



ALINE MOREIRA DIAS

**RESPOSTA OLFATIVA DE *Telenomus podisi*
(HYMENOPTERA: PLATYGASTRIDAE) PARA
VOLÁTEIS DE PLANTAS INDUZIDOS POR
HERBIVORIA E OVIPOSIÇÃO DE *Euschistus
heros* (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)**

LAVRAS - MG

2015

ALINE MOREIRA DIAS

**RESPOSTA OLFATIVA DE *Telenomus podisi* (HYMENOPTERA:
PLATYGASTRIDAE) PARA VOLÁTEIS DE PLANTAS INDUZIDOS
POR HERBIVORIA E OVIPOSIÇÃO DE *Euschistus heros*
(HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)**

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.

Orientador

Dr. Martín Francisco Pareja Piaggio

LAVRAS - MG

2015

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

Dias, Aline Moreira.

Resposta olfativa de *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Platygasteridae) para voláteis de plantas induzidos por herbivoria e oviposição de *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) / Aline Moreira Dias. – Lavras : UFLA, 2015.

86 p. : il.

Dissertação (mestrado acadêmico)–Universidade Federal de Lavras, 2015.

Orientador: Martín Francisco Pareja Piaggio.

Bibliografia.

1. Parasitoide de ovos. 2. Percevejo marrom. 3. Voláteis de planta. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

ALINE MOREIRA DIAS

**RESPOSTA OLFATIVA DE *Telenomus podisi* (HYMENOPTERA:
PLATYGASTRIDAE) PARA VOLÁTEIS DE PLANTAS INDUZIDOS
POR HERBIVORIA E OVIPOSIÇÃO DE *Euschistus heros*
(HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)**

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 25 de fevereiro de 2015.

Dr. Marcus Vinicius Sampaio Universidade Federal de Uberlândia
Dr. Luís Cláudio Paterno Silveira UFLA

Dr. Martín Francisco Pareja Piaggio
Orientador

LAVRAS - MG

2015

A Deus, por tudo que tem feito em minha vida, pelo amor e cuidado constante.

Aos meus pais David e Lúcia, meus exemplos, que me ensinaram valores eternos.

Aos meus irmãos Joyce e David, meus companheiros de caminhada; independente de onde eu esteja, eles sempre enchem minha vida de alegria diversão e amor. A meu cunhado Geovane e meu sobrinho Heitor, que vieram para completar a alegria da família.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), pela oportunidade de estudo e realização do mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida durante os estudos.

Às instituições Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Fundação de Amparo à Pesquisa do Distrito Federal (FAPEDF), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo financiamento do projeto.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) Recursos Genéticos e Biotecnologia, pelo financiamento do projeto e possibilidade de realizar a pesquisa no local.

Aos doutores Marcus Vinícius Sampaio e Luís Cláudio Paterno Silveira, por aceitarem compor minha banca de defesa.

Ao meu orientador Martín Pareja, que me acompanhou durante todo o trabalho sempre de forma amigável e paciente. Cresci muito na vida e cientificamente durante o tempo de convivência, com suas críticas, sugestões e observando seu comportamento como pesquisador.

Ao meu coorientador Raúl Laumann, que me iniciou na pesquisa e me fez querer esse caminho profissionalmente. Impossível demonstrar como sou grata.

Aos doutores Miguel Borges e Maria Carolina Blassioli Moraes, por toda ajuda profissional e apoio durante a pesquisa, em especial Dra. Maria Carolina pela ajuda e paciência durante os experimentos da parte química.

Aos colegas de laboratório Alex Cortês, Isabella Grizzi, Hélio Silva, Diego Soares, Gerard Murray, Samuel Divino, Ivan Mattos, por terem feito o

ambiente de trabalho tão agradável durante esse tempo. Principalmente ao Marcio Wandré por toda ajuda durante os experimentos da parte química.

Aos meus amigos Diego Magalhaes, Pedro Schimmelpfeng, Dr. Douglas Maccagnan, Dra. Mirian Michereff, Marla Juliane Hassemer, Michely Aquino, Samantha da Silveira e Ana Carolina Lagôa. Pelo companheirismo, conversas científicas e ideias durante o trabalho quando tudo parecia que não iria “dar certo”.

Aos novos amigos que fiz em Lavras Iris Paiva, Sandra Elisa, João Fernandes, Yuri Jamyler e Maria Clara Soares. Obrigada por terem feito Lavras um lugar tão legal.

Ao Maycon Laia, por toda ajuda e dedicação durante os experimentos, sem ele não teria terminado o trabalho.

A minha família que sempre me deu força nas horas difíceis, sem eles seria impossível persistir.

Aos meus amigos de jornada pelo apoio e carinho.

E principalmente a Deus, por ter me dado vida e ser tudo para mim.

A todos, obrigada, de coração.

“Tudo o que não é eterno, é eternamente inútil.”

C.S.Lewis

RESUMO

Várias características químicas e morfológicas de plantas influenciam no forrageamento de insetos. Plantas que sofrem injúria de herbivoria e oviposição liberam diferentes compostos voláteis, os quais são atrativos para parasitoides. Essa interação é muito estudada e utilizada para aprimorar o controle biológico de pragas em lavouras. Este estudo tem como objetivo avaliar a resposta olfativa do parasitoide de ovos *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Platygasteridae) para voláteis induzidos por *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) em três espécies de plantas diferentes: milho (*Zea mays*), girassol (*Helianthus annuus*) e feijão guandu (*Cajanus cajan*) e caracterizar o perfil químico destas plantas. Para isso foi avaliada a resposta do parasitoide *T. podisi* a voláteis de cada espécie de planta com injúria e sem injúria por *E. heros* e depois foi caracterizado o perfil de voláteis de plantas de girassol, feijão guandu e milho que foram submetidas ao ataque do percevejo. Cada planta foi tratada com três fêmeas, virgens (para herbivoria), e quatro acasaladas (para oviposição e herbivoria conjuntamente), do percevejo e deixadas por 72 horas para injúria. Em bioensaios de olfatômetro em Y foram testadas as seguintes combinações: plantas sem injúria versus ar; planta com injúria versus ar; planta com injúria versus planta sem injúria e planta com injúria de herbivoria versus planta com injúria oviposição e herbivoria conjuntamente. O perfil dos voláteis das plantas foi identificado através da coleta dinâmica de *headspace* e análise em cromatógrafo gasoso acoplado a um espectômetro de massas. Não houve diferença significativa nas respostas do parasitoide *T. podisi* nas combinações planta sem injúria versus ar e plantas com injúrias de herbivoria versus planta com injúria de herbivoria e oviposição conjuntamente nas três espécies de planta. No tratamento de plantas com injúria versus ar houve um maior número de fêmea do parasitoide que preferiu odores de planta de milho com injúria de herbivoria, e maior tempo de residência no braço do olfatômetro que havia o odor de plantas de feijão guandu com injúria de herbivoria. Quando foi contrastado o odor de plantas com injúria versus planta sem injúria o parasitoide apresentou maior número de escolhas iniciais para o odor de plantas de girassol com injúria de herbivoria, plantas de milho com injúria de herbivoria e herbivoria e oviposição conjuntamente e maior tempo de residência em planta de feijão guandu com injúria de herbivoria. O perfil químico das plantas foi identificado e houve diferença qualitativa entre os compostos de plantas sem injúria e com injúria. Podemos concluir que plantas de girassol, milho e feijão guandu quando sofrem uma injúria do percevejo *E. heros* liberam voláteis que são atrativos para o parasitoide *T. podisi*.

Palavras - chave: Parasitoide de ovos. Percevejo marrom. Voláteis de planta.

ABSTRACT

Many chemical and morphological characteristics of plants influence insect foraging. Plants that suffer damage caused by herbivory and oviposition release different volatile compounds that attract parasitoids. This interaction is widely studied and used to enhance the biological control of pests in crops. In this study, we aimed at evaluating the olfactory response of the *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Platygasteridae) egg parasitoid to volatiles induced by *Euschistus heros* (Hemiptera, Pentatomidae) in three different plant species: maize (*Zea mays*), sunflower (*Helianthus annuus*) and pigeon pea (*Cajanus cajan*), as well as characterizing the chemical profile of these plants. In order to achieve this, we evaluated the response of parasitoid *T. podisi* to volatiles of each plant species, damaged or not by *E. heros*, later characterizing the profile of the volatiles of sunflower, pigeon pea and maize plants submitted to stinkbug attack. Each plant was treated with three *E. heros* virgin females (for herbivory) and four mated females (for oviposition), left for 72 hours to do damage. We tested the following combinations in Y-tube olfactometer bioassays: plants without damage against air, damaged plants against air, damaged plants against plants without damage and plants with herbivory damage against plant with herbivory + oviposition damage. The volatile profiles of the plants was identified by means of headspace dynamic collection and analysis in gas chromatography coupled to mass spectrometer. There was no difference in the responses of the parasitoid *T. podisi* to the combination of plants without damage against air and plants with herbivory damage against plant with herbivory + oviposition damage in any of the three plant species. In the treatment of damaged plants against air, there was a higher number of parasitoid females preferring the odor of maize plants with herbivory damage, and higher residence time in the olfactometer arm with the pigeon pea odor and herbivory damage. When contrasting damaged plants to plants without damage, the parasitoid showed higher number of initial choices for the odor of sunflower plants with herbivory damage, maize plants with herbivory and herbivory + oviposition damage, and greater residence time on pigeon pea plants with herbivory damage. The chemical profile of the plants was identified and showed qualitative difference between the plant compounds with and without damage. We can conclude that sunflower, maize and pigeon pea plants, when damaged by *E. heros*, release volatiles that attract the parasitoid *T. podisi*.

Keywords: Egg parasitoid. Stinkbug. Plant volatile.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Adulto do percevejo marrom, <i>Euschistus heros</i>	22
Figura 2	Parasitoide <i>Telenomus podisi</i> adulto parasitando ovos de <i>Euschistus heros</i>	24
Figura 3	Detalhe da preparação das plantas para os experimentos de indução de defesas por injúria de percevejos. Planta de girassol em estágio V3 com fêmeas de <i>E. heros</i> envolvida com saco de plástico micro perfurado.....	36
Figura 4	Sistema de bioensaios com olfatômetro em “Y”.....	38
Figura 5	Sistema push-pull de coleta de voláteis de plantas. Em detalhe câmaras de vidro com plantas de milho no terceiro estágio vegetativo.....	41
Figura 6	Primeira escolha (A) e o tempo de residência (B) do parasitoide <i>T. podisi</i> de bioensaios em olfatômetro tipo Y onde foi oferecido ar limpo nos dois braços do olfatômetro.....	44
Figura 7	Primeira escolha (A) e o tempo de residência (B) do parasitoide <i>T. podisi</i> de bioensaios em olfatômetro tipo Y onde foram oferecidos odores de planta de feijão guandu com os seguintes tratamentos feitos por fêmeas de <i>E. heros</i> : H = herbivoria; S.I. = planta sem injúria; H+O = herbivoria+oviposição e Ar = ar limpo.....	46
Figura 8	Primeira escolha (A) e o tempo de residência (B) do parasitoide <i>T. podisi</i> de bioensaios em olfatômetro tipo Y onde foram oferecidos odores de planta de girassol com os seguintes tratamentos feitos por fêmeas de <i>E. heros</i> : H = herbivoria; S.I. = planta sem injúria; H+O = herbivoria+oviposição e Ar = ar limpo.....	48

Figura 9 Primeira escolha (A) e o tempo de residência (B) do parasitoide *T. podisi* de bioensaios em olfatômetro tipo Y onde foram oferecidos odores de planta de milho com os seguintes tratamentos feitos por fêmeas de *E. heros*: H = herbivoria; S.I. = planta sem injúria; H+O = herbivoria+oviposição e Ar= ar limpo ...50

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 Compostos identificados em plantas de feijão guandu submetidas a diferentes tratamentos de injúria, a partir de extratos de aeração. Os compostos foram identificados por análise de CG_EM51
- Tabela 2 Compostos identificados em plantas de girassol submetidas a diferentes tratamentos de injúria, a partir de extratos de aeração. Os compostos foram identificados por análise de CG_EM.....53
- Tabela 3 Compostos identificados em plantas de milho, submetidas a diferentes tratamentos de injúria, a partir de extratos de aeração. Os compostos foram identificados por análise de CG_EM.....55

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVO	18
2.1	Objetivos específicos	18
3	HIPÓTESES	19
4	REFERENCIAL TEÓRICO	20
4.1	As culturas de girassol, feijão guandu e milho	20
4.2	O percevejo marrom <i>Euschistus heros</i>	21
4.3	O parasitoide de ovos <i>Telenomus podisi</i>	23
4.4	Defesas de plantas	25
4.5	Interações tri-tróficas mediadas por voláteis de plantas	26
4.6	Parasitoides de ovos no controle biológico	28
4.7	Interação tri-trófica e aplicação no controle biológico no sistema de estudo	30
5	MATERIAL E MÉTODOS	33
5.1	Criação de <i>Euschistus heros</i>	33
5.2	Criação de <i>Telenomus podisi</i>	33
5.3	Cultivo das plantas	34
5.4	Indução de defesas	35
5.5	Bioensaios	36
5.6	Caracterização do perfil químico dos COVs	39
5.7	Análises Estatísticas	42
5.8	Origem dos compostos	42
6	RESULTADOS	44
7	DISCUSSÃO	56
8	CONCLUSÃO	63
	REFERÊNCIAS	64
	ANEXOS	77

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores e exportadores agrícolas no mundo (BRASIL, 2009). Extensas áreas são ocupadas com culturas, predominando as monoculturas, como é o caso da soja. Esses sistemas de produção possuem grandes desvantagens ecológicas, uma vez que reduzem a biodiversidade do local e promovem o surgimento de pragas relacionadas à cultura.

Os percevejos da família Pentatomidae são, na atualidade, uma das principais pragas agrícolas. Estes insetos sugam as sementes e outras partes da planta causando danos a uma vasta área e variedade de culturas (CORRÊA; FERREIRA; MOSCARDI, 1995; PANIZZI, 1997). Dentre os membros dessa família o percevejo marrom, *Euschistos heros* (Fabricius, 1749), é considerado a praga de maior destaque na soja no Brasil (PANIZZI, 1987, 2013). Ocorre desde o Paraná (PANIZZI; OLIVEIRA, 1998) até a região centro-oeste (BORGES et al., 2011; SUJII et al., 2002).

A ocorrência do percevejo *E. heros* não é observada somente em culturas de soja, já que também utiliza como hospedeiros alternativos uma grande variedade de plantas, como outras leguminosas, solanáceas, brassicáceas, euforbiáceas e asteráceas (PANIZZI, 1997; PANIZZI; VIVAN, 1997). Por exemplo, em culturas de girassol *E. heros* pode causar danos qualitativos e quantitativos nos aquênios ao se alimentar (MALAGUIDO; PANIZZI, 1998). Em plantações de milho o percevejo marrom *E. heros* tem se tornado uma praga frequente provocando danos às plantas nos primeiros estágios de desenvolvimento vegetativo (COPATTI; OLIVEIRA, 2011).

Para o controle de *E. heros* são utilizados predominantemente agrotóxicos. Os inseticidas são uma ferramenta eficiente para o controle imediato da praga, mas o uso indiscriminado destes provoca, além da resistência

das pragas, a eliminação de todos os insetos benéficos à cultura, como os inimigos naturais da praga, poluição do solo e rios, e principalmente risco à saúde pública (METCALF, 1994; SMITH, 1970).

Tendo em vista os riscos causados pelo uso indiscriminado de agrotóxicos, a filosofia do manejo integrado de pragas (MIP) constitui a alternativa mais viável. Dentre as estratégias utilizadas no MIP, para o controle populacional de *E. heros*, o incremento do controle biológico mediante a atração de inimigos naturais tem grande potencial (CORRÊA; FERREIRA; MOSCARDI, 1995).

Entre os principais agentes de controle biológico de percevejos, encontram-se os parasitoides de ovos, entre eles *Telenomus podisi* (Ashmead, 1881) (Hymenoptera: Platygasteridae) que é o principal inimigo natural de *E. heros* em cultivos de soja (MEDEIROS et al., 1997, 1998; PACHECO; CORRÊA-FERREIRA, 2000). A vantagem de se usar um parasitoide de ovos se dá pelo fato de que este inseto pode matar o hospedeiro antes que ele se desenvolva e assim causar algum dano à cultura.

Os ovos de percevejos são hospedeiros pouco conspícuos e, conseqüentemente, difíceis de encontrar no campo, com isso o parasitoide *T. podisi* utiliza diversas pistas durante seu forrageio, que podem ser de natureza química e física. Dentre os sinais de natureza física estão cor do substrato (), tamanho e cor do hospedeiro (AQUINO et al., 2012; BORGES et al., 1999) e sinais vibracionais transmitidos através do substrato vegetal durante a comunicação sexual do hospedeiro (LAUMANN et al., 2011). Os sinais de natureza química são os feromônios de percevejos (BORGES et al., 2011), caimônios provenientes dos ovos (LAUMANN et al., 2010), rastros deixados nas folhas pelo percevejo (BORGES et al., 2003) e voláteis de plantas (LOPES et al., 2012; MICHEREFF et al., 2011; MORAES et al., 2005, 2009).

Geralmente parasitoides são atraídos por pistas de longa distância, como voláteis de plantas presentes no habitat de seus hospedeiros, em geral a resposta a este tipo de estímulo é inata (BRUCE; PICKETT, 2007; DICKE et al., 1990). Contudo, as plantas quando sofrem algum tipo de estresse podem liberar voláteis ainda mais atrativos para os inimigos naturais. Injúrias pela alimentação (PARÉ; TUMLINSON, 1999) ou oviposição (HILKER; MEINERS, 2006) de insetos herbívoros podem induzir à liberação de uma nova mistura de voláteis que resultam em pistas atrativas para os inimigos naturais de herbívoros (HILKER; MEINERS, 2002). Assim estes voláteis fazem parte das defesas indiretas das plantas e são conhecidos, genericamente, como voláteis de plantas induzidos (VPI) e defesas induzidas (DI).

Estudos com o sistema tri-trófico: soja, *E. heros* e *T. podisi* mostraram que injúrias do percevejo (alimentação e oviposição) induzem à liberação de voláteis em soja que resultam atrativos para o parasitoide, e que esta indução depende do genótipo, já que variedades de soja mostraram comportamento diferencial frente à indução (LOPES et al., 2012; MICHEREFF et al., 2011, MORAES et al., 2005, 2009). Estes estudos feitos em laboratório deram suporte para estudos em campo onde também ocorreu a atração do parasitoide *T. podisi* (VIEIRA et al., 2013, 2014).

