



MAYARA SILVA OLIVEIRA

**HERBIVORIA MÚLTIPLA NA INDUÇÃO DE
VOLÁTEIS ATRATIVOS A *Cycloneda sanguinea*
(LINNAEUS, 1763) (COLEOPTERA:
COCCINELLIDAE)**

LAVRAS-MG

2014

MAYARA SILVA OLIVEIRA

**HERBIVORIA MÚLTIPLA NA INDUÇÃO DE VOLÁTEIS ATRATIVOS
A *Cycloneda sanguinea* (LINNAEUS, 1763) (COLEOPTERA:
COCCINELLIDAE)**

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. Martin Francisco Pareja Piaggio

LAVRAS-MG

2014

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

Oliveira, Mayara Silva.

Herbivoria múltipla na indução de voláteis atrativos a *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus, 1763) (Coleoptera: Coccinellidae) / Mayara Silva Oliveira. – Lavras : UFLA, 2014.

58 p. : il.

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

Orientador: Martin Francisco Pareja Piaggio.

Bibliografia.

1. Compostos orgânicos voláteis. 2. Joaninha. 3. Olfatômetro. 4. Herbivoria múltipla I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 595.7

MAYARA SILVA OLIVEIRA

HERBIVORIA MÚLTIPLA NA INDUÇÃO DE VOLÁTEIS ATRATIVOS

***A Cycloneda sanguinea* (LINNAEUS, 1763) (COLEOPTERA:
COCCINELLIDAE)**

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 2014.

Dr. Alberto José Arab Olavarrieta UNIFAL

Dra. Brígida Souza UFLA

Dr. Martín Francisco Pareja Piaggio
Orientador

LAVRAS – MG

2014

Aos meus familiares, amigos e namorado, pelo apoio e incentivo em todos os momentos.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, força, coragem, esperança e capacidade de superação proporcionada para vencer mais essa etapa.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), por intermédio do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, por ter me proporcionado a oportunidade de cursar o mestrado.

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

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), pelo financiamento do laboratório.

Ao meu orientador, professor Martín Francisco Pareja Piaggio, que foi o principal colaborador deste trabalho, muito obrigada pela oportunidade de crescimento e de ampliação dos meus conhecimentos ao longo dos anos.

A minha tia Zoraia e ao meu tio Tarcísio, pelo apoio, incentivo e, principalmente, por me acolherem.

A toda minha família: mãe, avó, irmão, tios, tias, primos e primas, pela compreensão, amizade e apoio que sempre me dedicaram.

Aos meus amigos de longa data: Camila, Celinho, Dayana e Eder, pelo companheirismo, pelo apoio e por estarem sempre presentes em minha vida, nos bons e maus momentos.

Aos amigos Ana Luiza Viana de Sousa, Gabriella Ferreira Cardoso e Bruno Barbosa Amaral, pela ajuda, apoio e por estarem sempre presentes nos bons e maus momentos.

Aos membros da banca examinadora: professor Dr. Alberto José Arab Olavarrieta, professora Dra. Brígida Souza e professor Dr. Luís Cláudio Paterno da Silveira, por se disponibilizarem e lerem este trabalho e por todas as sugestões para a melhoria do mesmo.

Aos professores do Departamento de Entomologia da UFLA, pelos ensinamentos transmitidos e a harmoniosa convivência.

Aos colegas e amigos do Programa de Pós-Graduação em Entomologia que, junto comigo, percorreram esta trajetória de muito esforço e aprendizado, pelo agradável convívio.

Aos funcionários do Departamento de Entomologia, pela colaboração em tudo que foi possível para a implantação do experimento.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Inimigos naturais de insetos herbívoros podem utilizar compostos orgânicos voláteis (COVs) liberados pelas plantas como pistas para encontrar ambientes de forrageio adequados. Quando uma planta é danificada por um herbívoro, ela pode alterar o perfil de COVs liberados, aumentando a atração desses inimigos naturais. Existem evidências de que diferentes espécies de herbívoros podem ativar rotas bioquímicas alternativas nas plantas e estas podem ter interações positivas ou negativas entre elas. Mas, ainda pouco se sabe sobre como isso pode interferir na atração de predadores. Joaninhas pertencem à família Coccinellidae e são insetos predadores em todas as fases da vida, vorazes, com alta capacidade de busca e alimentam-se, preferencialmente, de pulgões. Os pulgões são insetos sugadores, se alimentam da seiva do floema, induzindo, principalmente, a rota do ácido chiquímico. Um aspecto ainda pouco conhecido é como as interações mediadas por COVs acontecem quando há mais de uma espécie de herbívoro na planta. Com este trabalho, objetivou-se avaliar a resposta olfativa da joaninha *Cycloneda sanguinea* para plantas danificadas por duas espécies de pulgão. Foram feitos bioensaios em olfatômetro em Y, nos quais foram oferecidos odores de plantas de pimentão sem dano e danificadas pelos pulgões *Aphis gossypii* e *Myzus persicae*, ou por ambos. As plantas danificadas pelos pulgões *A. gossypii* e *M. persicae* foram significativamente mais atraentes do que as plantas sem dano. *C. sanguinea* mostrou maior resposta para COVs de plantas danificadas pelas duas espécies de pulgão, seja de forma conjunta ou sequencial, do que para plantas danificadas por uma espécie só. O estudo permitiu concluir que a joaninha é atraída pelos COVs das plantas danificadas por pulgões e, também, entender melhor as mudanças de COVs em plantas que sofrem herbivoria múltipla e se o dano sofrido por elas, causado por espécies diferentes de pulgões, modifica seu perfil de voláteis.

Palavras chave: Compostos orgânicos voláteis. Joaninha. Olfatômetro. Herbivoria múltipla.

ABSTRACT

Natural enemies of insect herbivores can use volatile organic compounds (VOCs) released by plants as cues for finding suitable foraging environments. When a plant is damaged by a herbivore, it can change its VOC profile, increasing the attraction of these natural enemies. There is evidence that different herbivore species can activate alternative biochemical pathways in plants and these may have positive or negative interactions between them, but little is known about how this can interfere with the attraction of predators. Ladybugs of the family Coccinellidae are predatory insects in all stages of life, and have a high searching efficiency, attacking aphids as their preferred food source. Aphids are phloem-feeding insects, mainly inducing the shikimic acid pathway. A little known aspect is how the interactions mediated by plant VOCs happen when there is more than one species of herbivore feeding on the plant. This work aimed to evaluate the olfactory response of the ladybug *Cycloneda sanguinea* to plants damaged by more than one species of aphid. Olfactometer bioassays were carried out, where odors of sweet pepper plants were offered without damage and damaged by the aphids *Myzus persicae*, *Aphis gossypii* or by both. Plants damaged by aphids *A. gossypii* and *M. persicae* were significantly more attractive than plants without damage. Plants damaged by both aphids at the same time, or sequentially were more attractive than undamaged plants. From this study we conclude that the ladybug is attracted by VOCs from plants damaged by aphids, and that multiple damage does not interfere with attraction of this natural enemy. Studies with several herbivores attacking one plant are necessary to understand better the how changes in plant VOCs suffering multiple herbivory affect predator-prey interactions.

Key words: Volatile organic compounds. Ladybug. Olfactometer. Multiple herbivory.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	16
2.1 Objetivo geral	16
2.2 Objetivos específicos	16
3 REFERENCIAL TEÓRICO	17
3.1 Herbivoria	17
3.1.1 Dano por herbívoros	18
3.1.2 Indução de defesas por herbivoria	19
3.2 Interações tritróficas	20
3.2.1 Compostos Orgânicos Voláteis e atração de inimigos naturais	21
3.2.2 Efeitos de herbivoria múltipla e atração do inimigo natural	24
3.3 Sistema de estudo	26
3.3.1 Pimentão	26
3.3.2 Herbívoros	27
3.3.3 Predador	28
4. MATERIAL E MÉTODOS	30
4.1 Criações e plantios	30
4.1.1 Criação de pulgões em laboratório	30
4.1.2 Criação de <i>Cycloneda sanguinea</i>	30
4.1.3 Plantio do pimentão e pepino	31
4.1.4 Plantio de <i>Nicandra physaloides</i>	31
4.2 Resposta olfativa	31
4.2.1 Métodos gerais	31
4.2.2 Bioensaios realizados	34
4.2.3 Atração de <i>Cycloneda sanguinea</i>	34

4.2.4 Atração de <i>Cycloneda sanguinea</i> aos COVs de <i>Capsicum annum</i> danificados por <i>Aphis gossypii</i>	35
4.2.5 Atração de <i>Cycloneda sanguinea</i> aos COVs de <i>Capsicum annum</i> danificados por <i>M. persicae</i>	35
4.2.6 Atração de <i>Cycloneda sanguinea</i> aos COVs de <i>Capsicum annum</i> por danos conjuntos e sequenciais de <i>Aphis gossypii</i> e <i>Myzus persicae</i>	35
4.3- Análise dos dados	37
5- RESULTADOS	38
6- DISCUSSÃO	41
7- CONCLUSÃO	47
8- CONSIDERAÇÕES GERAIS	48
REFERÊNCIAS	49

1- INTRODUÇÃO

Herbivoria é o consumo de toda a planta viva ou de partes dela (GUREVITCH; SCHEINER; FOX, 2006). É uma interação complexa e dinâmica, na qual o consumidor primário (herbívoro) se alimenta do produtor primário (vegetal). Na natureza, a planta pode ser atacada por mais de uma espécie de herbívoro ao mesmo tempo, o que é conhecido como herbivoria múltipla. A compreensão das interações que acontecem na herbivoria é de grande importância para qualquer programa de controle biológico, pois fornece informações sobre os tipos de herbívoros que podem afetar a planta e, muitas vezes, explica por que outros inimigos naturais não tiveram o impacto esperado sobre a população de insetos-praga (ÂNGELO; DALMOLIN, 2007).

