

Fonte: Do autor (2018).

Figura 3- Teste de desempenho da cochonilha *Planococcus minor* em plantas de cafeeiro *Coffea arabica* infestadas e não infestadas pelo ácaro *Oligonychus ilicis* (n=10).



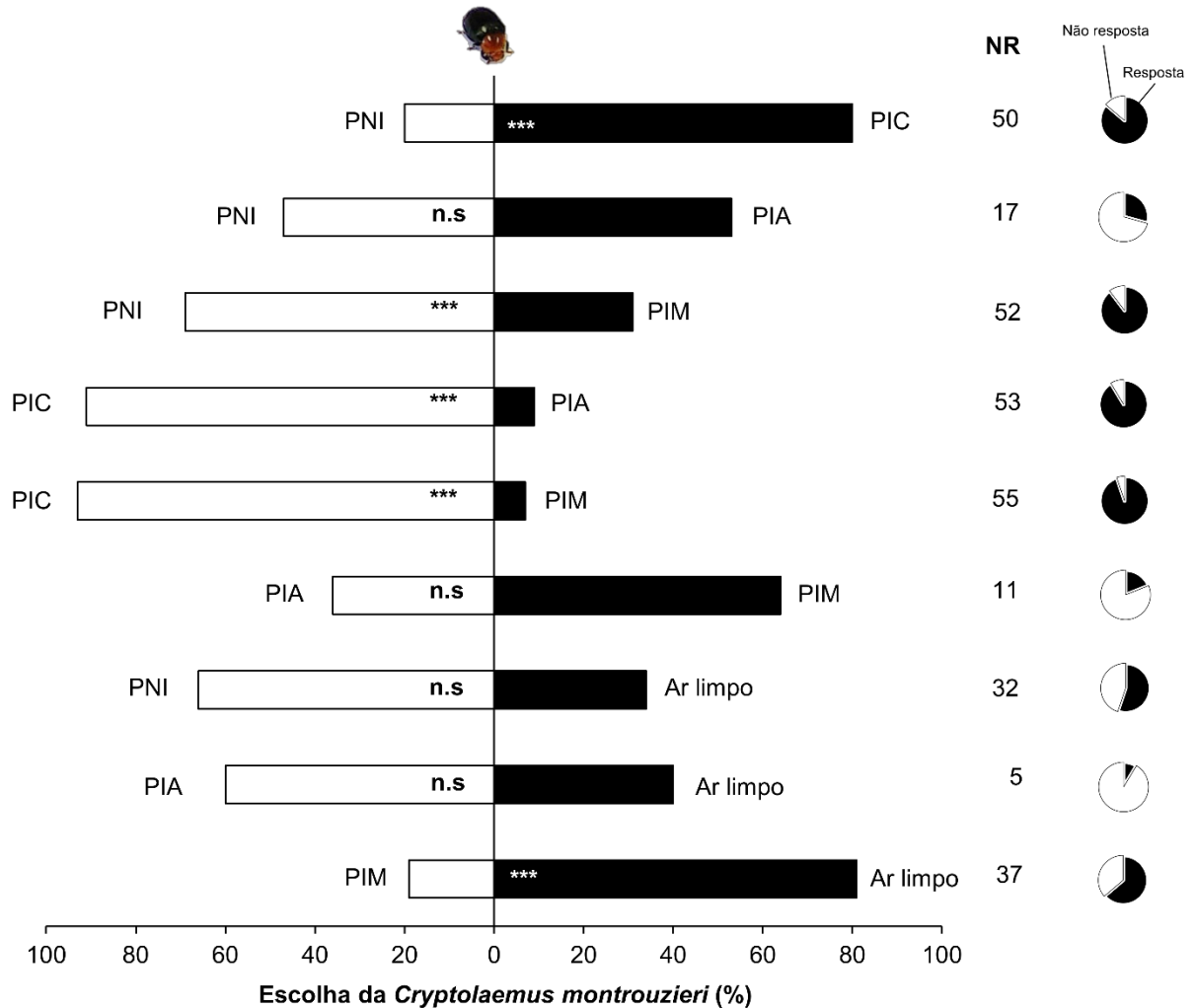
não significativo (n.s.);

** diferença significativa a 1% de acordo com o glm;

*** diferença significativa a 0,1% de acordo com o glm.

Fonte: Do autor (2018).

Figura 4- Teste de preferência olfativa da *Cryptolaemus montrouzieri* frente aos voláteis da planta de cafeeiro. As fontes de odor consistiram em: planta não infestada (PNI); planta infestada pela cochonilha (PIC); planta infestada pelo ácaro (PIA); planta infestada pela cochonilha + ácaro (PIM). À direita, os gráficos de pizza representam a proporção de insetos “não resposta” (sem escolha: branco) e insetos responsivos (escolha: preto).



NR número de respostas

*** diferença significativa a 0,1% de acordo com o teste binomial;

n.s não significativo.

Fonte: Do autor (2018).

APÊNDICE

Figura 5- Número médio de cochonilhas *Planococcus minor* encontradas em plantas de cafeeiro infestadas somente pela cochonilha (PIC) e plantas de cafeeiro infestadas com cochonilha + ácaro (PIM) usadas nos testes de olfatometria para avaliar a resposta da joaninha *Cryptolaemus montrouzieri* aos voláteis das plantas de cafeeiro (n=5).