Uma vez que o parasitoide *T. podisi* é atraído por voláteis de diversas espécies de leguminosas, como soja e feijão guandu (MORAES et al., 2005), e que *E. heros* possui hábito polífago, é de grande relevância o estudo de interações tri-tróficas em diversos sistemas que incluam outras espécies vegetais, que também são hospedeiras de *E. heros*, como milho e girassol. Assim o objetivo deste trabalho foi avaliar a indução de defesas em três espécies de plantas cultivadas de grande relevância agrônômica como girassol, milho e feijão guandu. As metas são: 1- incrementar o conhecimento sobre as defesas de plantas induzidas por percevejos; 2- estabelecer quais plantas podem ser atrativas

para os parasitoides após a injúria de insetos herbívoros. Estes conhecimentos podem ser fundamentais para desenvolver estratégias de manejo de inimigos naturais através do consórcio de diversas culturas que sofrem o ataque de *E. heros* visando ao incremento do controle biológico.

2 OBJETIVO

Avaliar a atração de *T. podisi* para os compostos orgânicos voláteis de plantas de girassol, feijão guandu e milho, induzidos por herbivoria e herbivoria conjuntamente à oviposição de *E. heros* .

2.1 Objetivos específicos

Avaliar por meio de bioensaios comportamentais a resposta olfativa de *T. podisi* a voláteis de plantas de girassol, feijão guandu e milho, induzidos por herbivoria e por herbivoria e oviposição de *E. heros*;

Avaliar se o parasitoide *T. podisi* consegue discriminar os voláteis de planta de girassol, feijão guandu e milho, induzidos por herbivoria e por herbivoria e oviposição conjunta do percevejo *E. heros*, mostrando preferência por voláteis de alguma planta em particular;

Analisar o perfil químico dos COVs liberados por plantas de girassol, feijão guandu e milho, induzidos por herbivoria e por oviposição e herbivoria do herbívoro *E. heros*.

3 HIPÓTESES

Neste trabalho foram testadas três hipóteses relacionadas à atração de *T. podisi* para plantas de milho, girassol e feijão guandu:

- a) plantas de milho, girassol e feijão guandu no terceiro estágio vegetativo quando injuriadas por herbivoria e/ou oviposição do percevejo *E. heros* emitem voláteis que são atrativos para o parasitoide *T. podisi*;
- b) a resposta olfativa preferencial do parasitoide varia dependendo da injúria realizada pelo herbívoro;
- c) a resposta olfativa preferencial do parasitoide varia entre as diferentes espécies de planta.

Foram testadas duas hipóteses relacionadas aos compostos químicos liberados que também serão avaliadas:

- a) o perfil químico dos voláteis induzidos pode variar dependendo da espécie da planta;
- b) o perfil químico dos voláteis induzidos pode variar dependendo da injúria (herbivoria ou oviposição) realizada na planta.

4 REFERENCIAL TEÓRICO

4.1 As culturas de girassol, feijão guandu e milho

Entre os produtos exportados no Brasil estão o milho e o girassol. Estas culturas são tanto produzidas por grandes produtores, quanto por pequenos, sendo que entre os pequenos produtores há o cultivo de feijão guandu para subsistência ou consórcios com outros cultivos (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA, 2011).

A produção e consumo de milho ocorre de forma ampla em diversos países. Contudo, no Brasil, 30% dos produtores produzem em áreas pequenas, menores que um hectare, e só contribuem com 1,9% da produção total (EMBRAPA, 2011). Estes produtores, em geral, não têm acesso a tecnologias de produção e insumos para mitigar a perda de produtos devido a herbívoros. Grandes produtores utilizam agrotóxicos e plantas transgênicas para o controle de pragas, porém, estes métodos, além dos efeitos prejudiciais ao meio ambiente e à saúde, em geral, são de alto custo e tornam-se inacessíveis ao pequeno produtor. Uma alternativa ecologicamente e economicamente viável é o controle biológico.

Vários países realizam o controle de pragas através do consórcio de culturas. Por exemplo, estudos realizados na Nigéria mostram que o feijão guandu apresenta um grande potencial como planta de refúgio no controle de *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) (Hübner) em plantações de quiabo *Abelmoschus esculentus* (Malvaceae) (RATNADASS et al., 2014). A agricultura de subsistência é predominante em quase toda região africana, e para melhorar a produção de pequenos produtores de milho e sorgo estudos vêm sendo realizados na região, como o a implementação da estratégia de *push-pull* nessas culturas (COOK; KHAN; PICKETT, 2007).

Em países subdesenvolvidos as culturas de girassol, feijão guandu e milho são de grande importância para pequenos produtores e agricultores familiares (ABASS et al., 2014). Considerando que estas culturas são importantes na agricultura de subsistência, que nestas situações sofrem o ataque de diversas pragas e que o controle biológico é mais fácil de estabelecer em pequenas propriedades, o estudo de interações tri-tróficas visando ao controle biológico é muito importante.

4.2 O percevejo marrom *Euschistus heros*

O percevejo marrom *E. heros* (Figura 1) é uma praga de grande importância agrícola, ocorrendo principalmente em culturas de soja, sendo registrado em culturas existentes em todo o território brasileiro (BORGES et al., 2011; CORRÊA; FERREIRA; MOSCARDI, 1995; PANIZZI, 2013; PANIZZI; OLIVEIRA, 1998; SUJII et al., 2002). No campo, tanto o adulto quanto ninfas se alimentam da soja em vários estágios fenológicos da planta, sendo que ao se alimentarem das sementes causam danos, uma vez que as enzimas salivares causam deformação no tecido e diminuição no tamanho do grão e, conseqüentemente, perda de seu valor econômico (SILVA et al., 2012; SOUZA et al., 2013).



Foto: Antônio A. S. Neto.

Figura 1 Adulto do percevejo marrom, *Euschistus heros*

Mesmo sendo uma praga polífoga, muitas vezes são mais seletos quanto a locais de oviposição, pois as ninfas precisam de componentes essenciais para seu desenvolvimento (AZAMBUJA; DEGRANDE; PEREIRA, 2013; PANIZZI 1997). Fatores ambientais como temperatura e umidade afetam de forma direta a sobrevivência de *E. heros*, contudo sua alimentação além de diretamente ligada a sua sobrevivência também influencia na composição feromonal produzida por machos (MORAES et al., 2008a).

Sabendo que *E. heros* é presente em diversas culturas, entre elas girassol, feijão guandu e milho (COPATTI; OLIVEIRA, 2011; MALAGUIDO; PANIZZI, 1998). Ele se desenvolve bem em plantas de feijão e soja (AZAMBUJA; DEGRANDE; PEREIRA, 2013; MORAES et al., 2008b) e nessas culturas ocorre a presença de seus inimigos naturais (PANIZZI, 1997), é importante saber se há o controle populacional de *E. heros* mediante inimigos naturais quando estes estão presentes em outras plantas hospedeiras.

Dada a importância econômica do percevejo têm sido realizados vários estudos acerca de sua biologia, fisiologia (AZAMBUJA; DEGRANDE;

PEREIRA, 2013; MORAES et al., 2008a) e técnicas de criação massal (SILVA et al., 2008). Esses estudos são primordiais para o estabelecimento de técnicas de controle da praga associadas ao MIP, como monitoramento da praga através de armadilhas com iscas de feromônio (BORGES et al., 2011), estudos de preferência de oviposição em diferentes substratos (SILVA; PANIZZI, 2009), uso de frequências sonoras no substrato vegetal que causará confusão no reconhecimento para a cópula e atração de inimigos naturais por comunicação vibracional do percevejo (LAUMANN et al., 2007, 2011) ou voláteis induzidos de plantas (VIEIRA et al., 2013, 2014).

4.3 O parasitoide de ovos *Telenomus podisi*

Os insetos da ordem Hymenoptera representam a maior parte do grupo classificado como parasitoides, e dentre eles existem aqueles que são parasitoides de ovos, que em seu estágio imaturo vivem como parasitas desenvolvendo-se dentro de ovos de outros artrópodes (FATOUROS et al., 2008; GODFRAY, 1994). O parasitoide *T. podisi* (Figura 2) parasita várias espécies de pentatomídeos em toda região sul, sudeste e centro-oeste do Brasil, porém preferencialmente o percevejo *E. heros* é a principal praga de soja na região Centro-Oeste (LAUMANN et al., 2009; SUJII et al., 2002).



Figura 2 Parasitoide *Telenomus podisi* adulto parasitando ovos de *Euschistus heros*

Tendo em vista sua grande eficiência em campo (VIEIRA et al., 2013, 2014), *T. podisi* é considerado um potencial agente de controle biológico de pentatomídeos relacionados a diversas culturas. Entretanto, dada a dificuldade de criação massal, ao não se dispor de uma dieta artificial, a utilização no campo em programas de controle biológico inundativo é pouco viável, mesmo com esforços de pesquisa relacionados à estocagem de ovos do hospedeiro congelados para criação massal (CINGOLANI; GRECO; LILJESTHRÖM, 2014; FAVETTI; BUTNARIU; DOETZER, 2014; ZHOU et al., 2014). Sendo assim o manejo comportamental visando ao controle biológico conservativo (que utiliza populações naturais) pode ser uma alternativa eficiente. Estudos que avaliam a atração do parasitoide por estímulos visuais e sonoros (AQUINO et al., 2012; LAUMANN et al., 2011), por cairomônios do hospedeiro (SILVA et al., 2006) ou sinomônios de plantas (MACHADO et al., 2014) podem contribuir para este objetivo.

4.4 Defesas de plantas

As plantas produzem metabólitos primários, os quais são essenciais para sua sobrevivência, como açúcares, aminoácidos e proteínas. A partir destes metabólitos primários conseguem produzir metabólitos secundários, como álcoois, alcaloides, terpenoides, entre outros (FRAENKEL, 1959), os quais podem atuar na sua defesa contra herbívoros. Esta defesa pode ser direta, atuando diretamente sobre o herbívoro como no caso de compostos tóxicos como terpenoides. As defesas diretas também podem se originar em estruturas morfológicas das plantas como tricomas, cera e espinhos (KOST; HEIL, 2005). Adicionalmente, os metabólitos secundários podem atuar como defesas indiretas quando estão relacionados à atração de inimigos naturais que atacarão o herbívoro, evitando assim que este cause prejuízo à planta (POECKE; DICKE, 2004).

A defesa pode se manifestar de forma constitutiva, com compostos que agem de forma preventiva a ataques, tais como terpenoides, alcaloides, compostos fenólicos, dentre outros tantos metabólitos secundários, os quais são tóxicos a herbívoros. E pode ser induzida, isto é, quando algum estímulo externo à planta ativa a defesa, como oviposição, herbivoria, defecação ou voláteis de outra planta (SCHOONHOVEN; LOON; DICKE, 2005).

As plantas podem perceber a presença de herbívoros e induzir defesas diretas como a expressão de genes controladores da síntese de proteínas de defesas em folhas de soja quando essas são atacadas pelo percevejo marrom *E. heros* (TIMBÓ et al., 2014), ou indiretas, como a produção de nectários extraflorais, uma forma de recompensa para formigas que protegerão a planta hospedeira do ataque de herbívoros (HEIL, 2008; PERREIRA; TRIGO, 2013); também através da indução de voláteis que são atrativos aos inimigos naturais do herbívoro (DICKE et al., 1990; DICKE; LOON, 2000).

4.5 Interações tri-tróficas mediadas por voláteis de plantas

Muitos metabólitos secundários desempenham função de aleloquímico e podem ser liberados na forma de compostos orgânicos voláteis (COVs). Esses compostos podem mediar interações entre plantas e outros organismos (BORGES et al., 1999; DEBOER, 2008; DICKE; BALDWIN, 2010; HILKER; MEINERS, 2010; KARBAN; MYERS, 1989; MORAES; PARE, 1998; PASHALIDOU et al., 2010; POECKE; DICKE, 2004).

Quando acontece dano mecânico são liberados os voláteis verdes das folhas (do inglês “green-leaf-volatiles” - GLV), compostos formados por aldeídos, álcoois e ésteres de seis carbonos, como (*Z*)-3-acetato de hexenila e (*E*)-2-hexenal, que são originados na rota metabólica das lipoxigenases (GATEHOUSE, 2002). Entretanto os GLVs sozinhos muitas vezes não são atrativos para os inimigos naturais. Junto com a injúria mecânica, enquanto o herbívoro se alimenta, a saliva entra em contato com o tecido vegetal deteriorado e induz vias metabólicas, como a via octadecanoide, a do ácido chiquímico e a do etileno levando à produção e liberação de compostos como monoterpenos e sesquiterpenos atrativos a inimigos naturais (ALBORN et al., 1997).

A atração do inimigo natural relacionada a voláteis liberados somente quando a saliva do hospedeiro entra em contato com a planta é fundamental, uma vez que o inimigo natural necessita do indicativo de pistas confiáveis que indiquem a presença do seu hospedeiro ou presa. Em um estudo recente realizado com plantas de arroz (*Oryza sativa* L.), herbívoro *Tibraca limbativentris* Stal. (Hemiptera: Pentatomidae) e os parasitoides de ovos *Trissolcus basalus* (Wollaston) (Hymenoptera, Platygasteridae) e *T. podisi*, foi observado que a defesa induzida da planta também pode afetar diretamente o herbívoro, uma vez que as fêmeas de *T. limbativentris* preferiram voláteis de plantas que não sofreram injúria de herbivoria de seus coespecíficos a voláteis

de plantas que sofreram injúria. Adicionalmente estes voláteis afetaram o comportamento do inimigo natural, visto que o parasitoide *T. podisi* apresentou preferência por voláteis de plantas que sofreram herbivoria de fêmeas do percevejo e não apresentou preferência por voláteis de plantas que sofreram herbivoria de machos do percevejo. Este resultado mostra que plantas podem produzir pistas, através de seus voláteis, que são específicas para os inimigos naturais (MELO et al., 2014).

A indução de voláteis pode ser sistêmica, assim quando a planta sofre injúria de herbivoria em qualquer parte vegetal como: tecido foliar (GIRLING; HASSALL, 2008), nas sementes (STEIDLE; FISCHER; GANTERT, 2005) ou nas raízes (RASMANN et al., 2005; SOLER et al., 2012), ocorre a produção e liberação de voláteis de defesa em toda a planta, não somente na região onde foi realizada a injúria (RODRIGUEZ-SAONA et al., 2010).

Além da resposta inata a determinados voláteis de plantas, os inimigos naturais que forrageiam em ambientes variáveis (temporal e espacialmente), em especial parasitoides, podem aprender a relacionar a composição específica de uma mistura de voláteis liberados pelas plantas com a presença de seu hospedeiro, fenômeno conhecido como aprendizado associativo (BLEEKER et al., 2006; TURLINGS et al., 1993; VET; LEWIS; CARDE, 1995). Devido ao aprendizado associativo, a resposta do inimigo natural a voláteis induzidos pode ser variável durante a busca de seus hospedeiros, podendo mudar seu comportamento quando há uma experiência prévia. Em um estudo foi observado que o parasitoide *Cotesia marginiventris* Cresson (Hymenoptera: Braconidae) responde de forma inata a odores de plantas de milho induzidos por injúria de herbivoria de *Spodoptera* spp., contudo, após ter experiências negativas (uma planta sem o hospedeiro), sua resposta é alterada, e passa a preferir odores de plantas de outras espécies onde encontraram seus hospedeiros (COSTA et al., 2010).

Parasitoides de ovos têm se adaptado para reconhecerem voláteis liberados pela planta quando ela sofre injúria de oviposição (HILKER; MEINERS, 2006). Tamiru et al. (2011) observaram que as fêmeas do parasitoide de ovos *Trichogramma bournieri* Pintureau (Hymenoptera: Trichogrammatidae) foram atraídas para os voláteis de planta de milho crioulo que foram expostos a oviposição da broca do caule, *Chilo partellus* Swinhoe (Lepidoptera: Crambidae). Os voláteis induzidos pela oviposição de *C. partellus* também foram atrativos ao parasitoide de larvas, *Cotesia sesamiae* Cameron (Hymenoptera: Braconidae).

Quando as folhas de *Ulmus minor* Mill. sofrem injúria pela oviposição do coleóptero *Xanthogaleruca luteola* Müller (Coleoptera: Chrysomelidae), o parasitoide *Oomyzus gallerucae* Fonscolombe (Hymenoptera: Eulophidae) é capaz de discriminar voláteis liberados pelas plantas com injúria, tanto com a presença do ovo, ou quando eles foram retirados antes da realização do bioensaio (MEINERS; HILKER, 1997, 2000). O mesmo foi visto com o parasitoide de ovos de lepidópteros *Trichogramma brassicae* Bezdeko (Hymenoptera: Trichogrammatidae), ele foi atraído por voláteis de folhas de couve-de-bruxelas (*Brassica oleracea*) induzidas por oviposição de *Pieris brassicae* L. (Lepidoptera: Pieridae). As fêmeas do parasitoide quando acasaladas preferiram os discos que continham folhas de couve-de-bruxelas que foram tratados por oviposição, tanto com a presença ou ausência do ovo, aos discos controle (Planta sem injúria alguma) (FATOUROS et al., 2005).

4.6 Parasitoides de ovos no controle biológico

O controle biológico consiste em reduzir a densidade de uma população praga utilizando outro ser vivo antagonista (predador, parasita ou patógeno) a ela, evitando danos econômicos. Quando devidamente aplicada esta forma de

controle não polui, não interfere na biodiversidade do agroecossistema e não seleciona pragas resistentes (COUTINOT et al., 2013; PARRA et al., 2002). Ele é classificado como clássico, quando há a importação de um inimigo natural e a introdução de forma inoculativa, pode ser natural quando ocorre a conservação dos inimigos naturais nativos, ou inundativo quando se realizam liberações de agentes de controle biológico que foram criados e mantidos na forma de criação massal (PARRA et al., 2002). Devido ao seu sucesso, o controle biológico é uma das principais formas do controle de pragas em casa de vegetação em países europeus (LENTEREN, 2012; LENTEREN; WOETS, 1988; PILKINGTON et al., 2010), modelo que pode ser seguido para outras culturas e sistemas de produção.