Na década de 1980, foi sugerido, pela primeira vez, que as interações ecológicas entre plantas e insetos herbívoros só podiam ser bem compreendidas se fosse considerado o terceiro nível trófico, ou seja, predadores e parasitoides (PRICE et al., 1980), assumindo uma perspectiva multitrófica, uma vez que a planta, além de agir diretamente sobre os herbívoros, também pode intermediar as relações entre os herbívoros e seus inimigos naturais. Depois desse trabalho inicial, o estudo dessas interações multitróficas tem avançado muito, principalmente na compreensão da mediação dessas interações por compostos químicos produzidos pelo metabolismo secundário das plantas.

A resistência induzida é quando as respostas reduzem a preferência ou o desempenho dos herbívoros, no entanto, é considerada defesa induzida quando as espécies de plantas expressam tais características (CORNELISSEN; FERNANDES, 2003).

As plantas têm duas importantes estratégias de defesa contra injúrias provocadas pela alimentação de herbívoros. Uma delas é a defesa direta, em que a planta se defende fisicamente (espinhos) e quimicamente (toxicidade) dos

herbívoros, reduzindo seu potencial reprodutivo e sua longevidade (BALDWIN et al., 2001). A outra é a defesa indireta, em que há a produção de compostos orgânicos voláteis (metabólitos secundários) que atrai inimigos naturais.

As defesas, direta ou indireta, das plantas são específicas e variam de acordo com as espécies de plantas e também com o tipo de herbívoro (BALDWIN et al., 2001). Elas podem ser expressas de dois modos: continuamente e independentes da herbivoria (defesa constitutiva) ou somente depois de sofrer herbivoria (defesa induzida) (DUDAREVA et al., 2006). As plantas também têm a resistência sistêmica adquirida, que as protege contra ataques de um mesmo agressor, a resistência induzida por diferentes agentes que, após a primeira infestação, faz com que a planta se torne resistente por dias a semanas (TIMBÓ, 2013).

Os compostos orgânicos voláteis (COVs) liberados pelas plantas, quando atacadas ou após a deposição de ovos por herbívoros, são metabólitos secundários liberados no ar (BALDWIN, 2010; DICKE; van LOON; SOLER, 2009). Embora alguns COVs emitidos tenham papéis na defesa das plantas, na proteção e/ou na comunicação, muitos outros têm papéis desconhecidos. Os avanços nas técnicas moleculares e genéticas e no desenvolvimento de novos instrumentos para a coleta e a análise dos COVs têm aumentado o conhecimento da sua natureza e função, nos últimos anos (PEÑUELAS; LLUSIÀ, 2003).

Estes compostos são relativamente pequenos, variando de cinco a vinte átomos de carbono, sendo facilmente vaporizados em condições de temperatura e pressão ambiente. Os compostos induzidos por herbivoria são, geralmente, formados por álcoois, ésteres, aldeídos e terpenoides (DUDAREVA et al., 2006).

O tipo de injúria é um dos fatores que influenciam a composição dos COVs emitidos (HEIL, 2008). A injúria provocada pela herbivoria modifica o perfil de voláteis da planta, pois ativa seus sistemas de defesa direta e indireta.

Os COVs liberados pela planta após a herbivoria dependem de vários fatores, entre eles o hábito alimentar do herbívoro. Um herbívoro mastigador ativa, predominantemente, a rota de defesa mediada pelo ácido jasmônico (AJ), enquanto um herbívoro sugador ativa, principalmente, a rota de defesa mediada pelo ácido salicílico (AS) (MORAN; THOMPSON, 2001).

Um aspecto ainda pouco conhecido é como as interações mediadas por COVs de plantas ocorrem, quando há mais de uma espécie de herbívoro na planta. Existe evidência de que diferentes espécies de herbívoros ativam rotas bioquímicas alternativas (WALLING, 2000) e que estas rotas podem ter interações tanto positivas como negativas (BOSTOCK, 2005). Porém, existe pouca informação de como a herbivoria múltipla afeta os inimigos naturais que forrageiam a planta.

Os predadores conseguem diferenciar entre planta danificada e sem dano, entre plantas de espécies diferentes danificadas pelo mesmo herbívoro, e também entre plantas infestadas por diferentes espécies de herbívoros (DICKE, 1994). Estudos demonstram que o perfil dos voláteis liberados por plantas danificadas por mais de uma espécie de herbívoro difere daquele de plantas atacadas por apenas uma espécie. Outra questão importante que precisa ser abordada é o efeito da herbivoria sequencial no padrão de emissão dos voláteis, já que, na natureza, duas espécies de herbívoros podem infestar uma planta individualmente, mas em uma sequência. Na verdade, algumas espécies de herbívoros são conhecidas por serem atraídas pelos próprios voláteis induzidos por herbivoria (HIPV), os quais têm grande importância sobre as interações entre plantas, herbívoros e inimigos naturais (por exemplo, BOLTER et al., 1997; KALBERER; TURLINGS; RAHIER, 2001).

Os inimigos naturais especializados utilizam sinais específicos de sua presa/hospedeiro; já os generalistas utilizam sinais gerais de suas diferentes presas/hospedeiros. A resposta das plantas torna-se mais difícil quando elas são

atacadas por herbívoros especialistas e generalistas, os quais são atacados por várias espécies de inimigos naturais com diferentes especificidades de sinais (HARE; SUN, 2011).

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de determinar a atração do predador *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus, 1763) (Coleoptera: Coccinellidae) por voláteis de plantas de pimentão (*Capsicum annuum*, Solanaceae) danificadas por mais de uma espécie de pulgão. Como sistemas de estudo foram utilizados o pimentão; duas espécies de pulgões pragas dessa cultura, *Aphis gossypii* Glover, 1877 (Hemiptera: Aphididae) e *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera: Aphididae) e um inimigo natural dos pulgões, *C. sanguinea*. Realizaram-se bioensaios em olfatômetro em Y, no qual foi oferecido o odor de plantas de pimentão sem dano e danificadas por *A. gossypii* e *M. persicae*, ou pelas duas espécies em diferentes combinações.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo geral, na realização de estudo, foi avaliar o efeito da herbivoria múltipla na atração de *C. sanguinea* para voláteis (COVs) de plantas danificadas por mais de uma espécie de pulgão.

2.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos foram os seguintes:

1. avaliar a resposta de *C. sanguinea* aos COVs constitutivos de *Capsicum annum*;
2. avaliar a resposta de *C. sanguinea* aos COVs induzidos por dano individual dos pulgões *A. gossypii* e *M. persicae*;
3. distinguir os efeitos na atração de *C. sanguinea* quando a planta (*C. annum*) é danificada por *A. gossypii* e *M. persicae*:
 - a. de forma conjunta: as duas espécies de pulgões se alimentando ao mesmo tempo na planta.
 - b. de forma sequencial.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Herbivoria

A herbivoria é um processo dinâmico e complexo no qual o herbívoro (consumidor primário) se alimenta de partes vegetais ou de todo o vegetal (produtor primário). Nesse processo, a planta sofre prejuízo e o herbívoro é beneficiado (BEGON; HARPER; TOWNSEND, 2007; BEGON; MORTIMER; THOMPSON, 1996; ODUM, 1988). É por meio dessa relação interespecífica que a energia das plantas, seres autótrofos, é passada para seres heterótrofos. A herbivoria pode levar a um impacto substancial sobre o crescimento, a sobrevivência e a reprodução das plantas e, com frequência, reduz a capacidade competitiva das espécies mais consumidas (COLEY; BARONE, 1996). As plantas, quando atacadas pelos herbívoros, respondem influenciadas pelos custos da herbivoria e os custos de sua proteção (ZULUAGA et al., 2013).

A herbivoria pode ser reduzida por meio da expressão de características defensivas da planta, como mudança na qualidade do alimento, alteração da dureza de seus tecidos e presença de espinhos, dentre outras. Uma das principais estratégias de defesa é a produção de metabólitos secundários que reduzem a incidência de herbivoria. No entanto, essa produção envolve alto custo energético, que altera o crescimento, a sobrevivência e a reprodução da planta (HARTLEY, 1999). Outro modo é a participação de um terceiro nível trófico na interação, por meio das defesas indiretas, ou seja, a produção de compostos voláteis que podem atrair os inimigos naturais dos herbívoros (BOEGE; MARQUIS, 2005).

3.1.1 Dano por herbívoros

Danos causados por herbívoros exercem pressão seletiva sobre as plantas (STAMP, 2003). Os herbívoros podem se alimentar de quase todos tecidos vegetais e podem atacar e causar danos a uma planta, em qualquer idade. A maior disponibilidade de recurso alimentar é também um fator de influência, já que alguns herbívoros ocorrem mais frequentemente em plantas de grande tamanho, nas quais consomem, principalmente, as folhas jovens (COLEY; BARONE, 1996).

As consequências dos danos causados por herbivoria são severas, pois os herbívoros atuam no desenvolvimento das plantas, destruindo suas estruturas fotossintéticas e reprodutivas (RAVEN; EVERT; EECHHORN, 1996). Imediatamente após o dano, ocorre a liberação de substâncias conhecidas, como voláteis de folha verde (VFVs) (HEIL, 2008).