No Brasil, programas de controle biológico em culturas de milho, cana-de-açúcar, soja e tomate utilizam parasitoides de ovos da família Trichogrammatidae, que muitas vezes ocorrem naturalmente no campo (PARRA et al., 2002), e são eficientes parasitoides de lepidópteros, praga de grande importância agrícola. Na China, os parasitoides da família Trichogrammatidae são criados massalmente, e quando acontecem picos populacionais da lagarta do algodão, *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), pequenos cartões com ovos parasitados são distribuídos nos campos e em alguns dias os parasitoides eclodem e realizam o controle da praga (LUO; NARANJO; WU, 2014). Outro importante inimigo natural é o parasitoide *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) que é especializado no parasitismo de ovos de *Spodoptera* spp., vários estudos estão sendo conduzidos para utilização de *T. remus* como agente de controle biológico destes noctuídeos (POMARI et al., 2013).

O comportamento de forrageio e de seleção de hospedeiros (reconhecimento e aceitação) dos parasitoides é mediado por diferentes tipos de estímulos, principalmente visuais, olfativos e gustativos (DESANTIS et al.,

2008). No caso de parasitoides de ovos, estes estímulos podem ser diretos, provenientes de ovos do hospedeiro (DAUPHIN et al., 2009; FATOUROS et al., 2008; GAZIT; LEWIS; TUMLINSON, 1996; STRAND; VINSON, 1983) ou indiretos, provenientes de plantas ou de outros estágios do ciclo de vida do hospedeiro (JIAWEI et al., 1982). Para um uso eficiente dos agentes de controle biológico é necessário um amplo conhecimento de aspectos físicos, biológicos, fisiológicos e ecológicos dos organismos e dos sistemas nos quais será implantado esse método como controle populacional.

4.7 Interação tri-trófica e aplicação no controle biológico no sistema de estudo

Atinando para a importância e eficiência de *T. podisi* como inimigo natural de *E. heros*, há 10 anos vêm sendo realizados vários trabalhos relacionados a interações tri-tróficas destes organismos. Moraes et al., em 2005, observaram que plantas de soja e feijão guandu ao sofrerem injúria de herbivoria por *E. heros* mudam o perfil químico dos VOCs e o parasitoide *T. podisi* é atraído por esses voláteis. Posteriormente em experimentos com plantas de soja, da variedade BR 16, quando sofrem injúria de herbivoria, oviposição e injúria conjunta (Herbivoria +Oviposição) de *E. heros*, foi demonstrado que *T. podisi* foi atraído somente ao tratamento que continha injúria de herbivoria, e que o perfil químico mudou quantitativamente entre os tratamentos (MORAES et al., 2008b).

Cada espécie vegetal possui um padrão específico de expressão de seu perfil químico, sabendo disto, e que a injúria de herbivoria do percevejo marrom *E. heros* induz à defesa indireta em plantas de soja, Michereff et al. (2011) testaram a atração do parasitoide *T. podisi* a plantas de soja das cultivares Silvânia, Dowling e IAC100 com injúria de herbivoria, oviposição, e oviposição

simultânea à herbivoria pelo percevejo *E. heros* feitos continuamente durante 96 horas. As fêmeas do parasitoide preferiram os tratamentos de herbivoria e injúria simultânea dos cultivares Dowling (com 72 e 96 horas de dano) e IAC100 (com 96 horas de dano), quando contrastado com plantas sem injúria. Posteriormente testou-se a resposta olfativa de *T. podisi* a voláteis de plantas de soja induzidos pelo dano de herbivoria de *E. heros* separadamente ou conjuntamente com o percevejo *N. viridula*, e o parasitoide teve um maior número de escolhas iniciais a plantas tratadas somente com injúria de *E. heros*, seu hospedeiro preferencial (LOPES et al., 2012).

Diversos compostos voláteis são liberados após a injúria do percevejo *E. heros* em plantas de soja do cultivar Dowling. Foram selecionados quatro compostos, (*E,E*)- α -farneseno, salicilato de metila, (*Z*)-3-acetato de hexenila, e (*E*)-2-octen-1-ol, preparadas soluções destes compostos isoladamente ou misturas em diferentes concentrações e testadas em bioensaios de olfatométrica à preferência do parasitoide *T. podisi* aos tratamentos de diferentes extratos contrastados ao solvente n-hexano. Dentre os compostos testados isoladamente o parasitoide preferiu somente (*E,E*)- α -farneseno na concentração de 10^{-5M} , e nos bioensaios de mistura apresentou maior tempo de residência no braço que continha a mistura (*E,E*)- α -farneseno+ salicilato de metila na concentração de 10^{-5M} (MICHEREFF et al., 2013).

Estudos mostram que os fitohormônios voláteis, salicilato de metila e jasmonato de metila, servem como moléculas sinalizadoras ativando o sistema defensivo das plantas, principalmente as vias metabólicas relacionadas com defesas induzidas por herbivoria (DAS et al., 2013). Em um estudo realizado por Moraes et al. (2009) pôde-se comprovar que a aplicação de cis-jasmone em plantas de soja induziu à mesma via de defesa que a injúria por herbivoria do percevejo marrom *E. heros* induz. As plantas induzidas por cis-jasmone produziram especificamente componentes de defesa como: camfeno, mirceno,

(*E*)-ocimeno, salicilato de metila e (*E,E*)-4,8,12-trimetiltrideca-1,3,7,11-tetraeno. Estas plantas atraíram o parasitoide *T. podisi* em testes em olfatometria contrastando com plantas sem indução.

O efeito da indução de plantas de soja com cis-jasmone nos inimigos naturais foi avaliado em experimentos de campo com maior escala espacial e temporal. Vieira et al. (2013) trabalharam em um campo de soja dividido em parcelas, onde as plantas de algumas parcelas não receberam tratamento (parcelas controle) e as plantas de outras parcelas foram tratadas com aplicação exógena de cis-jasmone, via pulverização manual. Em cada parcela foram distribuídas armadilhas adesivas amarelas para o monitoramento dos insetos no local. Quando foi avaliado o número de indivíduos em cada armadilha amarela, houve um maior número de parasitoides de família Platygastridae em parcelas tratadas com cis-jasmone, o que demonstrou o poder de atração dos inimigos naturais pelas plantas induzidas.

Em um estudo mais recente, foram distribuídos septos contendo o composto (*E*)-2-hexenal, composto induzido por herbivoria em plantas de soja e atrativo para parasitoides (LAUMANN et al., 2009). Pode-se observar uma maior abundância de parasitoides da família Platygastridae nas armadilhas adesivas amarelas colocadas nas áreas tratadas com o composto e maior intensidade de parasitismo em ovos sentinelas que *E. heros* que foram colocados nas parcelas tratadas (VIEIRA et al., 2014).

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Criação de *Euchistus heros*

A colônia de percevejo foi mantida, no laboratório de Semioquímicos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília DF, Brasil, em sala climatizada sob temperatura $26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, $60 \pm 10\%$ de umidade relativa e 14:10 horas de fotofase e escotofase, respectivamente. Os insetos foram criados segundo a metodologia descrita por Borges et al. (2006). Os adultos foram mantidos em potes de plástico de 8 L com sementes de amendoim (*Arachis hypogaea*), soja (*Glycine max* (L.) Merrill) e girassol (*Helianthus annuus* (L.)) coladas com cola branca (não tóxica, lavável) em cartelas de papel (10 cm de comprimento x 8 cm de largura) e vagens frescas de feijão (*Phaseolus vulgaris* (L.)) como dieta natural. Estas gaiolas foram tampadas com um tecido tipo organza, preso com um elástico. Foi oferecida água em potes de plástico de 350 mL com a tampa furada onde se colocou um pavio de algodão. Telas de nylon de 15 cm² foram colocadas nas gaiolas servindo como substrato para oviposição. Os ovos foram coletados e colocados em placa de Petri (9 cm de diâmetro). Após a eclosão das ninfas, estas foram alimentadas com sementes e vagens de feijão até atingirem o segundo instar. Posteriormente, as ninfas foram transferidas para gaiolas de plástico contendo a dieta descrita anteriormente. Para obtenção de ovos com idade conhecida, as posturas foram coletadas diariamente. (ANEXO A).

5.2 Criação de *Telenomus podisi*

A colônia de parasitoides foi mantida, no laboratório de Semioquímicos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília DF, Brasil, em sala

climatizada sob temperatura $26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, $60 \pm 10\%$ de umidade relativa e 14:10 horas de fotofase e escotofase, respectivamente. Casais de *T. podisi* foram mantidos em gaiolas de plástico (cultura de tecido de 25 cm^2 - ICN Biomedicals, Irvine, CA) tampadas com um chumaço de algodão. Foi oferecido mel como alimento para os adultos. Ovos de *E. heros* ($< 24\text{ hs}$) foram oferecidos como hospedeiros e deixados por 48 h para permitir a oviposição do parasitoide. Após esse período os ovos foram transferidos para outra gaiola com as mesmas dimensões para incubação. As fêmeas que foram utilizadas nos bioensaios estavam acasaladas, devidamente alimentadas, sem experiência de oviposição e apresentavam 24 – 48 h de idade adulta (Anexo 2).

5.3 Cultivo das plantas

As plantas utilizadas foram: Milho (*Zea mays*) variedade BRS Caimbé, sementes fornecidas pela Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil; Girassol de Jardim Amarelo Anão (*Helianthus annuus*) da marca Isla Pro super sementes (Número de referência 392), e Feijão Guandu (*Cajanus cajan*) BRS Mandarin, Categoria BAS, Lote BSB 159/12, Safra 2011/2012, sementes fornecidas pela Embrapa Sementes Básicas. As sementes foram plantadas em vasos de plástico de 10,5 cm de altura e 11 cm de diâmetro, com furos no fundo, preenchidos de solo estéril, enriquecido com NPK 10:10:10, e substrato para crescimento de plantas (Tropstrato HA Hortaliças) misturados em porções iguais. Estes vasos foram mantidos em casa de vegetação para germinação e crescimento, à temperatura de 27°C e luz complementar para 14 h de fotofase. As plantas foram regadas diariamente e monitoradas para evitar infestação com herbívoros ou patógenos, de forma que no momento de uso estiveram livres de qualquer injúria. Para a realização dos bioensaios em olfatômetro e aerações

foram utilizadas plantas de girassol e feijão guandu com 25-30 dias e em plantas de milho após 15-20 dias.

5.4 Indução de defesas

Para realizar a injúria de herbivoria foram colocadas três fêmeas virgens do percevejo *E. heros*, em cada planta, estas fêmeas tinham 8-10 dias na fase adulta para garantir a não interferência da oviposição durante o período de injúria. No teste de injúria conjunta, herbivoria + oviposição, foram utilizadas 4 fêmeas (acasaladas e com 12 a 20 dias na fase adulta) para aumentar as possibilidades de oviposição. As fêmeas foram mantidas em contato com as plantas e para que elas não escapassem e não houvesse interferência de outro herbívoro durante o tempo de injúria, as plantas foram envoltas com saco de plástico de polietileno microperfurado e foi padronizado utilizar as plantas que possuíam de duas a três posturas com no mínimo dez ovos cada. O tempo de injúria foi de 72 horas, tempo proposto por Moraes et al. (2008b), uma vez que a emissão de voláteis é maior com esse tempo de injúria em plantas de soja. Passando o tempo de injúria o plástico e as fêmeas foram retirados e as plantas foram utilizadas para os testes.



Foto: Aline M. Dias

Figura 3 Detalhe da preparação das plantas para os experimentos de indução de defesas por injúria de percevejos. Planta de girassol em estágio V3 com fêmeas de *E. heros* envolvida com saco de plástico micro perfurado

Após este período, as plantas foram cuidadosamente retiradas de seus copos para evitar contaminação com voláteis do solo durante o experimento, o solo foi envolvido com papel alumínio, logo após foram colocadas em frascos de vidro de 3,2 litros da marca Cisper, com tampas adaptadas para conexão de mangueiras de silicone onde ocorreu a entrada e saída do ar.

5.5 Bioensaios

Para a avaliação da resposta aos voláteis das plantas foram realizados bioensaios de olfatometria. O olfatômetro foi do tipo Y, confeccionado em uma

placa de acrílico (19 cm x 19 cm) com uma área perfurada em formato de “Y” (corpo central 8 cm; braços 7 cm, separados por um ângulo de 80°, e 1,5 cm de largura). Esta placa ficou entre duas placas de vidro (19 cm x 19 cm) sendo que a superior é transparente e a inferior translúcida. Para manter o sistema com fechamento hermético os vidros e a placa de acrílico foram presos com cliques de papel em cada lado (MORAES et al., 2005).

No interior do olfatômetro foi mantido um fluxo de ar filtrado por carvão ativado e umedecido com água destilada. O ar foi bombeado a um fluxo de 0,7 L/min (regulado por meio de fluxômetros) utilizando bombas de aquário. A entrada do ar no sistema se fez pelos braços do olfatômetro (braços do "Y"), e o escoamento do ar na extremidade oposta à das entradas, isto é no corpo do “Y”, no qual estava conectado uma bomba de vácuo com fluxo de 0,2 L/min.

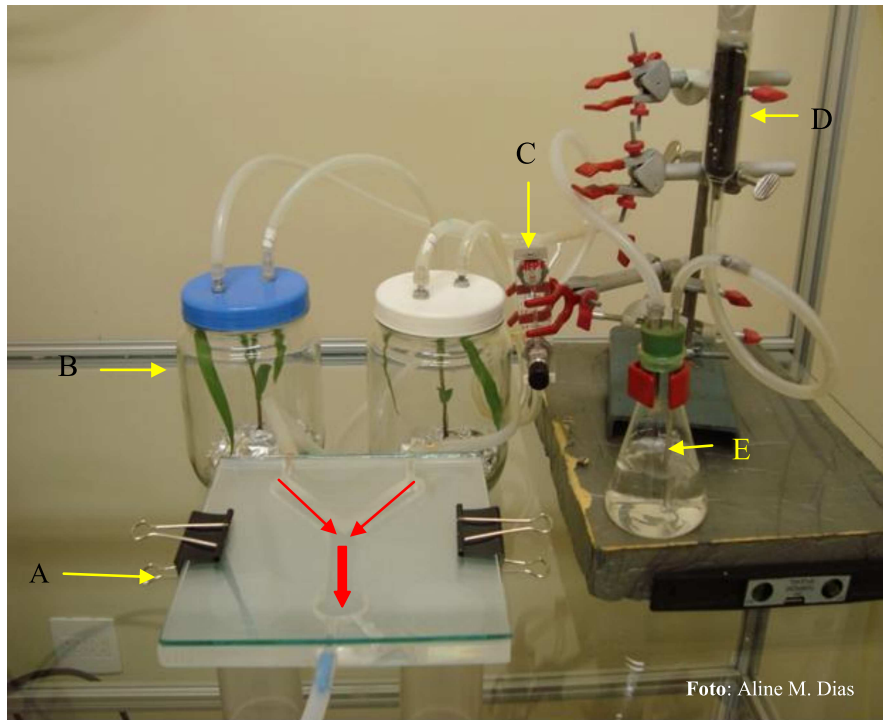


Figura 4 Sistema de bioensaios com olfatômetro em “Y”

Legenda: A-olfatômetro; B- potes com a fonte de odor; C- fluxometro; D- filtro de carvão ativado; E- frasco com água destilada. Circulação de ar filtro de carvão-água destilada-fluxometro-fontes de odor-braços do olfatômetro-corpo do olfatômetro-orifício de saída. Setas em vermelho simbolizam o fluxo de ar dentro do olfatômetro.

Foram realizados experimentos para comparar a resposta olfativa às seguintes combinações de odores:

- a) Ar contra Ar (controle do equipamento);
- b) Planta sem injúria (S.I.) contra ar;
- c) Plantas com injúria de herbivoria (H) contra Ar;
- d) Planta com injúria de oviposição e herbivoria conjuntamente (H+O) contra Ar;

- e) Plantas com injúria de herbivoria (H) contra Planta sem injúria (S.I.);
- f) Planta com injúria de oviposição e herbivoria conjuntamente (H+O) contra planta sem injúria (S.I);
- g) Plantas com injúria de herbivoria (H) contra Planta com injúria de oviposição e herbivoria conjuntamente (H+O).

Para cada espécie de planta (milho, girassol e feijão guandu) foram feitas todas as combinações acima detalhadas com 35-60 repetições (bioensaios). Para evitar problemas de pseudorepetições e viés nas respostas dos insetos, as plantas foram trocadas a cada 3-5 repetições, o olfatômetro substituído por um limpo (lavado com detergente neutro e seco em estufa a 40°C por 1 h) e as posições de cada tratamento alternadas no momento de substituição das plantas e olfatômetro.

Em cada repetição uma fêmea de parasitoide foi colocada na arena do olfatômetro (base do “Y”) e sua resposta comportamental foi avaliada durante 600 s, a escolha inicial (braço do olfatômetro onde a fêmea do parasitoide entrou pela primeira vez permanecendo no local por mais de 15 s) e o tempo de residência em cada braço e na área de liberação foram registrados. Após cada bioensaios, as fêmeas foram descartadas utilizando-se uma nova fêmea em cada repetição.

5.6 Caracterização do perfil químico dos COVs

Para a caracterização do perfil químico dos voláteis liberados foram feitas aerações segundo os métodos propostos por Moraes et al. (2009). Foram realizadas aerações com todas as espécies de plantas, sem injúria e tratadas com os tratamentos descritos na seção 5.5. Os vasos com plantas foram envolvidos

com papel alumínio, para evitar qualquer contaminação com voláteis de solo durante a aeração, e colocadas em câmaras de vidro (volume de 10 L).

O ar entrou no sistema impulsionado por uma bomba de compressão a um fluxo de 1,0 L/min, antes de entrar nas câmaras onde se encontravam as plantas, o ar foi purificado com carvão ativado e conduzido por mangueiras de politetrafluoretileno (PTFE), até a câmara. Para escoar o ar das câmaras na parte superior das mesmas foi conectada uma bomba de vácuo com fluxo de 0,6 L/min, criando assim um sistema “push-pull” com pressão positiva dentro das câmaras, este sistema evita a entrada de ar de fora das câmaras e impede a contaminação das amostras. Na saída do ar da câmara foi conectado um tubo de vidro contendo 100 mg de adsorvente Porapak Q, onde ficavam retidos os compostos químicos. O período de aeração foi de quatro dias, e foi coletada uma amostra a cada 24 h. Os voláteis coletados em cada período foram eluídos com 1 mL do solvente orgânico *n*-hexano e pré-concentrados para 100 µl com fluxo suave de N₂. Antes de cada aeração os tubos contendo adsorvente foram limpos com *n*-hexano e aquecidos a 200°C sobre fluxo de N₂ por 40 minutos. As amostras foram armazenadas a -20°C.