A injúria causada por um herbívoro a uma planta depende do hábito alimentar, do tamanho de sua população e da capacidade da planta de suportar o tipo e a quantidade de injúria sofrida por ela. A resistência da planta aos herbívoros refere-se a propriedades que são herdadas e associadas à capacidade da planta de reprimir ou suportar e se recuperar das injúrias causadas pelos herbívoros (PICANÇO, 2010).

A resistência contra a herbivoria pode ser classificada em três estratégias que são: defesa direta, os compostos relacionados à defesa direta compreendem os metabólitos primários, os quais atuam no desenvolvimento e crescimento vegetal, e os secundários não voláteis (KESSLER; BALDWIN, 2002); defesa indireta, que é a produção de metabólitos secundários voláteis que são liberados mediante estresse para atrair inimigos naturais e repelir os herbívoros (SWAMY, 2000) e tolerância, que é a capacidade de sobrevivência do organismo, mantendo suas funções fisiológicas (STOWE et al., 2000).

Baldwin et al. (2001) relataram que os compostos produzidos pela planta em defesa direta e indireta são espécie-específica e podem variar de acordo com o tipo de indutor.

3.1.2 Indução de defesas por herbivoria

As defesas induzidas (DIH) são aquelas que aparecem somente após a planta sofrer ataque de herbívoros (HARE, 2011). As defesas induzidas por herbivoria representam uma economia de recursos que podem ser alocados para outros processos fisiológicos quando a planta não está sofrendo ataque (MEDEIROS, 2008). Apesar de ter alguns traços de defesa constitutiva expressos pela planta, as mesmas podem perceber o dano e induzir respostas para reduzir a herbivoria e seus efeitos sobre sua aptidão (JOHNSON, 2011).

A indução ocorre quando os componentes ativos presentes na secreção oral (saliva) dos herbívoros, liberados durante o processo de alimentação, entram em contato com o interior do tecido vegetal e também o fluido de oviposição lançado minutos antes da deposição dos ovos na planta hospedeira, ativando rotas bioquímicas (TURLINGS et al., 2000). As respostas são desencadeadas por elicitores dos herbívoros. O dano causado pelo herbívoro ou os danos mecânicos podem induzir respostas sistêmicas ou somente no local do dano (ARAB; BENTO, 2006).

A defesa induzida pode ser definida como uma mudança fisiológica ou morfológica, que é o resultado do ataque de herbívoros sobre a planta, dando a ela certa proteção (COLEY; BARONE, 1996). A transdução do sinal induzido pelos herbívoros na defesa da planta é predominantemente mediada pela via octadecanoide, com o fito-hormônio ácido jasmônico (AJ) e via chiquimato, com o ácido salicílico (AS) (DICKE et al., 2003).

Quando um inseto ataca uma planta, ele ativa um sistema defensivo conhecido como defesa induzida por herbivoria (DIH) (DICKE; SABELIS, 1988). Essas DIHs podem atuar diretamente (De MORAES; MESCHER; TURLINSON, 2001), repelindo herbívoros, ou podem agir de forma indireta, atraindo inimigos naturais (DUDAREVA et al., 2006). As DIHs variam quantitativamente (quantidade dos compostos) e qualitativamente (indução de novos compostos), de acordo com o número e a espécie do herbívoro (SHIOJIRI et al., 2001), com o seu hábito alimentar (mastigador ou sugador) e com a espécie da planta atacada (De MORAES et al., 1998). Os sugadores induzem, principalmente, a rota do ácido chiquímico (HEIL, 2008).

A injúria provocada pela herbivoria pode induzir mudanças na produção de metabólitos secundários que alteram a biologia e o comportamento dos herbívoros. Os compostos voláteis que são liberados pelo dano causado pela alimentação dos herbívoros não são os mesmos que são liberados pela planta, quando esta sofre dano mecânico (TURLINGS; WACKERS, 2004).

3.2 Interações tritróficas

As interações inseto-planta não avançam de forma realista, sem levar em consideração o terceiro nível trófico, pois as plantas têm muitos efeitos sobre os herbívoros e também sobre os inimigos naturais. Esses efeitos podem ser positivos, negativos, diretos e indiretos (PRICE et al., 1980).

Na defesa indireta estão envolvidos voláteis emitidos pela planta após o ataque ou a oviposição do herbívoro, que atrai inimigos naturais, repele herbívoros e pode, ainda, interferir na atração de polinizadores (KESSLER; HALITSCHKE, 2007). A defesa indireta consiste na produção de metabólitos secundários voláteis que atraem os inimigos naturais dos insetos que estão atacando a planta, ou vão atuar como repelente desses herbívoros. A defesa

vegetal é específica, variando com as espécies vegetais e também está relacionada ao herbívoro (BALDWIN et al., 2001).

Apesar de ser possível estudar cada componente de um sistema separadamente, eles se encontram todos interligados (PUTMAN, 1994), gerando uma grande e complexa cadeia, em que todos os indivíduos são interdependentes. Nas pesquisas entomológicas, o estudo dessa teia é feito, geralmente, em três pontos: a planta (produtor primário), o inseto herbívoro (consumidor primário) e o predador ou o parasitoide (consumidor secundário). Sendo assim, o estudo de populações em laboratório é fragmentado, em que diversas interações podem estar ausentes (SILVA et al., 2012). Experimentos de campo se tornam, assim, importantes fontes complementares de informação sobre a adaptabilidade das defesas produzidas pelas plantas com o terceiro nível trófico. Com isso pode-se ter um entendimento mais completo de como as plantas se beneficiam dessas respostas induzidas (TURLINGS; WACKERS, 2004).

Os parasitoides e os predadores dos herbívoros evoluíram e funcionam dentro de um contexto multitrófico (VET; DICKE, 1992), influenciados pelos elementos de outros níveis tróficos, como suas vítimas (segundo nível trófico), e modificam sua fisiologia e seu comportamento. As decisões dos inimigos naturais são tomadas levando-se em consideração os diferentes níveis tróficos e a informação química, que exerce importante papel nessa decisão.

3.2.1 Compostos orgânicos voláteis e atração de inimigos naturais

Infoquímicos são substâncias que transmitem informações numa interação entre indivíduos, produzindo uma resposta comportamental ou fisiológica, que pode ser vantajosa ou desvantajosa. Os infoquímicos, ou semioquímicos, são classificados como feromônios que são substâncias que

mediam interações entre organismos da mesma espécie, ou como aleloquímicos que são infoquímicos que medeiam interações entre indivíduos de espécies distintas (DICKE; SABELIS, 1988).

Os compostos orgânicos voláteis (COVs) são produzidos por uma variedade de processos fisiológicos e em muitos tecidos de plantas diferentes, sendo eles próprios também extremamente diversificados (cerca de 30.000 compostos) e incluem alcanos, alcenos, álcoois, aldeídos, éteres, ésteres e ácidos carboxílicos. Em algumas plantas, os COVs se acumulam em órgãos especializados, como dutos de resina ou tricomas glandulares e têm ações mais conhecidas. No entanto, a função dos COVs que não são armazenados em tais órgãos e que, muitas vezes, dependem do processo fotossintético instantâneo para a sua produção, é desconhecida (PEÑUELAS; LLUSIÀ, 2004).

Os estudos com COVs se concentram na atuação destes sobre o terceiro nível trófico. Existem várias funções comprovadas e tantas outras ainda não comprovadas dos COVs produzidos pelas plantas. Os COVs induzidos pela herbivoria atuam como atrativos aos inimigos naturais, repelentes ou deterrentes aos herbívoros (DICKE, 1994). Participam também na atração de polinizadores, medeiam comunicação planta-planta e vedam lesões (PEÑUELAS; LLUSIÀ, 2003), além de serem solventes relativamente não polares para compostos defensivos (PEÑUELAS; LLUSIÀ, 2004).

Dados intrigantes ligam, mais recentemente, a emissão destes compostos ao clima. Foi demonstrado que os COVs podem proteger as plantas contra altas temperaturas. Algumas evidências sugerem que as quantidades de COVs emitidas pelas plantas são tão grandes (perda de até 10% do carbono fixado pela fotossíntese) que estas podem estar associadas com as mudanças no aquecimento global (PEÑUELLAS; LLUSIÀ, 2003). Assim, é necessário diagnosticar os benefícios da produção desses compostos para a planta (TURLINGS; WACKERS, 2004). Certamente, existe uma resposta evolutiva na produção dos

COVs, que resultou na seleção de materiais voláteis herdáveis ligados à aptidão da planta (PEÑUELAS; LLUSIÀ, 2004). Além disso, por serem compostos induzidos, as plantas renunciam a eles quando não são necessários (KESSLER; BALDWIN, 2002).

As plantas, quando atacadas por herbívoros, podem produzir compostos voláteis que auxiliam os inimigos naturais na localização de sua presa ou hospedeiro. Estes compostos orgânicos são liberados pela planta e volatilizam, permanecendo um tempo no ambiente, podendo ser mediadores de interações entre inseto e planta. COVs de plantas saudáveis podem ser utilizados como indicadores de áreas propícias para o forrageio de parasitoides (OHARA; TAKAFUJI; TAKABAYASHI, 2003) e predadores (DICKE et al., 2003; DRUKKER; BRUIN; SABELIS, 2000). Os inimigos naturais conseguem detectar mais facilmente esses COVs, pois é liberada grande quantidade, o que contribui para sua maior atratividade (VET; DICKE, 1992).

Os compostos orgânicos voláteis podem ser constituídos por centenas de compostos (DUDAREVA et al., 2006), muitos dos quais são liberados pela planta após terem sido atacadas por herbívoros (DICKE; SABELIS, 1988). Uma questão não resolvida na produção desses voláteis induzidos por herbivoria é se diferentes espécies de herbívoros induzem misturas consistentemente diferentes e específicas de COVs e como a mistura específica é reconhecida pelo inimigo natural efetivo (HARE; SUN, 2011).