Para análise as amostras foram divididas em uma alíquota de 100 µL e 1 µL do composto *n*-tetracosano foi adicionado como padrão interno (PI), na concentração final de 0,005mg/mL(5 µg/mL).

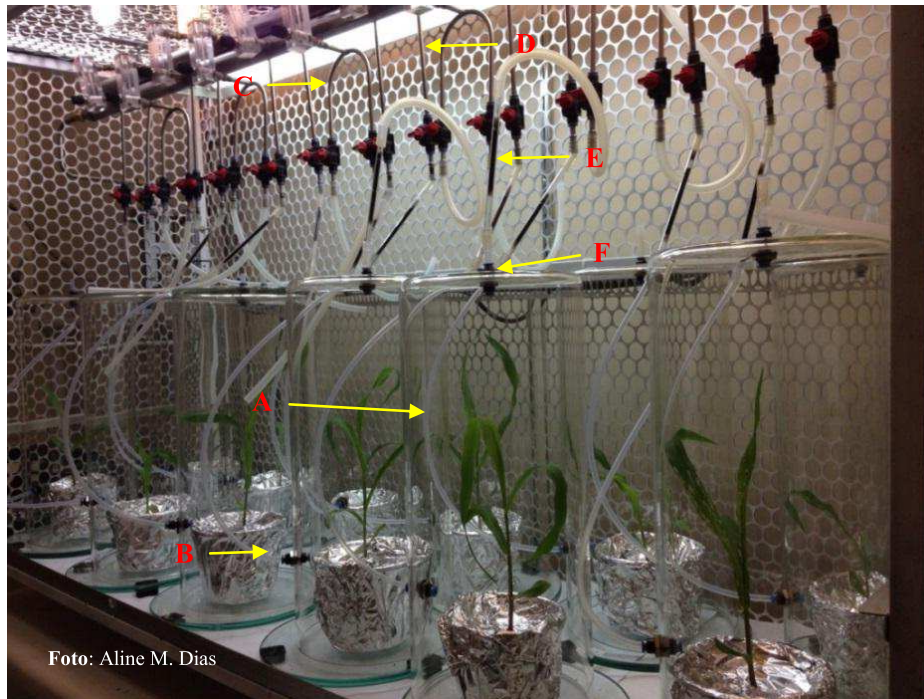


Foto: Aline M. Dias

Figura 5 Sistema push-pull de coleta de voláteis de plantas. Em detalhe câmaras de vidro com plantas de milho no terceiro estágio vegetativo

Legenda: A- câmara de vidro de boro silicato; B- canal de entrada do ar; C- tubo de vácuo do sistema; D- tubo de compressão do sistema; E- tubo de vidro com adsorvente; F- canal de saída do ar.

As amostras foram analisadas em cromatógrafo gasoso (CG) (Agilent 7890, coluna apolar DB-5, 0,32 mm de diâmetro x 60 m de comprimento, filme 1,0 μm , Supelco, Bellefonte, PA, EUA), com detector de ionização por chama (DIC) a 250°C e um programa na temperatura de 50°C/1 min, 15°C/min a 250°C/20 min. Um microlitro de cada amostra foi injetado usando o modo “splitless” com Hélio utilizado como gás de arraste. Para identificação dos compostos (análise qualitativa) extratos selecionados foram analisados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria massa de CG-EM (Agilent 5975 C) equipado com analisador quadrupolar, em coluna apolar DB-5 (0,25 mm de

diâmetro x 30 m de comprimento, com filme 0,25 μm , Supelco, Bellefonte, PA, EUA), com ionização de impacto de elétrons (70-eV, temperatura 200°C) e com um injetor “splitless”. Novamente foi utilizado Hélio como gás de arraste. Os dados foram coletados e analisados com o software ChemStation. A identificação dos compostos foi obtida por comparação do padrão de fragmentação dos compostos da amostra com o de dados catalogados em bibliotecas espectrais (NIST) e através do cálculo do índice de retenção (IR). Para isto uma mistura de padrões de Alcanos (C9-C21) foi injetada, nas mesmas condições descritas anteriormente. Para a confirmação final, o padrão de fragmentação e o IR dos compostos foram comparados com os dados obtidos da injeção de padrões autênticos, quando este não for disponível.

5.7 Análises Estatísticas

Para analisar os dados de escolha inicial do parasitoide *T. podisi* foi realizada uma análise de regressão logística para estimar a probabilidade de escolha para cada um dos tratamentos. O teste de χ^2 de Wald foi utilizado para avaliar a hipótese de não preferência (50% de probabilidade de escolha para cada área do olfatômetro) por um tratamento particular. O tempo médio de residência em cada área do olfatômetro em cada combinação de tratamentos foi calculado e submetido ao teste de Wilcoxon. Foi realizada somente a análise qualitativa, que não necessita de testes estatísticos.

5.8 Origem dos compostos

Os padrões de compostos químicos utilizados para confirmar a identidade química dos voláteis liberados pelas plantas avaliadas foram obtidos de: 1- α -pineno (98%), canfeno (75%), benzotiazol (96%), β -pineno (99%), β -

mirreno (90%), (Z)-3-acetato de hexenila (98%), limoneno (97%), β -ocimeno, benzaldeído, indol (98,5%) e salicilato de metila, foram adquiridos da SigmaAldrich (Steinheim, Alemanha). 2- Linalol e β -cariofileno foram adquiridos da TCI-América (Portland, EUA). 3- Geranil acetona da TCI-Japão (Tóquio, Japão), 4 Os compostos DMNT e TMTT foram sintetizados a partir do geraniol e (E,E)-farnesol, respectivamente, por oxidação de seus aldeídos correspondentes, seguida por metilenação de Wittig (LEOPOLD, 1990), estes compostos foram fornecidos pelo Dr. Michael Birkett do Rothamsted Research (UK) e 5- O hexano foi obtido da Fischer Scientific (Loughborough, Leicestershire, UK) e re-destilado antes do uso.

6 RESULTADOS

Nos testes onde se contrastou ar limpo e ar limpo, não houve diferença entre a primeira escolha ($p=0,796$, $\chi^2=0,066$, g.l.=1, N=60) e tempo de residência ($W=1007,5$, $p=0,355$, g.l.=1, N=60) do parasitoide *T. podisi*, comprovando que o sistema de bioensaio não condiciona a resposta do parasitoide (Figura 6).

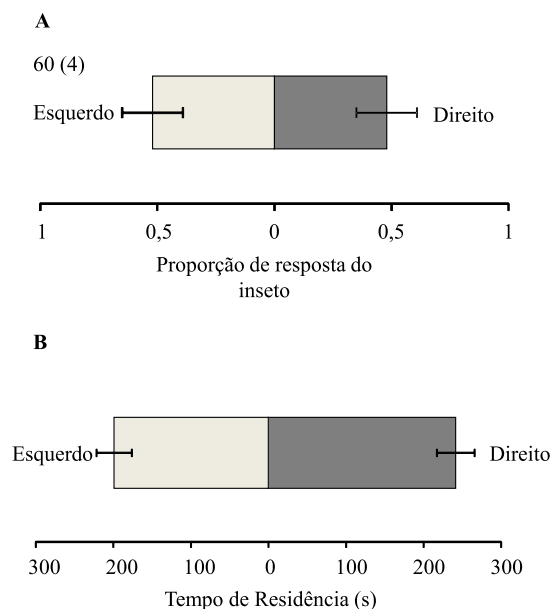


Figura 6 Primeira escolha (A) e o tempo de residência (B) do parasitoide *T. podisi* de bioensaios em olfatômetro tipo Y onde foi oferecido ar limpo nos dois braços do olfatômetro

Legenda: As análises das primeiras escolhas foram realizadas por regressão logística e foi realizado um teste estatístico χ^2 de Wald para avaliar a significância. O tempo de residência nos tratamentos foi analisado por teste de *Wilcoxon*. No gráfico A as barras horizontais indicam a proporção média de resposta calculada a partir da regressão logística e as linhas o IC de 95% e no gráfico B as barras horizontais indicam o tempo de residência médio e as linhas o erro padrão. Os números do lado esquerdo das figuras são o número total de insetos testados com resposta. Os números entre parênteses representam o número de insetos que não responderam ao tratamento testado.

Em plantas de feijão guandu não houve diferença significativa para primeira escolha e tempo de residência para nenhum dos tratamentos nas combinações: sem injúria versus ar limpo (SIxAr) ($p=0,25$, $\chi^2=1,318$, g.l.=1, $N=61$) ($W=822$, $p=0,377$, g.l.=1, $N=61$); injúria de herbivoria versus sem injúria (HxSI) ($p=0,701$, $\chi^2=0,147$, g.l.=1, $N=61$) ($W=1000$, $p=0,698$, g.l.=1, $N=61$); injúria de herbivoria versus ar limpo (H+OxAr) ($p=0,439$, $\chi^2=0,598$, g.l.=1, $N=60$) ($W=899$, $p=0,909$, g.l.=1, $N=60$) e injúria conjunta versus injúria de herbivoria (H+OxH) ($p=0,515$, $\chi^2=0,422$, g.l.=1, $N=59$) ($W=707$, $p=0,18$, g.l.=1, $N=59$). Houve diferença significativa no tempo de residência em cada braço do olfatômetro somente nas combinações de plantas com injúria versus plantas sem injúria (H+OxSI) ($W=1207$, $p=0,0310$, g.l.=1, $N=60$), o parasitoide *T. podisi* ficou mais tempo nos braços do olfatômetro com o odor de plantas com injúria conjunta, porém não houve diferença na primeira escolha ($p=0,073$, $\chi^2=3,206$, g.l.=1, $N=60$), e nos bioensaios onde plantas com injúria de herbivoria foram contrastadas com ar limpo (HxAr) ($W=129,5$, $p<0,001$, g.l.=1, $N=62$) o parasitoide *T. podisi* ficou mais tempo nos braços do olfatômetro com injúria de herbivoria, primeira escolha não foi significativa ($p=0,446$, $\chi^2=0,579$, g.l.=1, $N=62$) (Figura 7).

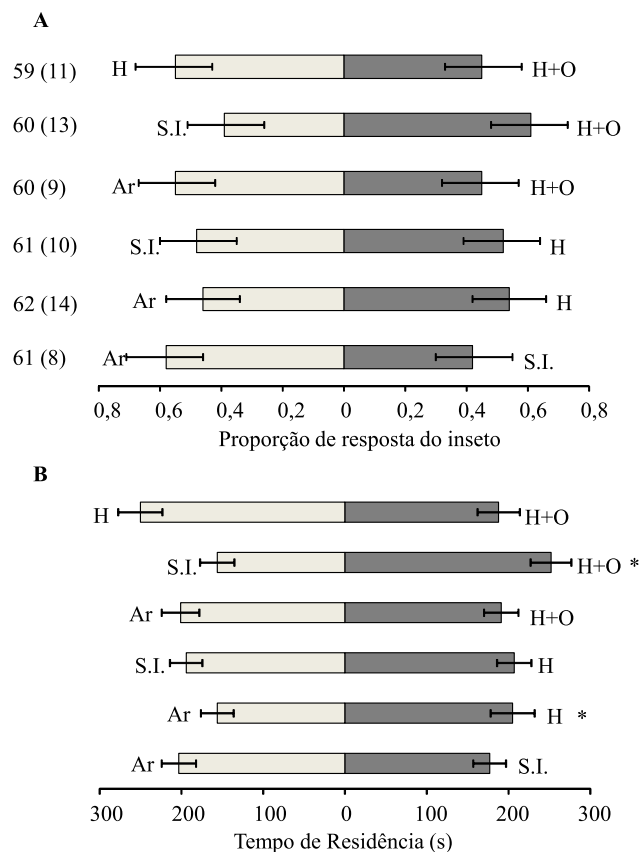


Figura 7 Primeira escolha (A) e o tempo de residência (B) do parasitoide *T. podisi* de bioensaios em olfatômetro tipo Y onde foram oferecidos odores de planta de feijão guandu com os seguintes tratamentos feitos por fêmeas de *E. heros*: H = herbivoria; S.I. = planta sem injúria; H+O = herbivoria+oviposição e Ar = ar limpo.

Legenda: As análises das primeiras escolhas foram realizadas por regressão logística e foi realizado um teste estatístico χ^2 de Wald para avaliar a significância. O tempo de residência nos tratamentos foi analisado por teste de *Wilcoxon*. * Representa valores que foram estatisticamente significativos $0,05 > p > 0,01$. No gráfico A as barras horizontais indicam a proporção média de resposta calculada a partir da regressão logística e as linhas o IC de 95% e no gráfico B as barras horizontais indicam o tempo de residência médio e as linhas o erro padrão. Os números do lado esquerdo das figuras são o número total de insetos testados com resposta. Os números entre parênteses representam o número de insetos que não respondeu a nenhum dos odores apresentados.

As fêmeas de *T. podisi* preferiram odores de plantas de girassol com injúria de herbivoria quando contrastadas com plantas sem injúria (HxSI) tanto na primeira escolha ($p=0,005$, $\chi^2=7,599$, g.l.=1, N=55) quanto no tempo de residência ($W=1049,5$, $p=0,019$, g.l.=1, N=55), porém não houve preferência para nenhum dos odores quando foram contrastadas com plantas com injúria conjunta (H+OxH) (primeira escolha: $p=0,865$, $\chi^2=0,028$, g.l.=1, N=35) (tempo de residência $W=281,5$; $p=0,588$; g.l.=1; N=35) ou ar limpo (HxAr) (primeira escolha: $p=0,123$, $\chi^2=2,363$, g.l.=1, N=60) (tempo de residência: $W=762$, $p=0,613$, g.l.=1, N=60). Nos demais conjuntos de tratamentos testados também não houve diferença significativa de *T. podisi* tanto na primeira escolha (SIxAr: $p=0,13$, $\chi^2=2,292$ g.l.=1, N=62); (H+OxAr: $p=0,325$, $\chi^2=0,964$, g.l.=1, N=66); (H+OxSI: $p=0,789$, $\chi^2=0,071$ g.l.=1, N=56) quanto no tempo de residência do parasitoide (SIxAr: $W=729$, $p=0,329$, g.l.=1, N=62); (H+OxAr: $W=1082$, $p=0,883$, g.l.=1, N=66); (H+OxSI: $W=920$, $p=0,21$, g.l.=1, N=56)(Figura 8).

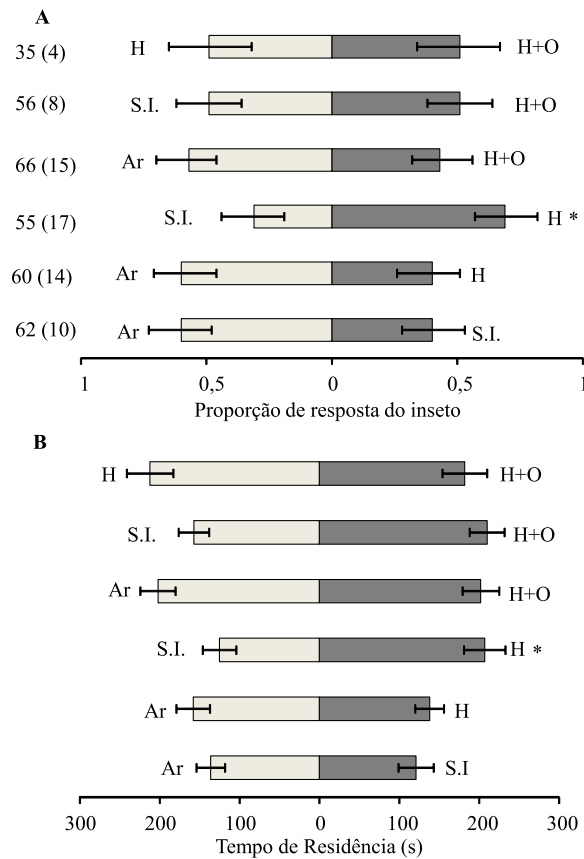


Figura 8 Primeira escolha (A) e o tempo de residência (B) do parasitoide *T. podisi* de bioensaios em olfatômetro tipo Y onde foram oferecidos odores de planta de girassol com os seguintes tratamentos feitos por fêmeas de *E. heros*: H = herbivoria; S.I. = planta sem injúria; H+O = herbivoria+oviposição e Ar = ar limpo

Legenda: As análises das primeiras escolhas foram realizadas por regressão logística e foi realizado um teste estatístico χ^2 de Wald para avaliar a significância. O tempo de residência nos tratamentos foi analisado por teste de *Wilcoxon*. * Representa valores que foram estatisticamente significativos $0,05 > p > 0,01$. No gráfico A as barras horizontais indicam a proporção média de resposta calculada a partir da regressão logística e as linhas o IC de 95% e no gráfico B as barras horizontais indicam o tempo de residência médio e as linhas o erro padrão. Os números do lado esquerdo das figuras são o número total de insetos testados com resposta. Os números entre parênteses representam o número de insetos que não respondeu a nenhum dos odores apresentados.

Não houve diferença significativa na resposta do parasitoide, tanto para primeira escolha quanto para tempo de residência em cada braço do olfatômetro para odores de plantas de milho nos bioensaios onde se contrastou planta sem injúria versus ar limpo (SIxAr) ($p=0,176$, $\chi^2=1,829$, g.l.=1, N=54) ($W=935,5$, $p=0,097$, g.l.=1, N=54) planta com injúria conjunta versus ar limpo (O+HxAr) ($p=0,378$, $\chi^2=0,774$, g.l.=1, N=63) ($W=1093$, $p=0,562$, g.l.=1, N=63) e planta com injúria conjunta versus planta com injúria de herbivoria (H+OxH) ($p=0,117$, $\chi^2=2,447$, g.l.=1, N=58) ($W=874,5$, $p=0,886$, g.l.=1, N=58). As fêmeas de *T. podisi* preferiram os odores de plantas que sofreram injúria de herbivoria quando contrastadas com ar limpo (HxAr) ($p=0,009$, $\chi^2=6,676$, g.l.=1, N=70) ($W=1713$, $p=0,002$, g.l.=1, N=70) e plantas sem injúria (HxSI); ($p<0,001$, $\chi^2=15,28$, g.l.=1, N=55) ($W=1054,5$, $p=0,017$, g.l.=1, N=55) tanto na primeira escolha, quanto no tempo de residência. Preferiu odores de plantas com injúria conjunta quando contrastadas com plantas sem injúria (H+OxSI) na primeira escolha ($p=0,005$, $\chi^2=7,681$, g.l.=1, N=60), mas não houve diferença significativa no tempo de residência ($W=1067,5$, $p=0,263$, g.l.=1, N=60) (Figura 9).

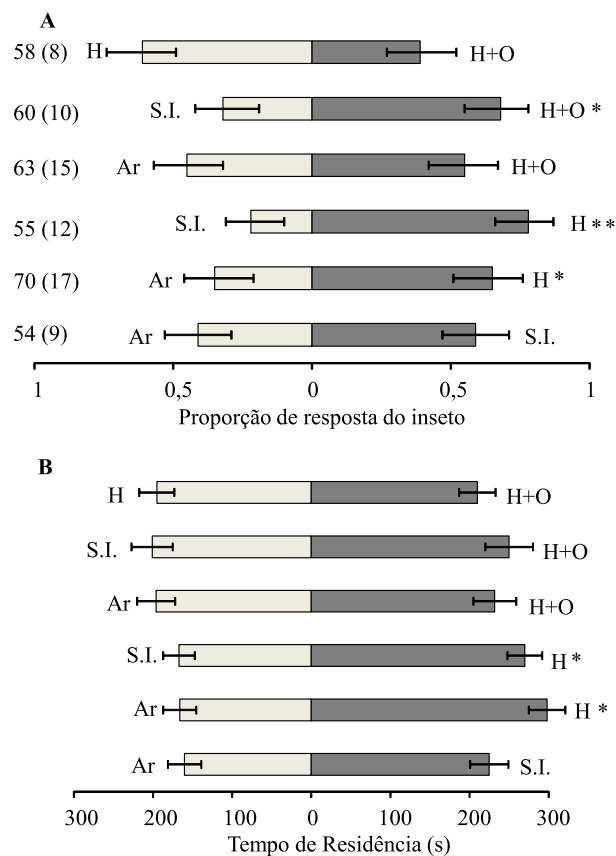


Figura 9 Primeira escolha (A) e o tempo de residência (B) do parasitoide *T. podisi* de bioensaios em olfatômetro tipo Y onde foram oferecidos odores de planta de milho com os seguintes tratamentos feitos por fêmeas de *E. heros*: H = herbivoria; S.I. = planta sem injúria; H+O = herbivoria+oviposição e Ar= ar limpo

Legenda: As análises das primeiras escolhas foram realizadas por regressão logística e foi realizado um teste estatístico χ^2 para avaliar a significância. O tempo de residência nos tratamentos foi analisado por teste de *Wilcoxon*. * Representa valores que foram estatisticamente significativos $0,05 > p > 0,01$, e ** $p < 0,001$. No gráfico A as barras horizontais indicam a proporção média de resposta calculada a partir da regressão logística e as linhas o IC de 95% e no gráfico B as barras horizontais indicam o tempo de residência médio e as linhas o erro padrão. Os números do lado esquerdo das figuras são o número total de insetos testados com resposta. Os números entre parênteses representam o número de insetos que não respondeu a nenhum dos odores apresentados.

Houve diferença qualitativa dos compostos entre os tratamentos de plantas de feijão guandu. Os compostos β -mirceno, γ -terpineno, foram detectados somente em plantas com injúria conjunta; os compostos heptanal, 1-octen-3-ol, 3-octanol, linalol e 4-etilbenzaldeído estavam presentes em plantas sem injúria; e o composto decano somente em plantas com herbivoria; os compostos β -pineno, undecano e geranyl acetona estavam presentes em plantas com injúria de herbivoria e conjunto e o composto (Z)-3-acetato de hexenila presente nos tratamentos sem injúria e conjunto (Tabela 2) (ANEXOS C, D e E).

Tabela 1 Compostos identificados em plantas de feijão guandu submetidas a diferentes tratamentos de injúria, a partir de extratos de aeração. Os compostos foram identificados por análise de CG_EM

FEIJÃO GUANDU						
nº	Composto	TR	IR	SI	Herb	Conj
1	α -pineno	7,02	939	x	x	x
2	1-octen-3-ol	8,14	978	x		
3	β -pineno	8,19	982		x	x
4	6-metil-5-hepten-2-ona	8,29	985	x	x	x
5	β -mirceno	8,45	990			x
6	3-octanol	8,62	995	x		
7	Decano	8,74	1000		x	
8	(Z)-3-acetato de hexenila	8,81	1004	x		x
9	2-etil-1-hexanol	9,48	1032	x	x	x
10	Limoneno	9,59	1033	x	x	x
11	(E)-B-ocimeno	10,04	1049	x	x	x
12	γ -terpineno	10,41	1062			x
13	Undecano	11,60	1100		x	x
14	Linalool	11,6	1100	x		
15	Nonanal	11,72	1104	x	x	x
16	DMNT	11,97	1114	x	x	x
17	4-etilbenzaldeído	13,41	1170	x		
18	Salicilato de metila	14,26	1192	x	x	x
19	Dodecano	14,49	1199	x	x	x
20	Decanal	14,64	1205	x	x	x

“Tabela 1, conclusão”

FEIJÃO GUANDU						
nº	Composto	TR	IR	SI	Herb	Conj
21	Benzotiazol	15,20	1227	x	x	x
22	Tridecano	17,28	1300	x	x	x
23	Tetradecano	19,93	1400	x	x	x
24	Geranil acetona	21,10	1447		x	x
25	Pentadecano	22,45	1500	x	x	x
26	TMTT	24,15	1571	x	x	x
27	Hexadecano	24,84	1599	x	x	x

Compostos de feijão guandu com 72 horas de aeração. Letra x representa a presença do composto. TR = tempo de retenção; IR = índice de retenção, SI = planta sem injúria; Herb = injúria de herbivoria; Conj = injúria de herbivoria+oviposição. X = compostos exclusivos de plantas sem injúria, x = compostos exclusivos de plantas com injúria, X = compostos exclusivos de plantas com injúria por herbivoria, X = compostos exclusivos de plantas com injúria herbivoria+oviposição.

Houve diferença qualitativa dos compostos entre os tratamentos de plantas de girassol. O composto ciclohexil isotiocianato e o β -gurjuneno estavam presentes somente em plantas sem injúria; e os compostos 3-hexanona, 2-hexanona, 4-metil-3-penten-2-ona, 2-hexanol, 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona, β -mirceno e ciclohexil isocianato, presentes em plantas com herbivoria e injúria conjunta (Tabela 2) (ANEXO F e G).

Tabela 2 Compostos identificados em plantas de girassol submetidas a diferentes tratamentos de injúria, a partir de extratos de aeração. Os compostos foram identificados por análise de CG_EM

GIRASSOL						
nº	Composto	TR	IR	SI	Herb	Conj
1	3-hexanona	3,89	785		x	x
2	2-hexanona	3,95	790		x	x
3	4-metil-3-penten-2-ona	4,08	970			x
4	2-hexanol	4,15	805			x
5	4-hidroxi-4-metil-2-pentanona	4,83	839			x
6	α -tujeno	6,81	930	x		x
7	α -pineno	7,02	939	x	x	x
8	Camfeno	7,46	956	x	x	x
9	3-metil-2-ciclopentenona	7,7	964			x
10	Sabineno	8,04	977	x	x	x
11	β -pineno	8,19	982	x	x	x
12	6-metil-5-hepten-2-ona	8,29	985	x		x
13	β -mirceno	8,45	990		x	x
14	Ciclohexil isocianato	8,73	1000			x
15	Octanal	8,82	1003			x
16	2-etil hexanol	9,49	1032	x	x	x
17	α -terpineno	9,24	1020			x
18	Limoneno	9,59	1033	x	x	x
19	(E)-B-ocimeno	10,04	1049	x	x	x
20	γ -terpineno	10,41	1062	x	x	x
21	Undecano	11,6	1100	x	x	x
22	Nonanal	11,72	1104	x	x	x
23	DMNT	11,97	1114	x	x	x
26	Salicilato de metila	14,26	1192	x	x	x
27	Dodecano	14,49	1199	x	x	x
28	Decanal	14,64	1205	x	x	x
29	Benzotiazol	15,2	1227	x		x

“Tabela 2, conclusão”

n°	Composto	TR	IR	SI	Herb	Conj
30	Ciclohexil isotiocianato	15,44	1236	x		
31	Tridecano	17,28	1300	x	x	x
32	Tetradecano	19,93	1400	x	x	x
33	β -cariofileno	20,5	1423	x	x	x
34	β -gurjuneno	20,78	1435	x		
35	Geranil acetona	21,1	1448	x	x	x
36	Pentadecano	22,45	1500	x	x	x
37	TMTT	24,15	1572	x	x	x
38	Hexadecano	24,84	1600	x	x	x

Compostos de girassol com 72 horas de aeração. Letra x representa a presença do composto. TR = tempo de retenção; IR = índice de retenção, SI = planta sem injúria; Herb = injúria de herbivoria; Conj = injúria herbivoria+oviposição. X = compostos exclusivos de plantas sem injúria, X = compostos exclusivos de plantas com injúria, X = compostos exclusivos de plantas com injúria herbivoria+oviposição.

Na análise qualitativa dos compostos presentes em plantas de milho os compostos que diferiram foram os compostos: benzaldeído presente somente nas plantas com dano conjunto; 2-etil-1-hexanal presente somente nas plantas com tratamento de herbivoria e conjunto, e (*E*)-2-octenal, etanol, indole, um sesquiterpeno, α -muuroleno e β -cadineno presentes somente nas plantas sem injúria (Tabela 3) (ANEXOS H, I e J).

Tabela 3 Compostos identificados em plantas de milho, submetidas a diferentes tratamentos de injúria, a partir de extratos de aeração. Os compostos foram identificados por análise de CG_EM

MILHO						
nº	Composto	TR	KI	SI	Herb	Conj
1	Benzaldeído	7,67	960			x
2	6-metil-5-hepten-2-ona	8,29	985	x	x	x
3	β -mirceno	8,45	990	x	x	x
4	Octanal	8,8	995			x
5	2-etil-1-hexanal	9,48	1032		x	x
6	Limoneno	9,59	1033	x	x	x
7	(E)-B-ocimeno	10,04	1049	x	x	x
8	(E)-2-octenal	10,30	1058	x		
9	Linalol	11,6	1100	x	x	x
10	Nonanal	11,72	1104	x	x	x
11	DMNT	11,97	1114	x	x	x
12	Salicilato de metila	14,26	1192	x	x	x
13	Dodecano	14,49	1199	x	x	x
14	Decanal	14,64	1205	x	x	x
15	Benzotiazol	15,20	1227	x	x	x
16	Ciclohexil isotiocianato	15,44	1236	x	x	x
17	Índole	17	1290	x		
18	Tridecano	17,28	1300	x	x	x
19	(+)-Ciclosativeno	19,11	1370	x	x	x
20	Tetradecano	19,93	1400	x	x	x
21	B-cubebeno	20,46	1422	x	x	x
22	Sesquiterpeno ?	20,75	1433	x		
23	Geranil acetona	21,10	1447	x	x	x
24	α -muuroleno	21,99	1482	x		
25	Pentadecano	22,45	1500	x	x	x
26	Δ -cadineno	22,55	1512	x	x	x
27	β -cadineno	22,92	1520	x		
28	TMTT	24,15	1571	x	x	x
29	Hexadecano	24,84	1599	x	x	x

Compostos de plantas de milho com 72 horas de aeração. Letra X representa a presença do composto. TR=tempo de retenção; IR = índice de retenção, SI = planta sem injúria; Herb = injúria de herbivoria; Conj = injúria herbivoria+oviposição. **X** = compostos exclusivos de plantas sem injúria, **X** = compostos exclusivos de plantas com injúria, **X** = compostos exclusivos de plantas com injúria herbivoria+oviposição.

7 DISCUSSÃO

Insetos parasitoides utilizam várias pistas para encontrar seu hospedeiro, muitas vezes estes são difíceis de encontrar na natureza, como no caso de parasitoides de ovos, assim estes insetos utilizam pistas específicas que fornecem as pistas da presença de seu hospedeiro. Dentre elas os COVs fornecem informações essenciais durante a busca. O parasitoide *T. podisi* apresentou um comportamento de atração a voláteis de plantas de girassol, milho e feijão guandu que sofreram injúria de seu hospedeiro preferencial, o percevejo *E. heros*.

A resposta do parasitoide foi diferente para cada espécie de planta utilizada. *T. podisi* foi atraído por voláteis de plantas de girassol e milho que sofreram herbivoria de *E. heros*, mas não respondeu aos voláteis deste tratamento em plantas de feijão guandu. Resultados similares foram observados nos trabalhos de Michereff et al. (2011) e Moraes et al. (2005, 2009) onde o parasitoide *T. podisi* foi atraído por voláteis de plantas de soja que sofreram injúria de herbivoria de *E. heros*.

O padrão de respostas das fêmeas de *T. podisi* frente às combinações de tratamentos realizadas durante os bioensaios foi diferente dependendo da espécie de planta. Por exemplo, o parasitoide preferiu o odor de plantas de milho com injúria de herbivoria quando contrastadas com odores de plantas sem injúria e com ar limpo. Já em plantas de girassol somente quando contrastou o odor de plantas com injúria de herbivoria com o de plantas sem injúria. Diferenças no padrão de resposta dos parasitoides podem ser influenciadas por diferença nos cultivares de uma mesma espécie de planta, como foi comprovado por Michereff et al. (2011). Logo, era esperado que plantas diferentes, apresentando um perfil químico específico, promovessem um padrão comportamental diferenciado em *T. podisi*. Este resultado confirma a hipótese de que plantas de milho e girassol

no terceiro estágio vegetativo, quando injuriadas por herbivoria do percevejo *E. heros*, emitem voláteis que são atrativos para *T. podisi*, assim como a hipótese de que a resposta olfativa preferencial do parasitoide varia entre as diferentes espécies de planta.

T. podisi foi atraído por odores de plantas de girassol com injúria de herbivoria e plantas de milho com injúria conjunta somente quando esses odores foram contrastados com o de plantas sem injúria. Este resultado pode ser explicado pela “hipótese do contraste olfativo” durante o forrageio do parasitoide, proposta por Hilker e McNeil (2008). Estes autores sugerem que o parasitoide necessita de um contraste de pistas, pois muitas vezes o odor de uma planta com injúria é uma pista mais detectável pelo parasitoide quando ele é oferecido juntamente a um *background*, isto é, o odor de uma planta sem injúria. Tendo como exemplo o parasitoide *Chrysonotomyia ruforum* Krausse (Hymenoptera, Eulophidae) especializado em moscas-serra, o parasitoide foi atraído pelo composto (*E*)- β -farneseno (composto presente em maior quantidade em odores de pinheiros quando sofrem oviposição do herbívoro) quando o composto foi oferecido conjuntamente ao odor de pinheiros sem injúria (HILKER et al., 2002; MUMM et al., 2003; MUMM; HILKER 2005).

Sabendo que *T. podisi* é um parasitoide de ovos esperava-se que preferisse odores de plantas com injúria conjunta quando contrastados com odores de plantas que sofreram injúria de herbivoria, como foi demonstrado no trabalho de Colazza (2004) e Colazza, Mcelfresh e Millar (2004), em que o parasitoide *Trissolcus basalis* preferiu plantas com injúria de oviposição + herbivoria do percevejo verde, *Nezara viridula*. No entanto, *T. podisi* não mostrou o mesmo padrão de resposta, já que não houve resposta significativa na escolha inicial do parasitoide a nenhum dos dois odores em todas as espécies de planta. Houve preferência para o odor de planta com injúria conjunta somente na primeira escolha do parasitoide em plantas de milho, e tempo de residência do

parasitoide em plantas de feijão guandu, ambos somente quando contrastados com plantas sem injúria. Muitas vezes os parasitoides se orientam pela quantidade e proporção de compostos existentes na fonte de odor (MORAES et al., 2005), uma vez que em ambos os braços foram oferecidos odores de herbivoria, a proporção dos voláteis presentes no olfatômetro pode ter tornado a pista de oviposição menos atrativa. Esta hipótese deve ser avaliada analisando quantitativamente as misturas de voláteis presentes nos estratos dos diferentes tratamentos.

A não atração do parasitoide para plantas que tinham injúria de oviposição pode ser explicada pelo mesmo motivo proposto por Michereff et al. (2011) e Moraes et al. (2008). Nestes trabalhos *T. podisi* foi atraído por odores de plantas de soja que sofreram herbivoria, e não preferiu odores de plantas quando estas eram tratadas com oviposição ou herbivoria + oviposição. Esse padrão de resposta pode ser explicado pelo fato de as fêmeas de parasitoides geralmente selecionarem hospedeiros mais novos. Uma vez que o material amniótico do ovo é mais fácil de ser metabolizado pelo parasitoide que quando os tecidos do hospedeiro já estão formados (BARRETT; SCHMIDT, 1991; GODIN; BOIVIN, 2000; PAK, 1986).

No trabalho de Moraes et al. (2008b), infere-se que a não preferência de *T. podisi* para plantas com oviposição e injúria conjunta pode ter sido pelo desligamento da rota de jasmonato provocado pela oviposição de *E. heros*. Para conferir se essa resposta fisiológica ocorre em plantas de girassol e milho e se relaciona com a resposta comportamental do parasitoide observada neste trabalho, serão feitas análises quantitativas dos compostos e experimentos com a injúria de oviposição isoladamente.

A resposta de *T. podisi* para os odores de plantas de feijão guandu com injúria de herbivoria difere dos resultados prévios reportados por Moraes et al. (2005). Eles observaram que o parasitoide foi atraído por odores de plantas com

injúria de herbivoria quando contrastadas com plantas sem injúria. Duas possíveis explicações para esta resposta diferente do parasitoide podem ser: 1- a indução diferencial de COVs nas cultivares utilizadas em cada trabalho e 2- variações nos procedimentos experimentais que podem influenciar a indução das plantas. Neste trabalho foram utilizadas três fêmeas virgens, e no de Moraes et al. (2005) foi utilizado extrato salivar de cinco fêmeas.