Quando a planta se torna alimento do herbívoro, ela libera COVs como resposta local ou sistêmica da injúria (DUDAREVA et al., 2006). A vantagem dos COVs induzidos pela herbivoria é que eles são sintetizados apenas quando necessário, portanto, eles são mais econômicos, em termos do uso de carbono e não reduzem a aptidão da planta (DICKE; Van LOON, 2000). Esses COVs podem ser divididos em duas classes de compostos. Na primeira classe estão os compostos liberados imediatamente após o dano mecânico (0-5 minutos), como

os voláteis de folhas verdes (VFVs); na segunda classe estão os compostos novos (principalmente os terpenos), que são sintetizados após dano causado por herbivoria (poucas horas após o dano) (FALL et al., 1999). As diferenças nas respostas das plantas à herbivoria e ao dano mecânico podem ser explicadas pelo envolvimento das secreções orais dos herbívoros (DICKE, 1999).

Os COVs liberados pelas plantas servem como indicação para ambientes de forrageio, mas são pouco confiáveis para indicar a real presença da presa adequada. O dilema da falta de confiabilidade ou de detectabilidade enfrentado pelos inimigos naturais na busca pelo herbívoro ocorre uma vez que a grande quantidade de voláteis emitidos pelas plantas não é tão confiável quanto a pequena quantidade de voláteis emitidos pelo herbívoro (VET; DICKE, 1992). O inimigo natural segue a fonte de sinal emitida pela planta atacada pelo herbívoro e não o sinal emitido pelo herbívoro em si; isso levou ao estudo das interações tritróficas ao nível de informação entre planta, herbívoro e inimigo natural (DICKE; Van LOON, 2000).

Entretanto, a liberação de compostos orgânicos voláteis pela ação da herbivoria pode destacar a planta atacada dentre as outras da região, pois os insetos herbívoros também utilizam esses compostos para encontrar sua fonte de alimento (ADESSO; McAUSLANE; ALBORN, 2011; HORIUCHI et al., 2003). Assim, a emissão desses COVs nem sempre é benéfica para a planta, pois existem casos em que o herbívoro é atraído por esses COVs, aumentando o ataque (DUDAREVA et al., 2006).

3.2.2 Efeitos de herbivoria múltipla e atração do inimigo natural

A produção de voláteis induzidos pela herbivoria nas plantas após o ataque de uma única espécie de herbívoro pode diferir da produção de voláteis emitidos após o ataque por mais de uma espécie de herbívoro (herbivoria

múltipla) (DICKE; van LOON; SOLER, 2009). A herbivoria pode ter vários efeitos negativos sobre a aptidão da planta, reduzindo seu crescimento e a reprodução (COLEY; BARRONE, 1996).

O ataque de uma única espécie de herbívoros ou mais pode resultar em diferentes misturas de voláteis (SHIOJIRI et al., 2001), no entanto, em outros sistemas, as plantas infestadas com várias espécies de herbívoros simplesmente emitem uma maior quantidade dos produtos voláteis, quando comparadas com os voláteis liberados pela planta infestada por apenas uma única espécie (MOAYERI et al., 2007). As consequências da infestação das plantas por mais de uma espécie de herbívoro são difíceis de prever, pois dependem de fatores, tais como a espécie das plantas, espécies dos herbívoros e também a espécie do inimigo natural (HARE, 2011).

As rotas metabólicas do ácido jasmônico (AJ) e do ácido salicílico (AS) atuam de maneira antagonista, e a ativação da rota do AS pode suprimir a rota do AJ. Do mesmo modo, a ativação da rota do AJ pode suprimir a rota do AS (KOORNNEEF; PIETERSE, 2008). As plantas podem sofrer ataques simultâneos por vários organismos (macro e microrganismos) e, com isso, vários estudos têm dado atenção à indução de defesa nas plantas causada pela herbivoria múltipla, pois isso pode modificar a resposta dos inimigos naturais (PINTO-ZEVALLOS et al., 2013).

Em estudos com herbivoria múltipla (De BOER; POSTHUMUS; DICKE, 2004; MOAYERI et al., 2007) foi demonstrado seu impacto potencial sobre as interações tritróficas e as respostas positivas dos inimigos naturais às plantas danificadas por vários herbívoros.

Os inimigos naturais são indivíduos que podem atuar como agentes de controle biológico. Eles desempenham papel importante na redução da população de herbívoros (ANGELO; DALMOLIN, 2007). Price et al. (1980) ressaltaram a importância do terceiro nível trófico, que são os predadores,

parasitoides e patógenos, e sua influência na interação entre plantas e herbívoros que as consomem.

Os parasitoides são insetos que causam a morte de outros insetos por meio do parasitismo. São, em sua maioria, especialistas, pois não é qualquer inseto que é utilizado como hospedeiro, e preferem um tipo ou uma fase de desenvolvimento específico (SILVA et al., 2013).

Já a maioria dos predadores pode atacar uma enorme variedade de insetos em diversos estágios de vida. Podem ser eficientes no controle de afídeos, coccídeos e psílídeos, como os coccinelídeos, vulgarmente conhecidos como joaninhas (PANIZZI; PARRA, 2009).

3.3 Sistema de estudo

3.3.1 Pimentão

O pimentão (*Capsicum annuum* L.) é uma das hortaliças de maior importância no Brasil. É um fruto originário do sul do México e da América Central, pertencente à família das Solanáceas, como a batata, o tomate, o jiló, a berinjela e as pimentas. É utilizado na alimentação humana *in natura* ou processado, como corante ou condimento. Muitas pragas estão associadas a essa cultura, desde a semente até o fruto (BARBOSA et al., 2008).

Entre os principais afídeos que atacam a cultura do pimentão estão os pulgões *A. gossypii* e *M. persicae*, sendo ambos responsáveis pela transmissão de doenças. Tem sido demonstrado, em estudos, que as plantas, ao sofrerem ataque de herbívoros, produzem compostos voláteis em resposta aos danos sofridos (COSTA et al., 2011). Esses compostos emitidos pelas plantas após o ataque de herbívoros podem afetar diretamente o comportamento dos herbívoros ou indiretamente os inimigos naturais.

3.3.2 Herbívoros

Os insetos, como os pulgões (Hemiptera: Aphididae), utilizam seus estiletes para perfurar as células e, assim, fazem a sua alimentação sugando uma grande quantidade de fluidos celulares do floema. Com isso eles têm uma relação íntima e duradoura com as células da planta (WALLING, 2000). Além dos prejuízos diretos, ainda são transmissores de vírus entre as plantas e favorecem o surgimento de fungos, principalmente do gênero *Capnodium*, como a fumagina, que se desenvolve nas folhas de plantas atacadas, devido à excreção do *honeydew*. Normalmente, os pulgões formam suas colônias na face inferior das folhas e em partes jovens da planta (TRIPLEHORN; JONNISON, 2011).

Os afídeos são insetos polípagos que se reproduzem por partenogênese telítoca, existindo, na colônia, apenas fêmeas que dão origem a outras fêmeas. Este método reprodutivo pode aumentar muito a população de pulgões existentes em uma cultura e, devido a essa grande infestação, os danos causados nas plantas cultivadas seriam enormes, se não fosse a existência de inimigos naturais efetivos, como parasitoides das famílias Braconidae e Chalcididae, e predadores das famílias Coccinellidae, Chrysopidae e Syrphidae, por exemplo. Na família Aphididae existe um grande número de espécies de importância agrícola, como *A. gossypii* e *M. persicae*, que comprometem o desenvolvimento das plantas pela sucção contínua de seiva ou pela transmissão de patógenos (TRIPLEHORN; JONNISON, 2011).

Os pulgões *Aphis gossypii* e *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) são polípagos e estão entre os principais afídeos que atacam a cultura do pimentão, sendo ambos os principais responsáveis pela transmissão de doenças a essa cultura (COSTA et al., 2011; VORBUGER; GOUSKOV; von BURGER, 2008).

O pulgão *Aphis gossypii* Glover, 1877 é um inseto polífago; a forma áptera possui tamanho pequeno. Os adultos apresentam de 1 a 2 mm de

comprimento e coloração variável do amarelo-claro ao verde-escuro. A forma alada tem cabeça, tórax e sifúnculos negros, com abdômen de cor variável. É uma espécie cosmopolita, que se encontra associada a culturas de grande importância econômica, sendo capaz de transmitir mais de 50 espécies de vírus (MOURA et al., 2013).

O pulgão verde *Myzus persicae* (Sulzer, 1976) é um inseto polífago e cosmopolita que pode atuar como vetor de mais de cem espécies de vírus. Os adultos têm cerca de 2 mm de comprimento e apresentam, geralmente, cor verde-clara quase transparente. As fêmeas são vivíparas. A forma áptera (sem asas) tem coloração verde-clara e a forma alada (com asas) tem coloração verde, com cabeça, antena e tórax pretos e abdômen verde-amarelado (MOURA et al., 2013).

Essas duas espécies atacam as folhas e os ramos novos das plantas, sendo que *A. gossypii* também ataca botões florais e as flores. Estes insetos, ao sugarem a seiva, picam a planta com seu rostro pontiagudo, causando o encarquilhamento das folhas e a deformação dos brotos, prejudicando seriamente seu desenvolvimento (GALLO et al., 2002).

3.3.3 Predador

As joaninhas (Coleoptera: Coccinellidae) têm grande capacidade de busca e são predadoras vorazes, em todos os estágios de vida (GUERREIRO, 2004). Têm geotropismo negativo, o que facilita o encontro com sua presa favorita, o pulgão, que tende a ficar nas partes jovens da planta, são canibais e também têm um tipo de defesa conhecido como tanatose (fingir de morta). A maioria dos coccinélídeos consegue perceber os voláteis emitidos pela planta atacada por herbívoros; a percepção desses voláteis pelos predadores pode ser

essencial para o desenvolvimento desses organismos como agentes de controle biológico (PANIZZI; PARRA, 2009).

Os adultos têm, em geral, corpo arredondado, ente convexo no dorso e achatado ventralmente; forte cabeça escondida sob o protórax, élitros de cor vistosa. As larvas são campodeiformes, alongadas, achatadas e cobertas por pequenos tubérculos ou espinhos (BORROR; DELONG, 1988; GALLO et al., 2002). A espécie *C. sanguinea* é um predador polífago e cosmopolita, ocorrendo em vários países da América Latina, da América do Norte e da Europa. Tanto as larvas como os adultos são afidófagos por excelência.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Criações e plantios

4.1.1 Criação de pulgões em laboratório

O pulgão *A. gossypii* foi multiplicado em plantas de pepino (*Cucumis sativus*) (Cucurbitaceae), dentro de gaiolas e em placas de Petri contendo uma lâmina de ágar-água a 1% com folhas dessa espécie vegetal. Todos foram mantidos sob condições controladas, a 22 ± 2 °C, UR de $70\pm 10\%$ e fotofase de 12 horas, em salas climatizadas.

Os mesmos procedimentos descritos foram utilizados para a multiplicação de *M. persicae*, apenas substituindo as plantas de pepino por plantas de *Nicandra physaloides* (Solanaceae).

4.1.2 Criação de *Cycloneda sanguinea*

Foram coletados adultos de *C. sanguinea* no campus da Universidade Federal de Lavras (UFLA), os quais foram mantidos em laboratório, no Departamento de Entomologia. As joaninhas foram criadas em recipientes de plástico (PVC) de 10 cm de diâmetro x 10 cm de altura, forrados com papel filtro, vedados na parte superior com filme de cloreto de polivinila (PVC) e mantidos em sala climatizada, a 25 ± 2 °C, UR de $70\pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

As joaninhas foram diariamente alimentadas com pulgões *A. gossypii* e *M. persicae*. Seus ovos, quando presentes, foram retirados com o auxílio de tesoura (recortando o local que continha os ovos), colocados em placas de Petri (15 cm de diâmetro) contendo ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae), as quais foram fechadas com filme de PVC e mantidas nas mesmas condições anteriormente citadas.

Após a eclosão, as larvas foram individualizadas em tubos de ensaio (diâmetro 2,5 cm x altura 8,5 cm), para evitar canibalismo. As larvas de primeiro instar foram alimentadas com ovos de *A. kuehniella* e com ninfas de pulgões; as larvas de segundo, terceiro e quarto instares foram alimentadas com pulgões. Após a emergência, os adultos foram separados para os futuros testes olfativos.

4.1.3 Plantio do pimentão e pepino

Sementes de pimentão (*C. annuum*) cultivar Cascadura Ikeda (Topseed Garden – Agristar do Brasil Ltda.) e de pepino (*C. sativus*) foram plantadas em sementeiras contendo substrato (Plantimax® para hortaliças). Quando apresentaram duas folhas, foram transplantadas para copos de plástico (300 mL) com substrato e terra, na proporção de 1:1 e mantidas em casa de vegetação, onde foram diariamente regadas.

4.1.4 Plantio de *Nicandra physaloides*

Mudas de *N. physaloides* foram adquiridas no Departamento de Fitopatologia da UFLA e mantidas em casa de vegetação até atingirem 40 cm de altura. Posteriormente, os vasos foram colocados em gaiolas de acrílico, onde foram infestados com ninfas de *M. persicae* e mantidas em sala climatizada, a 21 ± 2 °C, UR de $70\pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

4.2 Resposta olfativa

4.2.1 Métodos gerais

Plantas de *C. annuum* cultivar Cascadura Ikeda (Topseed Garden – Agristar do Brasil Ltda.), com cinco folhas totalmente expandidas, foram

utilizadas nos experimentos. Algumas plantas foram submetidas a tratamentos de dano provocado por 50 pulgões (exceto no tratamento da planta com dano conjunto, no qual todas as plantas utilizadas foram infestadas com 100 pulgões) e cobertas por um saco plástico microperfurado, para mantê-los isolados. A planta sem dano também foi isolada do mesmo modo, para controlar qualquer efeito desse procedimento.

As plantas permaneceram infestadas por três dias (exceto as plantas do tratamento com dano sequencial, que permaneceram infestadas por seis dias) para induzir mudanças no perfil de COVs. No dia do experimento, o saco plástico microperfurado foi retirado e os pulgões foram removidos com o auxílio de um pincel fino e os traços de *honeydew* cuidadosamente removidos com o auxílio de algodão umedecido em água destilada. Esse procedimento foi necessário para se ter certeza de que o *honeydew* dos pulgões não iria interferir no experimento. A planta sem dano também foi submetida ao mesmo procedimento, para controlar qualquer efeito da limpeza no experimento.

Para determinar as respostas de adultos de *C. sanguinea* aos COVs de *C. annuum* foi utilizado um olfatômetro montado no Departamento de Entomologia da UFLA, onde os insetos foram expostos a odores, sem estímulos visuais. O olfatômetro utilizado foi um tubo de vidro em Y de 1 cm de diâmetro interno e 18 cm de comprimento, com um ângulo de 90 graus. As plantas no copo de plástico (300 mL) foram colocadas em câmaras de vidro (12 cm de diâmetro x 23 cm de altura) com tampa. O copo foi coberto com papel alumínio, para evitar interferência do substrato e da terra. Na tampa da câmara havia dois canos metálicos, sendo um conectado ao tubo de teflon levando ar filtrado (com carvão ativado) e, no outro, um tubo de teflon puxando o ar da câmara para o olfatômetro em Y, apresentando, assim, dois odores para o inseto que se encontrava no seu interior (com fluxo de ar regulado por um fluxômetro a 0,75 L/minuto/braço, bomba Millipore® 60Hz).

O vidro do olfatômetro em Y foi posicionado verticalmente (45 graus de inclinação), pois as joaninhas apresentam geotropismo negativo (Figura 1). Cada inseto foi introduzido, individualmente, na base do olfatômetro e a resposta registrada foi o primeiro braço do Y que o inseto escolheu e alcançou, ao menos, 2 cm ao longo do braço e aí permaneceu por, pelo menos, 30 segundos. A cada três joaninhas testadas, os lados de entrada dos odores eram invertidos no olfatômetro em Y.

Foram testadas 10 plantas diferentes em cada tratamento e, para cada planta, dez repetições (joaninhas), num total de 100 joaninhas por experimento. O tempo para resposta da joaninha foi padronizado em 10 minutos. Antes de cada experimento, toda a vidraria foi lavada com água, detergente e álcool, e, depois, seca em uma estufa, a 100 °C. Antes de cada repetição, o olfatômetro em Y foi lavado, utilizando-se o mesmo procedimento. A sala de olfatometria foi mantida a 25 °C, durante os bioensaios.

Para saber se o olfatômetro estava simétrico, realizaram-se testes utilizando-se o tratamento ar *versus* ar, esperando que o resultado fosse 50% para cada lado, garantindo que o olfatômetro não estaria influenciando a escolha de *C. sanguinea*.



Figura 1 Sistema de olfatômetro utilizado nos testes de preferência para adultos de *Cycloneda sanguinea*.

4.2.2 Bioensaios realizados

4.2.3 Atração de *Cycloneda sanguinea*

Foram realizados testes para saber se o inimigo natural era atraído pelos compostos voláteis do pimentão, sem danos causados por herbívoros. O odor de *C. annuum* com cinco folhas expandidas foi apresentado em um dos braços do olfatômetro em Y, descrito anteriormente. Pelo outro braço foi apresentado o

odor de um copo (300 mL) com substrato e terra umedecida (coberto com papel alumínio com um furo no meio).

4.2.4 Atração de *Cycloneda sanguinea* aos COVs de *Capsicum annuum* danificados por *Aphis gossypii*

Neste experimento foi verificado se existe alguma diferença na atração dos inimigos naturais pelo COVs induzidos, liberados após o dano pela alimentação de *A. gossypii*. Foram liberados 50 pulgões nas folhas da planta e estes permaneceram por três dias na planta, tempo suficiente para induzir COVs (FALL et al., 1999). Realizaram-se experimentos utilizando-se a planta danificada por *A. gossypii* contra o odor da planta sem dano e utilizando a planta danificada por *A. gossypii* contra o odor do copo contendo uma mistura de terra mais substrato na proporção de 1:1, para verificar se essa mistura influenciaria a atração.

4.2.5 Atração de *Cycloneda sanguinea* aos COVs de *Capsicum annuum* danificados por *M. persicae*

A metodologia para testar a atração de *C. sanguinea* aos COVs de *C. annuum* danificados por *M. persicae* e a mistura de terra mais substrato na proporção de 1:1 foram as mesmas descritas para *A. gossypii*.

4.2.6 Atração de *Cycloneda sanguinea* aos COVs de *Capsicum annuum* por danos conjuntos e sequenciais de *Aphis gossypii* e *Myzus persicae*

Plantas de *C. annuum* foram submetidas a danos causados por duas espécies de pulgões em diferentes combinações (conjunta e sequencial) e verificada a atração de *C. sanguinea*. Os experimentos conduzidos foram os descritos a seguir.