Nos testes com plantas de milho o comportamento do parasitoide foi diferente comparado às outras plantas. *T. podisi* preferiu odores de plantas com injúria de herbivoria tanto quando contrastados com os de planta sem injúria quanto quando contrastadas com ar. O parasitoide também foi atraído por odores de plantas com injúria conjunta quando contrastadas com odor de plantas sem injúria. Este resultado mostra mais uma vez que o *background* pode ser determinante no comportamento de forrageio do parasitoide, pois o odor de plantas com injúria conjunta não atraiu o parasitoide quando contrastado com ar, mas o parasitoide se orientou para este odor quando foi contrastado com odores de plantas sem injúria (HILKER; MCNEIL, 2008; MUMM; HILKER, 2005). Já o tempo de residência em cada braço foi significativamente maior somente nos braços do olfatômetro dos testes onde a planta apresentava injúria de herbivoria. Mais uma vez se confirma que o odor de uma planta que sofreu injúria de herbivoria é mais atrativo ao parasitoide.

Considerando os resultados de uma forma geral podemos observar que a presença da indução de herbivoria nas plantas é o indicativo mais importante no comportamento de forrageio de *T. podisi* orientando o parasitoide para habitats onde a probabilidade de achar ovos é maior

Os parasitoides, em geral, dispõem de um curto espaço de tempo para o ataque e uso eficiente do hospedeiro (VINSON, 1998). Zhou et al. (2014) observaram que a idade do ovo do pentatomídeo *Podisus maculiventris* (Say) (Hemiptera: Pentatomidae) influenciou no tempo de desenvolvimento de machos

do parasitoide *T. podisi*, quanto mais velhos eram os ovos do percevejo maior era o tempo de desenvolvimento do parasitoide. Esse resultado mostra uma desvantagem do parasitismo de *T. podisi* em ovos mais velhos, uma vez que esta espécie é arrenótoca (ovos não fecundados geram machos); como o macho emerge primeiro que a fêmea, este atraso pode fazer com que a fêmea, ao emergir, não encontre parceiro para cópula, assim tendo uma próxima prole somente de indivíduos machos.

Neste trabalho plantas com injúria de herbivoria e oviposição foram menos atrativas para *T. podisi* que plantas com injúria de herbivoria somente. A ausência de resposta frente a plantas com o dano conjunto pode explicar-se pelo intervalo de tempo entre a oviposição e a realização dos bioensaios (72 h após a oviposição). Neste intervalo de tempo a viabilidade de *T. podisi* é reduzida em relação ao parasitismo em ovos de *E. heros* de 24 a 48 h. Desta maneira a resposta a voláteis de herbivoria pode assegurar que o parasitoide localize ambientes onde a densidade de percevejos é alta e consequentemente a chance de encontrar ovos seja maior.

O perfil químico das plantas sem injúria mudou qualitativamente quando estas plantas sofreram injúria de herbivoria de *E. heros*. Plantas de milho, feijão e girassol apresentaram compostos diferentes. Podendo ser este o motivo da atração do parasitoide *T. podisi* para plantas com injúria de herbivoria. Para avaliar esta hipótese serão conduzidas análises quantitativas dos perfis químicos dos COVs em plantas sem injúria e induzidas por injúrias de percevejos.

Muitas vezes somente a diferença qualitativa não interfere na preferência do parasitoide, principalmente quando se trata de um parasitoide generalista (VET et al., 1998, 1999), como é o caso de *T. podisi*. Ao realizar as análises quantitativas, caso mostre que não houve diferença entre os tratamentos com plantas de feijão guandu, mesmo apresentando diferença qualitativa entre

os tratamentos, este pode ser o motivo pelo qual o parasitoide não foi atraído por estas plantas, tratando-se de sua primeira escolha.

Existe um amplo registro na literatura que sugere que as diferenças quantitativas (quantidades e proporções nas misturas de compostos voláteis) são relevantes para que o parasitoide identifique/seleccione COVs de plantas injuriadas por insetos (MUNN; HILKER, 2005; RODRIGUEZ-SAONA et al., 2002). Para o sistema tri-trófico em estudo (planta-percevejo-parasitoides de ovos) Michereff et al. (2011) e Moraes et al. (2005, 2009) observaram que a mudança do perfil químico das plantas de soja é somente quantitativa. Por exemplo, plantas de soja ao serem atacadas por fêmeas de *E. heros* emitem uma maior quantidade de compostos comparado a plantas sem injúria ou plantas injuriadas por machos (MORAES et al., 2005). Em forma similar quando ocorre herbivoria na planta, a emissão de compostos voláteis é maior do que quando ocorre oviposição ou herbivoria + oviposição (MICHEREFF et al., 2011; MOARAES et al., 2009). Em todos os casos citados *T. podisi* foi atraído para a mistura de COVs emitido pelas plantas com injúria de herbivoria (MICHEREFF et al., 2011; MORAES et al., 2005, 2008a). Logo não se pode afirmar que a mudança qualitativa em plantas de milho e girassol foi a causa da atração do parasitoide para os tratamentos. Adicionalmente, para inferir se a oviposição realmente influencia no perfil da planta e no comportamento do parasitoide durante o seu forrageio, experimentos onde se avalia somente a oviposição devem ser conduzidos.

Voláteis constitutivos de hospedeiras principais dos percevejos da família Pentatomidae, como a soja, são atrativos para o parasitoide *T. podisi* (MACHADO et al., 2014; MORAES et al., 2005, 2008a). Girassol, feijão guandu e milho são culturas em que *E. heros* é encontrado com menos frequência, podendo ser consideradas plantas hospedeiras alternativas, o que poderia explicar a não preferência de *T. podisi* por plantas sem injúria quando

contrastadas com ar limpo. Esta resposta pode estar relacionada à maior densidade populacional do herbívoro em hospedeiros preferenciais (PANIZZI 1997,1998).

Em resumo, os resultados deste trabalho contribuem para melhor compreensão das interações tri-tróficas entre plantas, percevejos e parasitoides de ovos. Os resultados sugerem que plantas de diferentes famílias (Leguminosae, Compositae, Poaceae) respondem de maneira similar, o que poderia sugerir que o mecanismo de indução de defesas pelos percevejos possui um padrão geral independentemente da planta injuriada. A indução de defesas pelos percevejos em diferentes plantas resulta em misturas de voláteis atrativas para o parasitoide *T. podisi*. O que sugere uma estratégia de busca de hospedeiros adaptativa considerando-se que esta espécie utiliza como hospedeiros ovos de percevejos polípagos.

Saber quais compostos voláteis, e de quais plantas são atrativos para o parasitoide *T. podisi* facilita o uso e desenvolvimento de programa de controle biológico. Os resultados obtidos neste estudo podem mostrar quais plantas induzem defesa quando são atacadas por *E. heros*, e assim são mais atrativas para o parasitoide, como visto com plantas de milho e girassol. A identificação dos compostos relacionados com a atração dos parasitoides é o passo prévio para aplicação no campo destes conhecimentos. Uma vantagem de conhecer as misturas de COVs que podem atrair os parasitoides é que diferentes combinações entre consórcios de plantas podem ser feitas, e estabelecer quais espécies podem ser utilizadas para favorecer o controle biológico conservativo. Adicionalmente a identificação dos compostos pode viabilizar outra estratégia de manejo dos inimigos naturais mediante a aplicação direta destes compostos (ou suas misturas) em campo para atração/retenção dos parasitoides em áreas específicas.

8 CONCLUSÃO

A injúria por herbivoria e/ou oviposição e herbivoria conjuntamente de *E. heros* induz à produção de COVs em plantas de milho, feijão guandu e girassol. O parasitoide *T. podisi* é atraído por odores de plantas de milho e feijão guandu quando são induzidas por injúria de herbivoria e oviposição e herbivoria conjuntamente do percevejo *E. heros*, e odores de plantas de girassol induzidas por herbivoria do percevejo.

REFERÊNCIAS

ABASS, A. B. et al. Post-harvest food losses in a maize-based farming system of semi-arid savannah area of Tanzania. **Journal of Stored Products Research**, Elmsford, v. 57, p. 49-57, Apr. 2014.

ALBORN, H. T. et al. An Elicitor of plant volatiles from beet armyworm oral secretion. **Science**, New York, v. 276, n. 5314, p. 945-949, 1997.

AQUINO, M. et al. Influence of visual cues on host-searching and learning behaviour of the egg parasitoids *Telenomus podisi* and *Trissolcus basal*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 145, n. 2, p. 162-174, 2012.

AZAMBUJA, R.; DEGRANDE, P. E.; PEREIRA, F. F. Comparative biology of *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) feeding on cotton and soybean reproductive structures. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 42, n. 4, p. 359-365, 2013.

BARRETT, M.; SCHMIDT, J. M. A comparison between the amino acid composition of an egg parasitoid wasp and some of its hosts. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 59, n. 2, p. 29-41, May 1991.

BLEEKER, M. A. K. et al. Differences in memory dynamics between two closely related parasitoid wasp species. **Animal Behaviour**, Amsterdam, v. 71, n. 6, p. 1343-1350, 2006.

BORGES, M. et al. **Metodologias de criação e manejo de colônias de percevejos da soja (Hemiptera: Pentatomidae) para estudos de comportamento e ecologia química**. Brasília: EMBRAPA Cenargen, 2006. 18 p. (Documentos, 182).

BORGES, M. et al. Monitoring the Neotropical brown stink bug *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) with pheromone-baited traps in soybean fields. **Journal of Applied Entomology**, Hamburg, v. 135, n. 1/2, p. 68-80, 2011.

BORGES, M. et al. Semiochemical and physical stimuli involved in host recognition by *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae) toward *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae). **Physiological Entomology**, Oxford, v. 24, n. 3, p. 227-233, Sept. 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Vegetal:** exportação. Brasília, 2009. Disponível em: <<http://agricultura.gov.br/vegetal/exportacao>>. Acesso em: 6 fev. 2014.

BRUCE, T. J.; PICKETT, J. A. Plant defence signalling induced by biotic attacks. **Current Opinion in Plant Biology**, Oxford, v. 10, n. 4, p. 387-392, 2007.

CINGOLANI, M. F.; GRECO, N. M.; LILJESTHRÖM, G. G. Effect of *Telenomus podisi*, *Trissolcus urichi*, and *Trissolcus basal* (Hymenoptera: Platygasteridae) age on attack of *Piezodorus guildinii* (Hemiptera: Pentatomidae) Eggs. **Environmental Entomology**, College Park, v. 43, n. 2, p. 377-383, 2014.

COLAZZA, S. et al. Insect oviposition induces volatile emission in herbaceous plants that attracts egg parasitoids. **Journal of Experimental Biology**, Cambridge, v. 207, n. 1, p. 47-53, 2004.

COLAZZA, S.; MCELFFRESH, J. S.; MILLAR, J. G. Identification of volatile synomones, induced by *Nezara viridula* feeding and oviposition on bean spp., that attract the egg parasitoid *Trissolcus basal*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 30, n. 5, p. 945-964, 2004.

COOK, S. M.; KHAN, Z. R.; PICKETT, J. A. The use of push-pull strategies in integrated pest management. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 52, p. 375-400, Jan. 2007.

COPATTI, J. F.; OLIVEIRA, N. C. Danos iniciais causados pelos percevejos *Dichelops melacanthus* e *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) em plantas de milho. **Campo Digital**, Campo Mourão, v. 6, n. 1, p. 1-8, 2011.

CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. Seasonal occurrence and host spectrum of egg parasitoids associated with soybean stink bugs. **Biological Control**, Orlando, v. 5, n. 2, p. 196-202, June 1995.

COSTA, A. et al. Effects of rewarding and unrewarding experiences on the response to host-induced plant odors of the generalist parasitoid *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae). **Journal of Insect Behavior**, New York, v. 23, n. 4, p. 303-318, July 2010.

COUTINOT, D. et al. Exchange of natural enemies for biological control: is it a rocky road?: the road in the euro-mediterranean region and the South American common market. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 42, n. 1, p. 1-14, 2013.

DAS, A. et al. Plant volatiles as method of communication. **Plant Biotechnology Reports**, London, v. 7, n. 1, p. 9-26, 2013.

DAUPHIN, G. et al. Host kairomone learning and foraging success in an egg parasitoid: a simulation model. **Ecological Entomology**, London, v. 34, n. 2, p. 193-203, 2009.

DE BOER, J. G. et al. Prey and non-prey arthropods sharing a host plant: effects on induced volatile emission and predator attraction. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 34, n. 3, p. 281-90, 2008.

DE SANTIS, F. et al. Colleterial glands of *Sesamia nonagrioides* as a source of the host-recognition kairomone for the egg parasitoid *Telenomus busseolae*. **Physiological Entomology**, Oxford, v. 33, n. 1, p. 7-16, 2008.

DICKE, M. et al. Plant strategies of manipulating predator-prey interactions through allelochemicals: prospects for application in pest control. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 16, n. 11, p. 3091-3118, 1990.

DICKE, M.; IAN, T. B. The evolutionary context for herbivore-induced plant volatiles: beyond the 'cry for help'. **Trends in Plant Science**, Oxford, v.15, n. 3, p. 167-175, 2010.

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

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Produção de milho na agricultura familiar**. Sete Lagoas, 2011. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/milho-e-sorgo/busca-de-publicacoes/publicacao/920747/variacao-da-producao-estadual-de-milho-no-brasil-entre-2000-e-2009>>. Acesso em: 10 jan. 2015.

FATOUROS, N. E. et al. Oviposition-induced plant cues: do they arrest *Trichogramma* wasps during host location? **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 115, n. 1, p. 207-215, 2005.

FATOUROS, N. E. et al. Review foraging behavior of egg parasitoids exploiting chemical information. **Behavioral Ecology**, Oxford, v. 19, n. 3, p. 677-689, 2008.

FAVETTI, B. M.; BUTNARIU, A. R.; DOETZER, A. K. Storage of *Euschistus heros* Eggs (Fabricius)(Hemiptera: Pentatomidae) in liquid nitrogen for parasitization by *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Platygasteridae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 43, n. 3, p. 291-293, 2014.

FRAENKEL, G. S. The raison d'être of secondary plant substances these odd chemicals arose as a means of protecting plants from insects and now guide insects to food. **Science**, New York, v. 129, n. 3361, p. 1466-1470, 1959.

GATEHOUSE, J. A. Plant resistance towards insect herbivores: a dynamic interaction. **New Phytologist**, Cambridge, v.156, n. 2, p. 145-169, Nov. 2002.

GAZIT, Y.; LEWIS, W. J.; TUMLINSON, J. H. Arrestement of *telenomus remus* (hymenoptera: scelionidae) by a kairomone associated with eggs of its host, *spodoptera frugiperda* (lepidoptera: noctuidae). **Biological Control**, Orlando, v. 6, n. 2, p.283-290, Apr. 1996.

GIRLING, R. D.; HASSALL, M. Behavioural responses of the seven-spot ladybird *Coccinella septempunctata* to plant headspace chemicals collected from four crop Brassicas and *Arabidopsis thaliana*, infested with *Myzus persicae*. **Agricultural and Forest Entomology**, London, v. 10, n. 4, p. 297-306, 2008.

GODFRAY, H. C. J. **Parasitoids, behavioural and evolutionary ecology**. New Jersey: Princeton University, 1994. 473 p.

GODIN, C.; BOIVIN, G. Effects of host age on parasitism and progeny allocation in Trichogrammatidae. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 97, n. 2, p. 149-160, Nov. 2000.

GUERRIERI, E.; DIGILIO, M. C. Aphid-plant interactions: a review. **Journal of Plant Interactions**, Dordrecht, v. 3, n. 4, p. 223-232, 2008.

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

HILKER, M. et al. Insect egg deposition induces *Pinus sylvestris* to attract egg parasitoids. **Journal of Experimental Biology**, Cambridge, v. 205, n. 4, p. 455-461, 2002.

HILKER, M.; MCNEIL, J. Chemical and behavioral ecology in insect parasitoids: how to behave optimally in a complex odorous environment. In: **Behavioral ecology of insect parasitoids: from theoretical approaches to field applications**. Malden: Wiley-Blackwell, 2008. p. 97-100.

HILKER, M.; MEINERS, T. Early herbivore alert: insect eggs induce plant defense. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 32, n. 7, p. 1379-1397, July 2006.

HILKER, M.; MEINERS, T. Induction of plant responses to oviposition and feeding by herbivorous arthropods: a comparison. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 104, n. 1, p. 181-192, 2002.

HILKER, M.; TORSTEN, M. How do plants “notice” attack by herbivorous arthropods? **Biological Reviews**, Cambridge, v. 85, n. 2, p. 267-280, 2010.

JIAWEI, D. et al. Isolation and identification of chemical structure of the kairomone influencing oviposition behaviour of *Tetrastucis schoenobii*. Ferriere. **Kexue Tongbao**, Beijing, v. 27, p. 766-770, 1982.

KARBAN, R.; MYERS, J. H. Induced plant responses to herbivory. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 20, n. 1, p. 331-348, 1989.

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

LAUMANN, R. A. et al. Eavesdropping on sexual vibratory signals of stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae) by the egg parasitoid *Telenomus podisi*. **Animal Behaviour**, Amsterdam, v. 73, n. 4, p. 637-649, 2007.

LAUMANN, R. A. et al. Egg parasitoid wasps as natural enemies of the neotropical stink bug *Dichelops melacanthus*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 5, p. 442-449, maio 2010.

LAUMANN, R. A. et al. Response of the egg parasitoids *Trissolcus basalus* and *Telenomus podisi* to compounds from defensive secretions of stink bugs. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 35, n. 1, p. 8-19, 2009.

LAUMANN, R. A. et al. Silent singers are not safe: selective response of a parasitoid to substrate-borne vibratory signals of stink bugs. **Animal Behaviour**, Amsterdam, v. 82, n. 5, p. 1175-1183, 2011.

LEENTEREN, J. C. van. The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. **Biological Control**, Orlando, v. 57, n. 1, p. 1-20, 2012.

LEENTEREN, J. C. van; WOETS, J. V. Biological and integrated pest control in greenhouses. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 33, n. 1, p. 239-269, 1988.

LEOPOLD, E. J. Selective hydroboration of a 1, 3, 7-triene: homogeneraniol. **Organic Synthesis**, Cambridge, v. 64, p. 164-171, 1990.

LOPES, A. P. S. et al. Notas científicas defesas induzidas por herbivoria e interações específicas no sistema tritrófico soja-percevejos-parasitoides de ovos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.47, n. 6, p. 875-878, jun. 2012.