Testes com dano conjunto: foram colocados 50 indivíduos de uma espécie de pulgão nas folhas da planta e deixados por seis dias. Nas plantas danificadas por apenas uma espécie de pulgão também foram liberados 100 pulgões, por seis dias, na planta. Foram realizados os seguintes tratamentos:

- a. teste com planta com dano conjunto contra planta com dano só por *A. gossypii*;
- b. teste com planta com dano conjunto contra planta com dano só por *M. persicae*.

Dano sequencial pelos dois pulgões: foram colocados 50 pulgões de uma espécie (*A. gossypii* ou *M. persicae*) e estes permaneceram por três dias na planta. Depois desse período, os pulgões foram removidos com o auxílio de um pincel e, então, as plantas foram infestadas com a outra espécie (*A. gossypii* ou *M. persicae*). Esta segunda espécie de pulgão também permaneceu na planta por três dias, após o que os pulgões foram removidos e a planta limpa com o auxílio de algodão umedecido em água destilada, para remover os traços de *honeydew*. Nas plantas danificadas por apenas uma espécie de pulgão também foram liberados 50 pulgões e também foram retirados e colocados mais 50 pulgões da mesma espécie, para não haver interferência. As combinações utilizadas foram *A. gossypii* seguido de *M. persicae* e *M. persicae* seguido de *A. gossypii*. Foram realizados os tratamentos descritos a seguir.

- a. Teste com planta com dano sequencial causado por *A. gossypii* seguido de *M. persicae* contra uma planta com dano só por *A. gossypii*
- b. Teste com planta com dano sequencial causado por *M. persicae* seguido de *A. gossypii* contra uma planta com dano só por *A. gossypii*
- c. Teste com planta com dano sequencial causado por *A. gossypii* seguido de *M. persicae* contra uma planta com dano só por *M. persicae*
- d. Teste com planta com dano sequencial causado por *M. persicae* seguido de *A. gossypii* contra uma planta com dano só por *M. persicae*

4.3 Análise dos dados

As análises dos dados obtidos nos ensaios de olfatométrica foram comparadas mediante o teste de qui-quadrado, supondo uma resposta de 50% para cada braço do olfatômetro em Y e probabilidade de 5%. Os insetos que não escolheram nenhum dos braços não foram considerados nas análises. Foi utilizado o ambiente “R” (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2006) e os gráficos foram gerados pelo programa SigmaPlot 11.0.

5 RESULTADOS

Para ter a certeza de que o olfatômetro estava simétrico e não influenciou a resposta da joaninha (*C. sanguinea*), foram realizados experimentos no olfatômetro, utilizando ar *versus* ar. O resultado obtido mostrou que o olfatômetro não influenciou as respostas que foram, respectivamente, de 49% e de 51% ($\chi^2=0,014$; $p=0,907$) (Figura 2).

Quando foi testado terra+substrato *versus* planta sadia, *C. sanguinea* não demonstrou nenhuma preferência (respectivamente 44% e 56%) ($\chi^2=1,673$; $p=0,196$). As joaninhas preferiram a planta danificada por *A. gossypii* quando testadas contra terra e substrato ($\chi^2=4,878$; $p=0,027$) (respectivamente 38% e 62%); quando se testou terra+substrato *versus* odor de planta danificada por *M. persicae* (respectivamente 42% e 58%) ($\chi^2=2,086$; $p=0,1486$), não houve preferência por nenhum dos odores (Figura 2).

No tratamento planta sem dano *versus* planta danificada por *A. gossypii*, as joaninhas preferiram o braço do olfatômetro em Y, no qual o odor da planta danificada era liberado (respectivamente 38% e 62%) ($\chi^2=5,261$; $p=0,022$). No teste com a planta sem dano *versus* planta danificada por *M. persicae*, as joaninhas preferiram o braço do olfatômetro em Y com o odor da planta danificada por esse afídeo (respectivamente 35% e 65%) ($\chi^2=7,024$; $p=0,008$) (Figura 2).

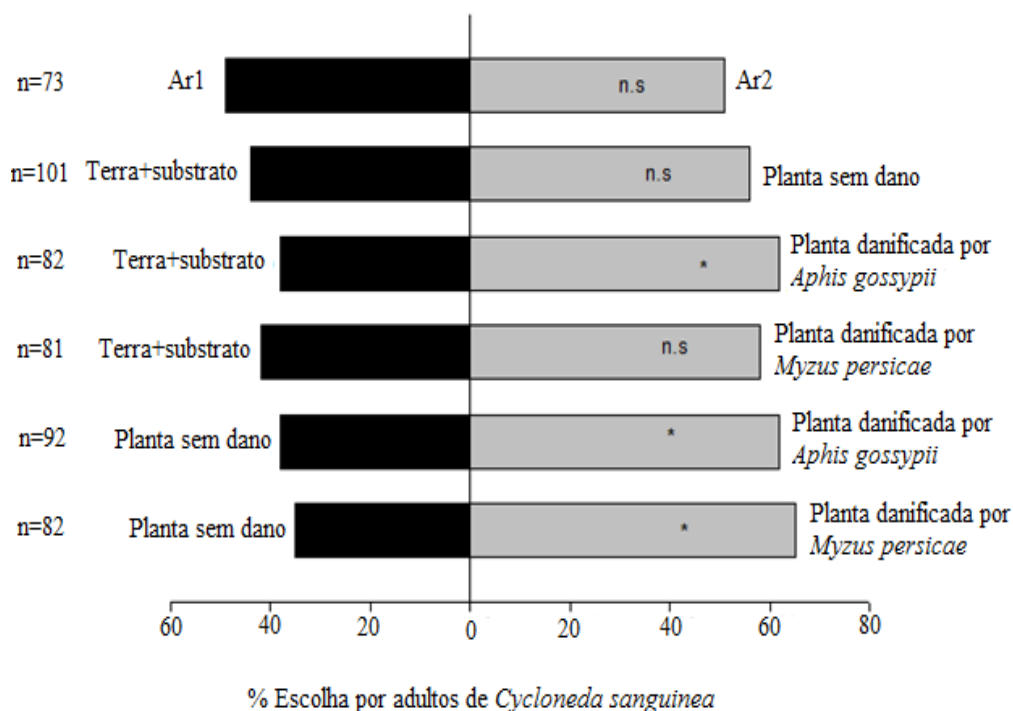


Figura 2 Primeira escolha dos adultos de *Cycloneda sanguinea*, em olfatômetro em Y, que responderam aos odores testados (n = número de espécimes que responderam ao odor) (*diferença significativa pelo teste qui-quadrado, a 5% de probabilidade, n.s não significativo).

Nos testes utilizando o odor da planta danificada por *A. gossypii* versus odor da planta danificada por *M. persicae*, *C. sanguinea* não mostrou preferência por nenhuma fonte (respectivamente 40% e 60%) ($\chi^2=2,848$; $p=0,092$) (Figura 3).

No experimento em que foi testado o odor da planta com dano conjunto (*A. gossypii* + *M. persicae*) versus planta danificada por *A. gossypii*, as joaninhas não demonstraram nenhuma preferência (respectivamente 61% e 39%) ($\chi^2=3,658$; $p=0,056$). O mesmo ocorreu quando foi testado o odor da planta com dano conjunto versus planta danificada por *M. persicae* (respectivamente 60% e 40%) ($\chi^2=3,2$; $p=0,074$) (Figura 3).

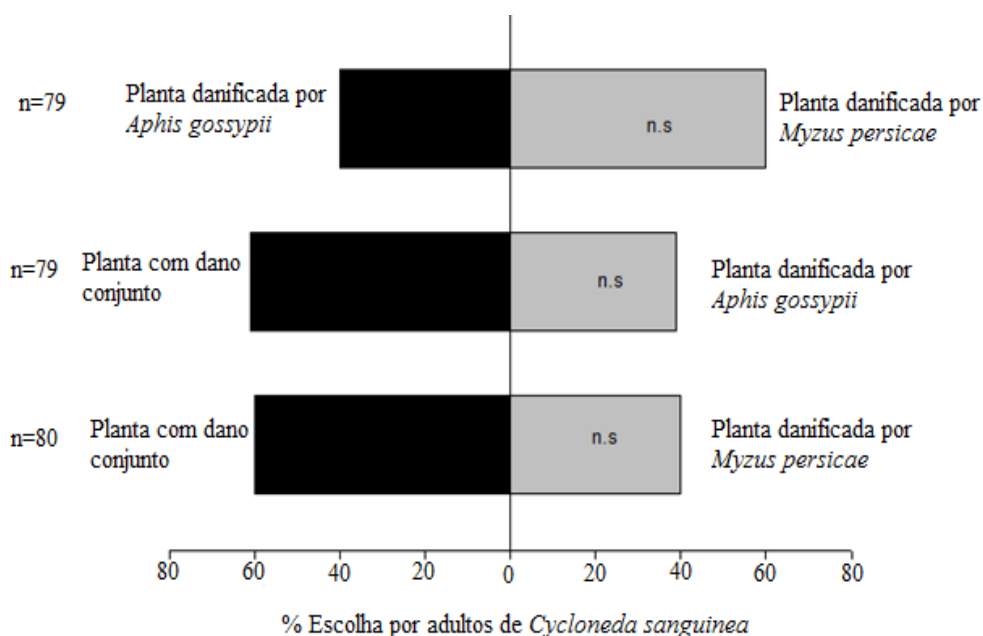


Figura 3 Primeira escolha dos adultos de *Cycloneda sanguinea*, em olfatômetro em Y, que responderam aos odores testados (n= número de espécimes que responderam ao odor) (n.s não significativo pelo teste qui-quadrado, a 5% de probabilidade).