LUO, S.; NARANJO, S. E.; WU, K. Biological control of cotton pests in China. **Oecologia**, Berlin, v. 68, p. 6-14, Jan. 2014.

MACHADO, R. C. M. et al. Herbivory-induced plant volatiles from *Oryza sativa* and their influence on chemotaxis behaviour of *Tibraca limbativentris* stal. (Hemiptera: Pentatomidae) and egg parasitoids. **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 104, n. 3, p. 347-356, 2014.

MALAGUIDO, A. B.; PANIZZI, A. R. Damage of *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) to sunflower seeds. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 27, n. 4, p. 535-541, 1998.

MEDEIROS, M. A. et al. Incidência natural de parasitoides em ovos de percevejos (Hemiptera; Pentatomidae) encontrados na soja no distrito Federal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 8, p. 1431-1435, ago. 1998.

MEDEIROS, M. A. et al. Parasitismo e predação em ovos de *Euschistus heros* (Fab.) (Heteroptera: Pentatomidae) no Distrito Federal, Brasil. **Anais da Sociedade Entomologica do Brasil**, Jaboticabal, v. 26, n. 2, p. 397-401, ago. 1997.

MEINERS, T.; HILKER, M. Host location in *Oomyzus gallerucae* (Hymenoptera: Eulophidae), an egg parasitoid of the elm leaf beetle *Xanthogaleruca*. **O ecologia**, Berlin, v. 112, n. 1, p. 87-93, Sept.1997.

MEINERS, T.; HILKER, M. Induction of plant synomones by oviposition of a phytophagous insect. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 26, n. 1, p. 221-232, Jan. 2000.

METCALF, R. L. Insecticides in pest management. In: METCALF, R.L.; LUCKMANN, W.H.(Ed.). **Introduction to insect pest management**. New York: J. Wiley, 1994. p. 245-284.

MICHEREFF, F. F.M. et al. Volatiles mediating a plant-herbivore-natural enemy interaction in resistant and susceptible soybean cultivars. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 37, n. 2, p. 273-285, Mar. 2011.

MICHEREFF, M. F. et al. Influence of volatile compounds from herbivore-damaged soybean plants on searching behavior of the egg parasitoid *Telenomus podisi*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 147, n. 1, p. 9-17, 2013.

MORAES, C. B. et al. Induced volatiles in soybean and pigeon pea plants artificially infested with the neotropical brown stink bug, *Euschistus heros*, and their effect on the egg parasitoid, *Telenomus podisi*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 115, n. 1, p. 227-237, 2005.

MORAES, C. M. de; PARE, P. W. Herbivore-infested plants selectively attract parasitoids. **Nature**, London, v. 393, p. 570-573, June 1998.

MORAES, M. C. et al. Food and humidity affect sex pheromone ratios in the stink bug, *Euschistus heros*. **Physiological Entomology**, Oxford, v. 33, n. 1, p. 43-50, 2008a.

MORAES, M. C. et al. Response of the parasitoid *Telenomus podisi* to induced volatiles from soybean damaged by stink bug herbivory and oviposition. **Journal of Plant Interactions**, Dordrecht, v. 3, n. 2, p. 111-118, 2008b.

MORAES, M. C. B. et al. Attraction of the stink bug egg parasitoid *Telenomus podisi* to defence signals from soybean activated by treatment with cis-jasmone. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 131, n. 2, p. 178-188, 2009.

MUMM, R. et al. Chemical analysis of volatiles emitted by *Pinus sylvestris* after induction by insect oviposition. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 29, n. 5, p. 1235-1252, 2003.

MUMM, R.; HILKER, M. The significance of background odour for an egg parasitoid to detect plants with host eggs. **Chemical Senses**, Oxford, v. 30, n. 4, p. 337-343, 2005.

PACHECO, D. J.; CORRÊA-FERREIRA, B. S. Parasitismo de *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae) em populações de percevejos pragas da soja. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v. 29, n. 2, p. 295-302, 2000.

PAK, G. A. Behavioral variations among strains of *Trichogramma* spp. **Journal of Applied Entomology**, Hamburg, v. 101, p. 55-64, 1986.

PANIZZI, A. R. History and contemporary perspectives of the integrated pest management of soybean in Brazil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 42, n. 2, p. 119-127, 2013.

PANIZZI, A. R. Nutritional ecology of seed-sucking insects of soybean and their management. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.82, n.3, p. 161-175, 1987. Suplemento.

PANIZZI, A. R. Wild hosts of Pentatomids: ecological significance and role in their pest status on crops. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 42, n. 151, p. 99-122, 1997.

PANIZZI, A. R.; OLIVEIRA, E. D. M. Performance and seasonal abundance of the Neotropical brown stink bug, *Euschistus heros* nymphs and adults on a novel food plant (pigeon pea) and soybean. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 88, n. 2, p. 169-175, Aug. 1998.

PANIZZI, A. R.; VIVAN, L. M. Seasonal abundance of the neotropical brown stink bug, *Euschistus heros*, in overwintering sites, and the breaking of dormancy. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 82, n. 2, p. 213-217, 1997.

PARE, P. W.; TUMLINSON, J. H. Update on plant-insect interactions plant volatiles as a defense against insect Herbivores. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 121, n. 2, p. 325-331, Oct. 1999.

PARRA, J. R. P. et al. Controle biológico: terminologia. In: PARRA, J. R. P. (Ed.). **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 1-3.

PASHALIDOU, F. G. et al. The use of oviposition-induced plant cues by *Trichogramma* egg parasitoids. **Ecological Entomology**, London, v. 35, n. 6 p. 748-753, 2010.

PEREIRA, M. F.; TRIGO, J. R. Ants have a negative rather than a positive effect on extrafloral nectaried *Crotalaria pallida* performance. **Acta Oecologica**, New York, v. 51, p. 49-53, Aug. 2013.

PILKINGTON, L. J. et al. Protected biological control: biological pest management in the greenhouse industry. **Biological Control**, Orlando, v. 52, n. 3, p. 216-220, 2010.

POECKE, R. M. P. van; DICKE, M. Indirect defence of plants against herbivores: using *Arabidopsis thaliana* as a model plant. **Plant Biology**, Stuttgart, v. 6, n. 4, p. 387-401, 2004.

POMARI, A. F. et al. *Telenomus remus* Nixon egg parasitization of three species of Spodoptera under different temperatures. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 42, n. 4, p. 399-406, 2013.

RASMANN, S. et al. Recruitment of entomopathogenic nematodes by insect-damaged maize roots. **Nature**, London, v. 434, p. 732-737, Apr. 2005.

RATNADASS, A. et al. Potential of pigeon pea as a trap crop for control of fruit worm infestation and damage to okra. **Agricultural and Forest Entomology**, London, v. 16, n. 4, p. 426-433, 2014.

RODRIGUEZ-SAONA, C. R. et al. Molecular, biochemical, and organismal analyses of tomato plants simultaneously attacked by herbivores from two feeding guilds. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 36, n. 10, p. 1043-1057, 2010.

SCHOONHOVEN, L. M.; LOON, J. V.; DICKE, M. **Insect-plant biology**. Oxford: Oxford University, 2005. 54 p.

SILVA, C. C. et al. *Euschistus heros* mass rearing technique for the multiplication of *Telenomus podisi*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 5, p. 575-580, maio 2008.

SILVA, C. C. et al. Sensory response of the egg parasitoid *Telenomus podisi* to stimuli from the bug *Euschistus heros*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 7, p. 1093-1098, jul. 2006.

SILVA, F. A.; PANIZZI, A. R. Oviposition of the neotropical brown stink bug *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae) on artificial and on natural substrates. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 92, n. 3, p. 513-515, 2009.

SILVA, F. A. C. et al. Feeding activity, salivary amylase activity, and superficial damage to soybean seed by adult *Edessa meditabunda* (F.) and *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 41, n. 5, p. 386-390, 2012.

SMITH, R. F. Pesticides: their use and limitations in pest management. In: RABB, R.L.; GUTHRIE, F.E. (Ed.). **Concepts of pest management**. Raleigh: North Carolina State University, 1970. p. 103-113.

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

SOUZA, L. A. et al. Spatial distribution of *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) in soybean. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 42, n. 4, p. 412-418, 2013.

STEIDLE, J. L.; FISCHER, A.; GANTERT, C. Do grains whisper for help?: evidence for herbivore-induced synomones in wheat grains. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 115, n. 1, p. 239-245, 2005.

STRAND, M. R.; VINSON, S. B. Host acceptance of *Telenomus heliothidis* (Hymenoptera, Scelionidae) toward *Heliothis virescens* (Lepidoptera, Noctuidae). **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 76, p. 781-785, 1983.

SUJII, E. R. et al. Inter and intra-guild interactions in egg parasitoid species (1). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 11, p. 1541-1549, nov. 2002.

TAMIRU, A. et al. Maize landraces recruit egg and larval parasitoids in response to egg deposition by a herbivore. **Ecology Letters**, Oxford, v. 14, n. 11, p. 1075-1083, 2011.

TIMBÓ, R. V. et al. Biochemical aspects of the soybean response to herbivory injury by the brown stink bug *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae). **PLoS ONE**, San Francisco, v. 9, n. 10, Oct. 2014. Disponível em: <<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0109735>>. Acesso em: 10 nov. 2014.

TURLINGS, T. C. et al. Learning of host-finding cues by hymenopterous parasitoids. In: _____. **Insect learning**. New York: Springer, 1993. p. 51-78.

VET, L. E. Evolutionary aspects of plant-carnivore interactions. In: _____. **Novartis foundation symposium**. New York: Wiley, 1999. p. 3-12.

VET, L. E.; LEWIS, W. J.; CARDE, R. T. Parasitoid foraging and learning. In: _____. **Chemical ecology of insects**. New York: Springer, 1995. p. 65-101.

VET, L. E. M. et al. The effect of complete versus incomplete information on odour discrimination in a parasitic wasp. **Animal Behaviour**, Amsterdam, v. 55, n. 5, p. 1271-1279, 1998.

VIEIRA, C. R. et al. Field evaluation of (E)-2-hexenal efficacy for behavioral manipulation of egg parasitoids in soybean. **Biological Control**, Orlando, v. 59, n. 5, p. 525-537, 2014.

VIEIRA, C. R. et al. *cis*-Jasmone indirect action on egg parasitoids (Hymenoptera: Scelionidae) and its application in biological control of soybean stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae). **Biological Control**, Orlando, v. 64, n. 1, p. 75-82, 2013.

VINSON, S. B. The general host selection behavior of parasitoid Hymenoptera and a comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. **Biological Control**, Orlando, v. 11, n. 2, p. 79-96, Feb. 1998.

ZHOU, Y. et al. Increasing host age does not have the expected negative effects on the fitness parameters of an egg parasitoid. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 151, n. 2, p. 106-111, 2014.

ANEXOS

ANEXO A - Criação do percevejo *E. heros* no laboratório de Semioquímicos
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia Brasília-DF.

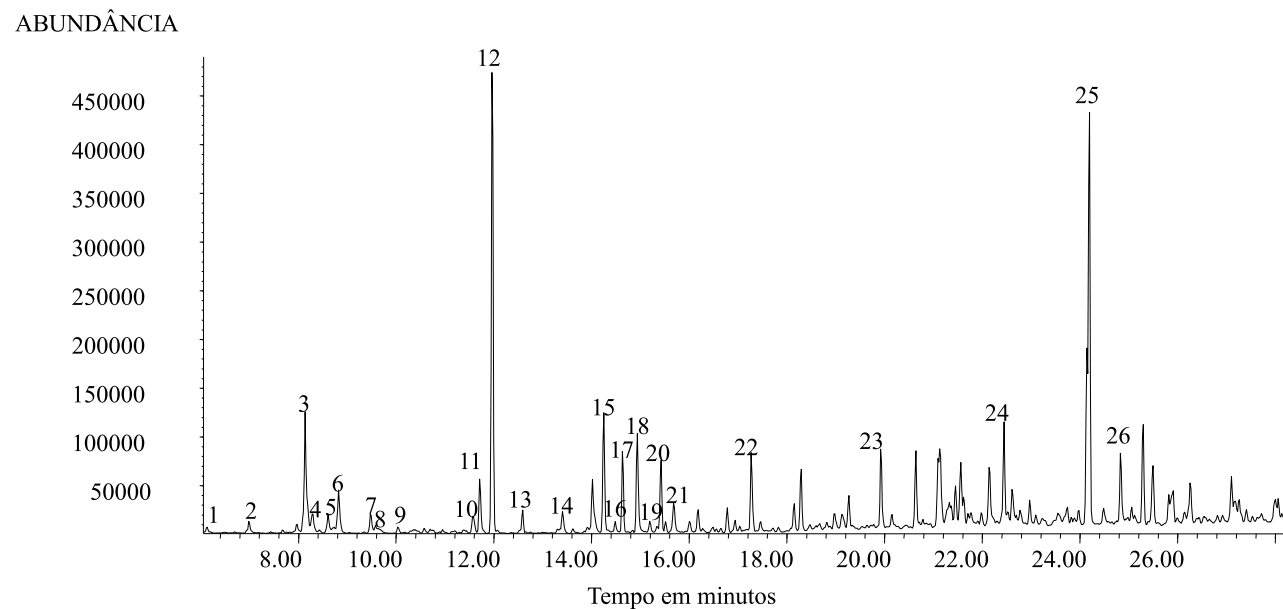


Fotos: Cecília Vieira

ANEXO B - Criação do parasitoide *T. podisi* no laboratório de Semioquímicos
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia Brasília-DF

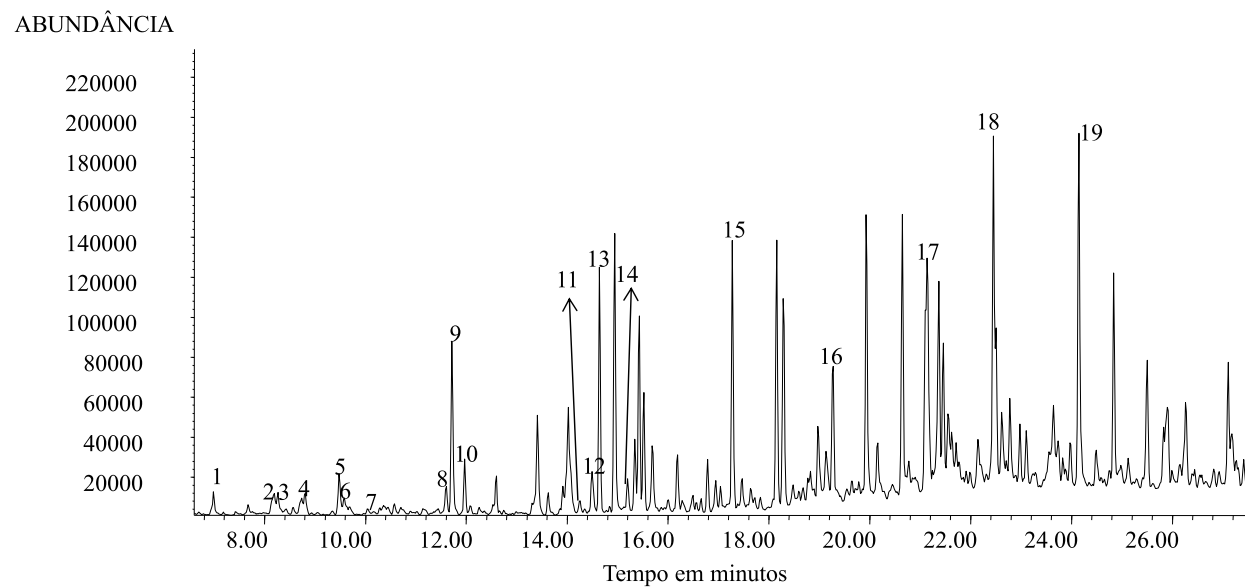


ANEXO C - Cromatograma de compostos de planta de feijão guandu sem injúria. 72h de aeração.



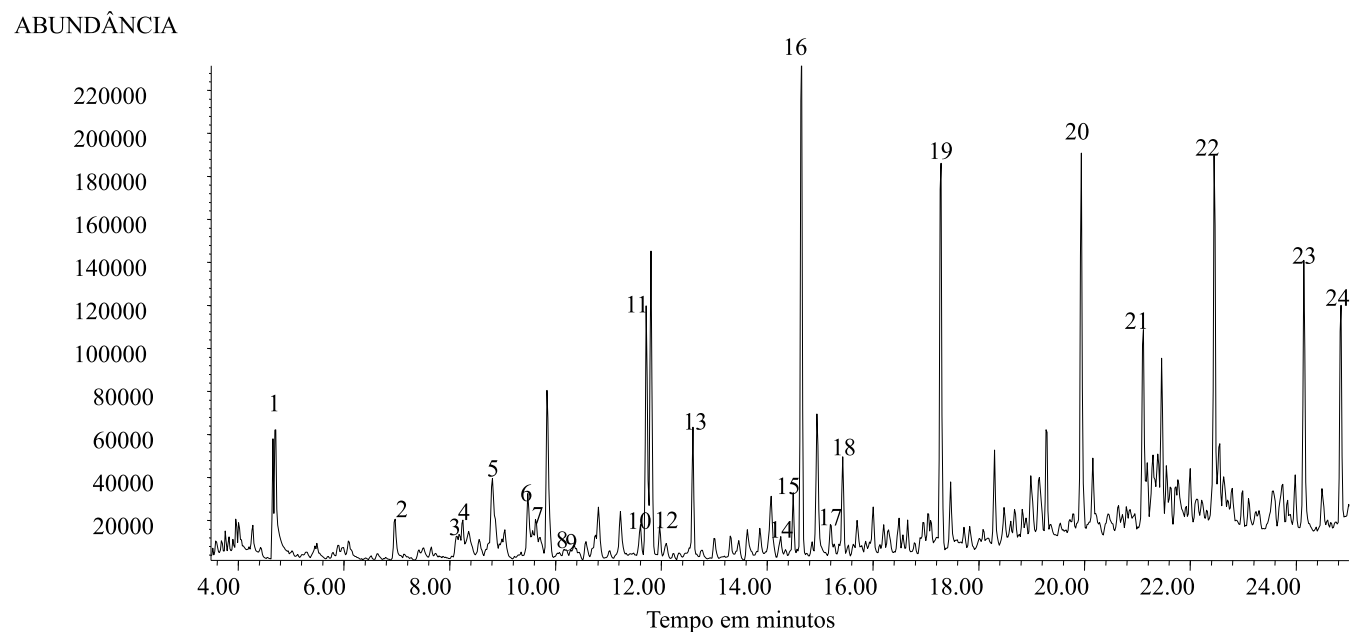
1)heptanal, 2) α -Pineno, 3) (E)-3-octen-1-ol, 4) 3-octanona e 6 methyl-5hepetn-2-ona , 5) 3-octanol, 6) (Z)-3-acetado de hexenila, 7) 2-etil-hexen-1-ol, 8) Limoneno, 9) β -E-ocimeno, 10) linalol, 11) nonanal, 12) DMNT, 13) impureza, 14) 4-etilbenzaldeído, 15) salicilato de metila, 16) dodecano, 17) decanal, 18) Etanol,, 19) benzotiazol, 20) ciclohexil isotiocianato, 21) fenoxi propanol , 22) tridecano, 23) tetradecano, 24) petadecano, 25) TMTT, 26) hexadecane

ANEXO D - Cromatograma de compostos de planta de feijão guandu com injúria de herbivoria. 72h de aeração.