Nos experimentos em que as joaninhas foram expostas ao odor de planta danificada por *A. gossypii* versus planta com dano sequencial causado por *A. gossypii* seguida de *M. persicae*, as joaninhas preferiram as plantas com dano sequencial ($\chi^2=4,560$; $p=0,033$) (respectivamente 38% e 62%); no entanto, quando a planta danificada por *A. gossypii* foi testada contra a planta com dano sequencial causado por *M. persicae* seguida de *A. gossypii*, as joaninhas não demonstraram nenhuma preferência (respectivamente 59% e 41%) ($\chi^2=3,048$; $p=0,081$) (Figura 4).

Quando se testou o odor da planta danificada por *M. persicae* contra dano sequencial causado por *A. gossypii* seguido por *M. persicae*, *C. sanguinea* não demonstrou nenhuma preferência (respectivamente 43% e 57%) ($\chi^2=1,8$;

p=0,170). O mesmo ocorreu quando a planta danificada por *M. persicae* foi comparada àquela com dano sequencial causado por *M. persicae* seguido de *A. gossypii* (respectivamente 43% e 57%) ($\chi^2=1,494$; p=0,222) (Figura 4).

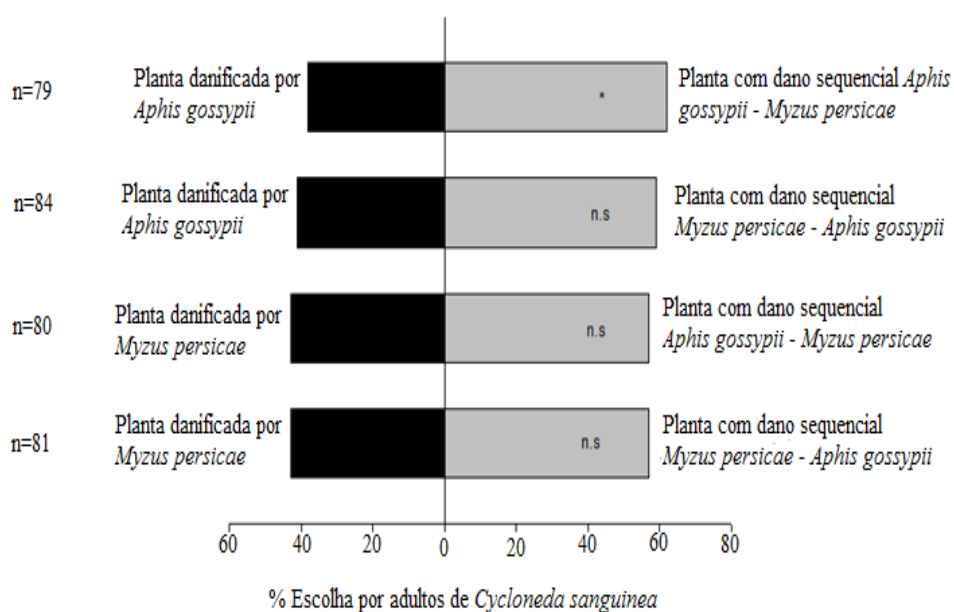


Figura 4 Primeira escolha dos adultos de *Cycloneda sanguinea*, em olfatômetro em Y, que responderam aos odores testados (n= número de espécimes que responderam ao odor) (*Significativo pelo teste qui-quadrado, a 5% de probabilidade, n.s não significativo).

6 DISCUSSÃO

O estudo foi realizado com o objetivo de verificar se a joaninha é mais atraída por COVs liberados por uma planta atacada por apenas uma espécie de pulgão ou por duas espécies de pulgões em diferentes combinações. Testou-se se a herbivoria múltipla pode interferir, de alguma forma, na atração do inimigo natural. Em alguns casos, a herbivoria realizada por diferentes espécies pode induzir rotas alternativas e estas podem interferir intensificando ou diminuindo a atração do inimigo natural (KESSLER; BALDWIN, 2002).

Nos testes realizados para saber se o olfatômetro estava simétrico (Ar1 *versus* Ar2), não houve nenhuma preferência por nenhum dos braços, o que evidencia que os experimentos não foram afetados por outros fatores, a não ser pelos voláteis, já que a posição das fontes de odor foi invertida a cada três joaninhas testadas.

Os resultados obtidos neste trabalho demonstram que as joaninhas são mais atraídas para as plantas danificadas por uma espécie de pulgão (*A. gossypii* ou *M. persicae*), quando comparadas com plantas sem dano. Quando testadas plantas com dano por apenas uma espécie de herbívoro contra planta danificada pelas duas espécies (seja dano conjunto ou sequencial), não houve preferência.

No experimento terra+substrato *versus* planta de pimentão sadia, as joaninhas não demonstraram preferência por nenhuma das duas fontes de odor oferecidas. De acordo com Dicke e van Loon (2000) e Dicke e Sabelis (1988), a ausência de COVs induzidos por herbivoria não atrai as joaninhas, pois os voláteis constitutivos liberados pela planta não indicam a presença de recursos alimentares, não garantindo, assim, seu desenvolvimento nem a sobrevivência de sua progênie. Além disso, os voláteis constitutivos, em alguns casos, não são atrativos para os inimigos naturais, por serem emitidos em pequenas quantidades e de difícil detecção (DICKE; van LOON, 2000; VET; DICKE, 1992).

Observou-se que as joaninhas foram mais atraídas para os voláteis das plantas danificadas. No experimento terra+substrato *versus* planta de pimentão

danificada por *A. gossypii*, as joaninhas preferiram o odor da planta danificada. No entanto, obteve-se um resultado inesperado quando se testou terra+substrato *versus* planta danificada por *M. persicae*, pois as joaninhas não demonstraram preferência e esperava-se que elas se comportassem como no experimento anterior com *A. gossypii*. Nos dois experimentos utilizando plantas sem dano contra plantas danificadas por *A. gossypii* e *M. persicae*, separadamente, as joaninhas preferiram o odor das plantas danificadas, em ambos os casos.

Nos três tratamentos em que houve resposta positiva das joaninhas aos COVs induzidos, demonstrou-se que elas são atraídas pela modificação do perfil de voláteis das plantas danificadas. Esses resultados foram semelhantes aos relatados por Sarmento et al. (2008), em que *C. sanguinea* foi significativamente mais atraída para plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) (Solanaceae) infestadas por *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas, 1878) (Hemiptera: Aphididae) do que para plantas de tomate limpas. Da mesma forma, Ninkovic, Al Abassi e Pettersson (2001) observaram que espécimes de *Coccinella septempunctata* L. (Coleoptera: Coccinellidae) foram significativamente mais atraídos pelos COVs emitidos pelas plantas de cevada (*Hordeum vulgare*) (Poaceae) infestadas com pulgões [*Rhopalosiphum padi* (L.)] (Hemiptera: Aphididae) do que para plantas sem danos. A atração foi mantida mesmo quando os pulgões foram retirados e as folhas lavadas com água. Nesse trabalho, o comportamento de busca dos predadores foi modificado pelos voláteis induzidos pela herbivoria. Em contraste, no experimento utilizando terra+substrato *versus* planta danificada por *M. persicae*, essa preferência não foi registrada. Para que se possa compreender o que ocorreu, é necessário coletar e analisar o perfil dos COVs induzidos após esta herbivoria e compará-lo com o perfil dos voláteis da mistura terra+substrato.

No experimento com planta de pimentão danificada por *A. gossypii* *versus* planta de pimentão danificada por *M. persicae*, ambos os COVs emitidos

pelo pimentão foram atraentes e, por isso, as joaninhas não demonstraram preferência entre eles. Sarmento et al. (2007), utilizando plantas de tomate infestadas com *M. euphorbiae* contra plantas de tomate infestadas com *Tetranychus evansi* Baker e Pritchard (Acari: Tetranychidae), demonstraram que *C. sanguinea* preferiu plantas danificadas por *M. euphorbiae*. A razão apontada pelos autores é que fêmeas de *C. sanguinea* não conseguem completar seu ciclo biológico quando alimentadas apenas por *T. evansi*, o que não ocorre quando alimentadas apenas por *M. euphorbiae*. Tal limitação não ocorreu no presente trabalho. A diferença no perfil dos COVs induzidos pelas duas espécies não foi suficiente para demonstrar preferência por uma delas, pois, provavelmente, produzem perfis de COVs semelhantes. As interações entre plantas e inimigos naturais dos herbívoros são surpreendentemente sofisticadas, apresentando especificidade, em que as plantas respondem de forma diferente a diferentes espécies de herbívoros (De MORAES et al., 1998).

No caso dos testes realizados com plantas de pimentão com danos conjuntos *versus* planta de pimentão danificada por *A. gossypii*, e planta de pimentão danificada por *M. persicae*, não houve preferência, em ambos os casos. Esses resultados foram adversos aos de Moayeri et al. (2007) que testaram plantas de pimentão infestadas com *M. persicae* ou *T. evansi* contra plantas de pimentão infestadas por ambas as espécies (dano conjunto). O predador *Macrolophus caliginosus* Wagner (Hemiptera: Miridae) mostrou preferência por aquelas com dano conjunto. Segundo os autores, em um contexto biológico, a atração de *M. caliginosus* pode ser explicada pela maior rentabilidade de uma dieta mista contendo sua presa preferencial (pulgão) e também pelo fato de que a variação entre os voláteis induzidos por uma única espécie de herbívoro ou várias pareceu ser, principalmente, quantitativa. A atratividade semelhante entre dano conjunto *versus* dano individual, no trabalho atual, parece indicar que o perfil dos COVs foi pouco modificado pelo dano conjunto. Assim, os possíveis

efeitos aditivos apontados por mais de um herbívoro (De BOER et al., 2008) foram apenas discretos, não causando mudanças efetivas no comportamento de busca do predador.