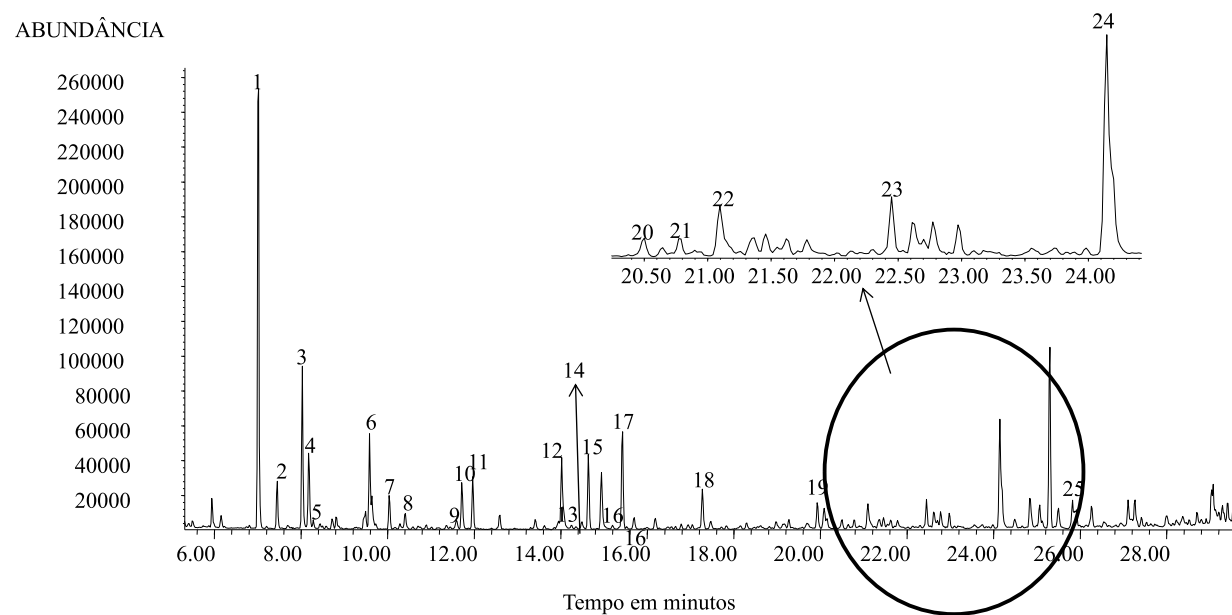
1) α -pineno, 2) β -pineno, 3) .6-metil-5-heptene-2-ona , 4) decano, 5) 2-etil-hexan-1-ol, 6) limoneno, 7) (E)-B-ocimeno, 8) undecano, 9) nonanal, 10) DMNT, 11) salicilato de metila. 12) dodecano, 13) decanal , 14) benzotiazol, 15)tridecano, 16) tetradecano, 17) geranil acetona, 18) pentadecano, 19) TMTT.

ANEXO E - Cromatograma de compostos de planta de feijão guandu com injúria de herbivoria+ oviposição. 72h de aeração.



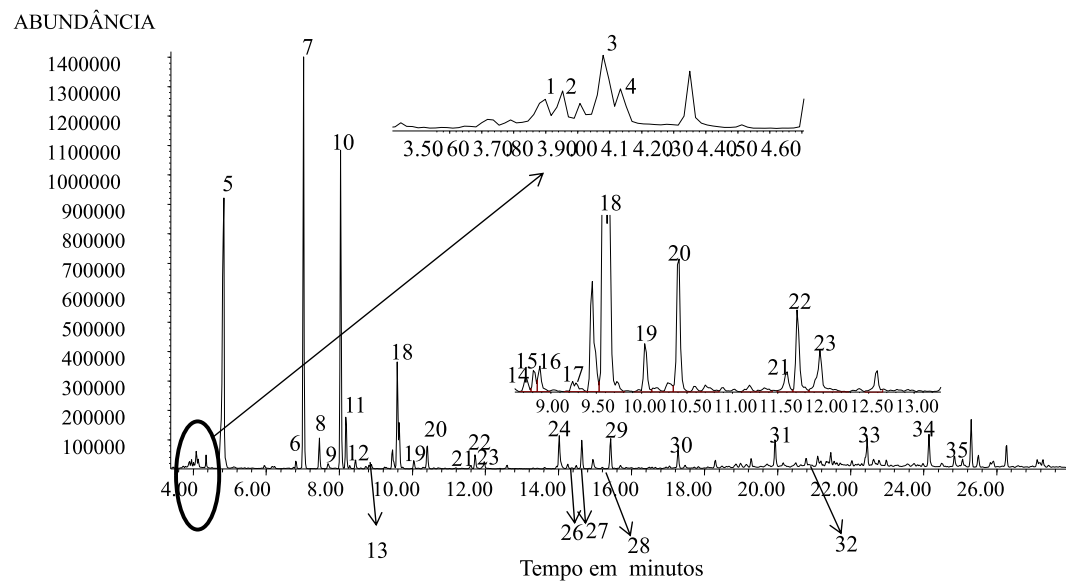
1) contaminante, 2) α -pineno, 3) β -pineno, 4) .6-metil-5-hepten-2-ona, 5) 3 Z acetato de hexenila , 6) 2-etil-1-hexanol, 7) Limoneno, 8) β -E-Ocimeno, 9) γ -Terpineno, 10) undecano, 11) nonanal, 12) DMNT, 13) impureza, 14)salicilato de metila, 15) dodecano, 16) decanal, 17) benzotiazol, 18) ciclohexil isothiocianato, 19) tridecano, 20) tetradecano, 21) geranil acetona, 22) petadecane, 23) TMTT, 24) hexadecane

ANEXO F - Cromatograma de compostos de planta de girassol sem injúria. 72h de aeração. O círculo em azul corresponde a detalhe do cromatograma nos tempos de retenção 20 a 24 m.



1) α -Pinoeno, 2) Camfeno, 3) β -filandreno, 4) β -pinene, 5) 6-metil-5-hepten-2-ona, 6) limoneno, 7) β -E-Ocimeno, 8) γ -terpinen, 9) undecano, 10) nonanal, 11) DMNT, 12) impureza, 13) salicilato de metila, 14) dodecano, 15) decanal, 16) benzotiazol, 17) ciclohexil isotiocianato, 18) tridecano, 19) tetradecano, 20) β -cariofileno, 21) β -gurjuneno, 22) geranil acetona, 23) petadecano, 24) TMTT, 25) hexadecane

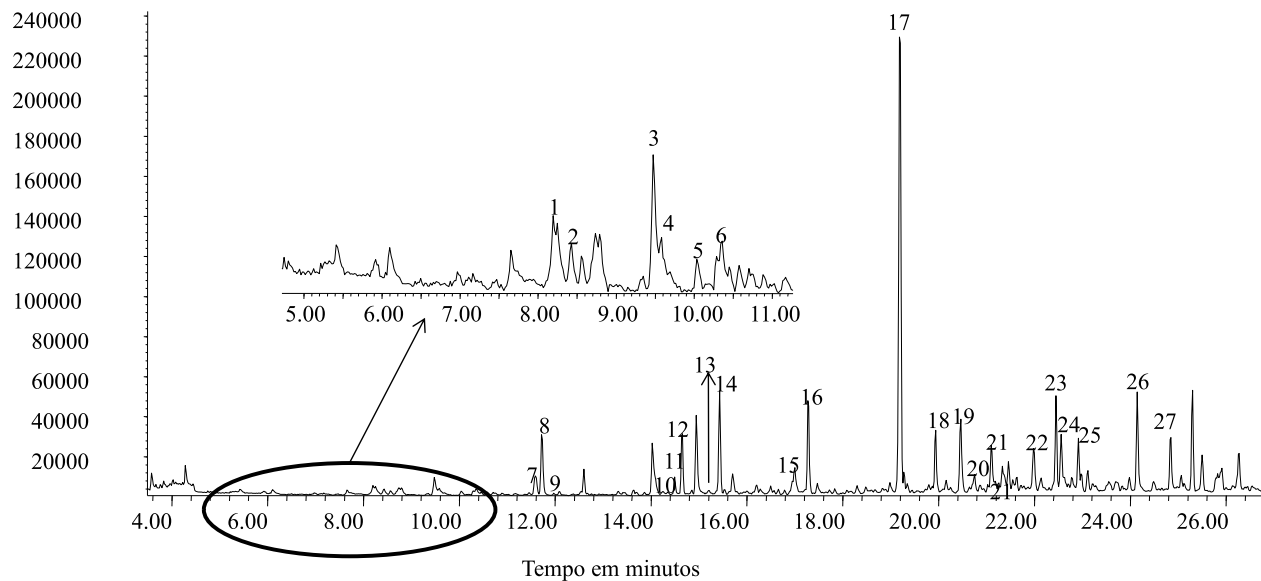
ANEXO G - Cromatograma de compostos de planta de girassol com injúria de herbivoria+oviposição. 72h de aeração. O círculo em azul corresponde a detalhe do cromatograma nos tempos de retenção 3,5 a 5,60 m.



- 1) 3-hexanona, 2) 2-hexanona, 3) 3-penten-2-ona, 4) methyl-,4- 2-Hexanol, 5) 4-hidroxy-4-metil-2-Pentanona, 6) α -fielandreno, 7) α -pineno, 8) camphene, 9) 3-methyl-2-ciclopentenona, 10) β -filandreno, 11) β -pinene, 12) .6-metil-5-hepten-2-ona, 13) β -mirceno, 14) ciclohexil isocianate, 15) Octanal, 16) impureza 17) α -terpineno, 18) limoneno, 19) β -E-Ocimeno, 20) γ -terpineno, 21) undecano, 22) nonanal, 23) DMNT, 24) impureza, 25) salicilato de metila, 26) dodecano, 27) decanal, 28) benzotiazol, 29) ?, 30) tridecano, 31) tetradecano, 32) geranyl acetona, 33) petadecano, 34) TMTT, 35) hexadecano.

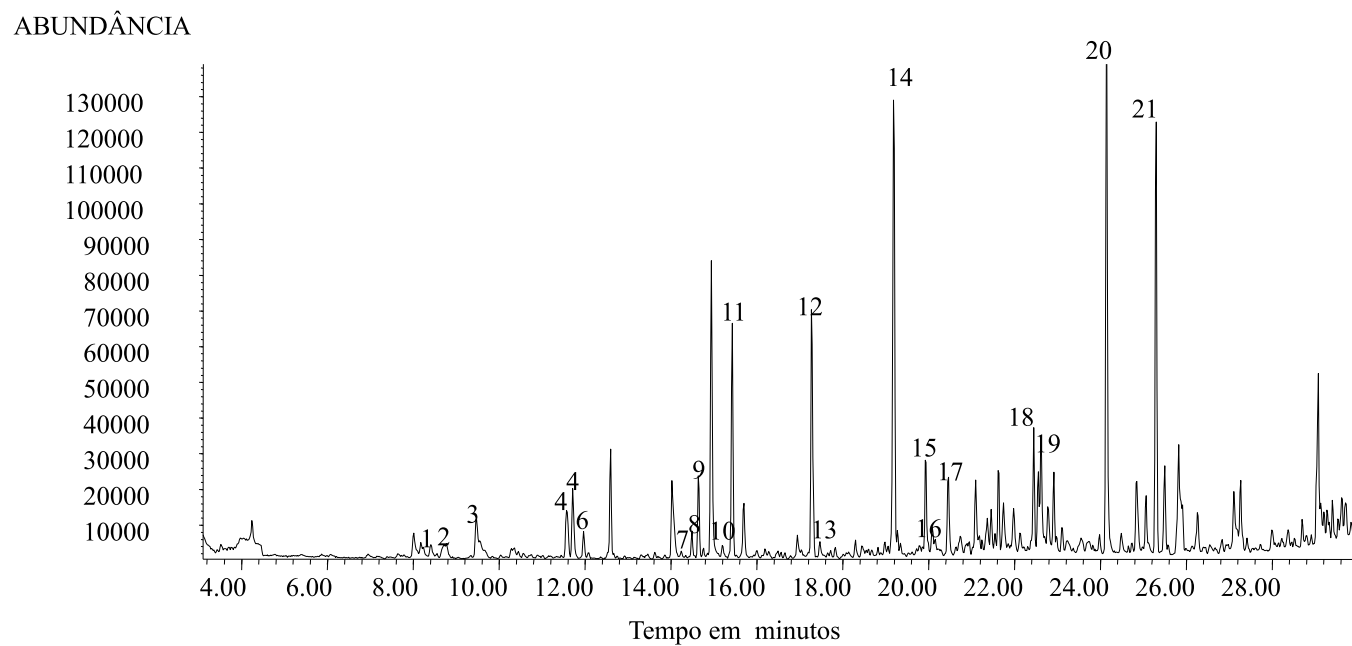
ANEXO H - Cromatograma de compostos de planta de milho sem injúria. 72h de aeração. O círculo em azul corresponde a detalhe do cromatograma nos tempos de retenção 5,0 a 11 m..

ABUNDÂNCIA



1) 6-metil-5-hepten-2-onA, 2) β -mirreno, 3) 2-ethyl-hexan-1-ol, 4) limoneno, 5) β -E-Ocimeno, 6) E)-2-octenal, 7) linalol, 8) nonanal, 9) DMNT, 10) salicilato de metila, 11) dodecano, 12) decanal, 13) benzotiazol, 14) ciclohexil isotiocianato, 15) indol, 16) tridecano, 17) (+)-ciclosativeno, 18) tetradecano, 19) sesquiterpeno ?, 20) sesquiterpeno, 21) geranyl acetona, 22) γ -gurjuneno, 23) petadecano, 24) δ -cadineno, 25) δ -cadineno, 26) TMTT, 27) hexadecane.

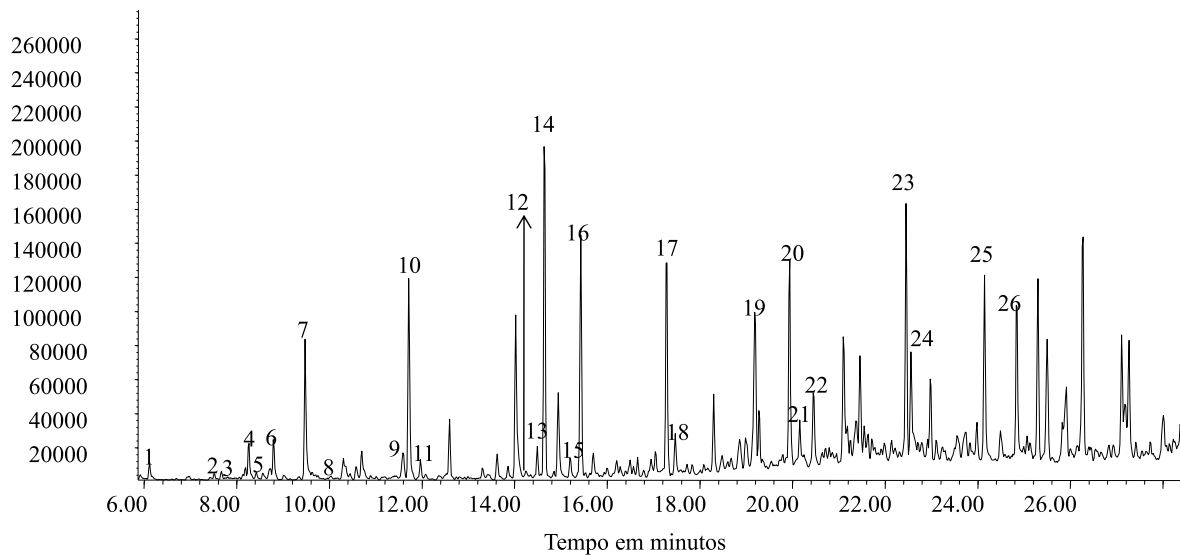
ANEXO I - Cromatograma de compostos de planta de milho com injúria de herbivoria. 72h de aeração.



- 1) 6-metil-5-hepten-2-ona, 2) β -mirceno, 3) 2-etil-1-hexanol, 4) linalol, 5) nonanal, 6) DMNT, 7) salicilato de metila, 8) dodecano, 9) decanal, 10) benzotiazol, 11) ciclohexil isotiocianato, 12) tridecano, 13) undecanal, 14) ciclosativeno, 15) tetradecano, 16) dodecanal, 17) β -cubeneno, 18) pentadecano, 19) Δ -cadineno, 20) TMTT, 21) hexadecano.

ANEXO J - Cromatograma de compostos de planta de milho com injúria de herbivoria+oviposição. 72h de aeração.

ABUNDÂNCIA



1) heptanal, 2) (E)-2-hexenal, 3) Benzaldeído, 4) 6-metil-5-hepten-2-ona, 5) β -miraceno, 6) octanal, 7) 2-etil-1-hexanol, 8) (E)-B-ocimene, 9) linalol, 10) nonanal, 11) DMNT, 12) salicilato de metila, 13) dodecane, 14) decanal, 15) benzotiazol, 16) ciclohexil isotiocianato, 17) tridecano, 18) undecanal, 19) ciclosativeno, 20) tetradecano, 21) dodecanal, 22) β cubeneno, 23) pentadecano, 24) delta-cadinene, 25) TMTT, 26) hexadecane.