Nos testes com danos sequenciais utilizando odores da planta de pimentão danificada por *A. gossypii* versus planta de pimentão com dano sequencial *A. gossypii* - *M. persicae*, as joaninhas foram muito mais atraídas pelo odor liberado pela planta com dano sequencial. Entretanto, quando o dano sequencial foi invertido (*M. persicae* - *A. gossypii*), não houve preferência. Os danos sequenciais ou simultâneos de diferentes espécies de herbívoros podem resultar em diferentes níveis de expressão de genes relacionados com a defesa, quando comparados com plantas infestadas por uma única espécie de herbívoro (KESSLER; HALITSCHKE, 2007).

Nos outros testes com danos sequenciais, as joaninhas expostas aos odores da planta de pimentão danificada por *M. persicae* versus odor da planta com dano sequencial causado por *A. gossypii* - *M. persicae* e também as expostas ao dano sequencial invertido (*M. persicae* - *A. gossypii*) não demonstraram preferência por nenhum odor oferecido.

Estudos de herbivoria múltipla (De BOER; POSTHUMUS; DICKE, 2004) utilizando *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae) e *Spodoptera exigua* (Hubner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae), sendo que o primeiro é presa do ácaro *Phytoseiulus persimilis* (Athias-Henriot, 1957) (Acari: Phytoseiidae) e o segundo não. Quando testados em plantas de pepino *C. sativus*, e feijão-lima *Phaseolus lunatus* L., *P. persimilis* foi mais atraído pela planta danificada pelas duas espécies do que quando com apenas uma, demonstrando que a mistura de voláteis liberados pelas plantas que sofreram herbivoria múltipla é mais facilmente detectada pelo ácaro predador.

A ativação dos compostos de defesa das plantas depende também do reconhecimento dos compostos presentes, principalmente, na saliva dos insetos,

conhecidos como elicitores (MELLO; SILVA-FILHO, 2002). Esses elicitores são os responsáveis pela diferença na emissão de voláteis de defesa emitidos por herbivoria. Sendo dois herbívoros que se alimentam da mesma forma, por sucção, no presente trabalho, os elicitores produzidos pelos danos sequenciais podem desencadear fenômenos semelhantes na produção dos COVs induzidos, diferentemente do trabalho citado, no qual os insetos se alimentam de forma diferente.

Os três experimentos de dano sequencial, nos quais não foram identificadas preferências do predador, reforça o diagnóstico, já apresentado nos trabalhos de danos conjunto, de que os dois herbívoros em questão não produzem COVs tão diferenciais na escala de tempo, a ponto de mudar o comportamento do predador. A herbivoria com uma espécie de herbívoro seguida por outra não pareceu diferente da herbivoria de uma única espécie. Em contraste, Bolter et al. (1997) relataram que a composição dos COVs mudou temporariamente durante e após a alimentação dos herbívoros. Os autores observaram que a emissão de alguns componentes dos COVs diminuiu após a remoção dos besouros *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae) das plantas da batateira, enquanto a emissão de outros COVs aumentou e se manteve em um nível elevado, mesmo após a remoção do herbívoro por um tempo. Em contraste, a preferência mostrada por *C. sanguinea* pela planta com dano sequencial causado por *A. gossypii* seguido de *M. persicae*, em detrimento da planta danificada por *A. gossypii*, sugere que alguma modificação pode ter sido provocada no perfil dos COVs da planta com dano sequencial. É necessário realizar a coleta e a análise dos COVs liberados nos experimentos de herbivoria múltipla para investigar o motivo de tal atração diferencial.

A natureza química dos produtos voláteis que são efetivamente utilizados pelos inimigos naturais, na orientação da busca pelas presas, continua

a ser um enigma (DICKE; van LOON, 2000), portanto, são necessários mais estudos, em laboratório e em campo, sobre como a herbivoria múltipla atua sobre os inimigos naturais, uma vez que diferentes níveis de especificidade de sinais são necessários para a atração de inimigos naturais. Para predadores generalistas, um sinal inespecífico de um simples composto pode indicar a presença de um herbívoro se alimentando e isso pode ser suficiente para um predador generalista, independente de outras alterações implicadas na herbivoria múltipla, como mostrado por Kessler e Baldwin (2001).

7 CONCLUSÃO

As plantas de pimentão atacadas por *A. gossypii* e *M. persicae* liberam compostos orgânicos voláteis que influenciam a atração de *C. sanguinea* em testes de olfatometria.

Plantas danificadas por *A. gossypii* e por *M. persicae* foram mais atraentes, quando comparadas com a planta sem dano.

Plantas danificadas por *A. gossypii* e também plantas danificadas por *M. persicae* foram atraentes, quando comparadas com a planta sem dano. Plantas de pimentão infestadas por *A. gossypii* e *M. persicae* emitem voláteis que são atrativos para *C. sanguinea*.

Os resultados demonstraram que o dano conjunto ou sequencial não interferiu na atração de *C. sanguinea*.

8 CONSIDERAÇÕES GERAIS

O estudo realizado abre a possibilidade de se realizarem novas pesquisas com esses herbívoros, inimigo natural e planta de pimentão, em condições de casa de vegetação e em campo, e também a coleta, análise e a identificação dos COVs liberados pela planta após o dano por herbivoria. Apesar disso, é necessário fazer experimentos, em casa de vegetação e em campo, para que se possam utilizar as joaninhas em programas de controle biológico. Também se pode testar o efeito da herbivoria múltipla, no caso de herbívoros com diferentes tipos de alimentação e diferentes plantas. A diferença nas taxas de liberação de voláteis induzidos por herbivoria pode estar associada com as diferentes espécies de herbívoros, ou seu tempo de ação sobre a planta.

Em vários estudos tem sido dada atenção aos efeitos da herbivoria múltipla na indução das defesas na planta, incluindo a emissão de voláteis induzidos, que podem impactar a resposta dos inimigos naturais. O conhecimento dos voláteis de plantas sob ataque de herbívoros abre perspectivas interessantes para seu emprego no campo de manejo integrado de pragas (MIP).

REFERÊNCIAS

ADESSO, K. M.; McAUSLANE, H. J.; ALBORN, T. Attraction of pepper weevil to volatiles from damaged pepper plants. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Wageningen, v. 138, n. 1, p. 1-11, Jan. 2011.

ANGELO, A. C.; DALMOLIN, A. Interações herbívoro-planta e suas implicações para o controle biológico: que tipos de inimigos naturais procurar? In: PEDROSA-MACEDO, J. H.; DALMOLIN, A.; SMITH, C. W. (Org.). **O araçazeiro: ecologia e controle biológico**. Curitiba: FUPEF do Paraná, 2007. p. 71-91.

ARAB, A.; BENTO, J. M. S. Plant volatiles: New perspectives for research in Brazil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 35, n. 2, p. 151-158, Apr. 2006.

BALDWIN, I. T. Plant volatiles. **Current Biology**, London, v. 20, n. 9, p. R392-R397, May 2010.

BALDWIN, I. T. et al. Merging molecular and ecological approaches in plant-insect interactions. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 4, n. 4, p. 351-358, Aug. 2001.

BARBOSA, L. R. et al. Eficiência de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) no controle de *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera: Aphididae) em pimentão (*Capsicum annuum* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 4, p. 1113-1119, jul./ago. 2008.

BEGON, M.; HARPER, J. L.; TOWNSEND, C. R. **Ecologia: de indivíduos a ecossistemas**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2007.

BEGON, M.; MORTIMER, M.; THOMPSON, D. J. **Population Ecology: a unified study of animals and plants**. 3rd ed. Oxford: Blackwell, 1996.

BOEGE, K.; MARQUIS, R. J. Facing herbivory as you grow up: the ontogeny of resistance in plants. **Trends in Ecology & Evolution**, Barking, v. 20, n. 8, p. 441-448, Aug. 2005.

BOLTER, C. J. et al. Attraction of colorado potato beetle to herbivore-damaged plants during herbivory and after its termination. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 23, n. 4, p. 1003-1023, 1997.

BORROR, D. J.; DELONG, D. M. **Introdução ao estudo dos insetos**. São Paulo: E. Blücher, 1988.

BOSTOCK, R. M. Signal crosstalk and induced resistance: straddling the line between cost and benefit. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 43, p. 545-580, 2005.

COLEY, P. D.; BARONE, J. A. Herbivory and plant defenses in tropical forests. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 27, p. 305-335, Nov. 1996.

CORNELISSEN, T. G.; FERNANDES, G. W. Insetos herbívoros. **Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 192, p. 24-30, abr. 2003.

COSTA, J. G. et al. Differential preference of *Capsicum* spp. Cultivars by *Aphis gossypii* is conferred by variation in volatile semiochemistry. **Euphytica**, Wageningen, v. 177, p. 299-307, 2011.

De BOER, J. G.; POSTHUMUS, M. A.; DICKE, M. Identification of volatiles that are used in discrimination between plants infested with prey or nonprey herbivores by a predatory mite. **Journal Chemical Ecology**, New York, v. 30, n. 11, p. 2215-2230, Nov. 2004.

De BOER, J. G. et al. Prey and Non-prey Arthropods Sharing a Host Plant: Effects on Induced Volatile Emission and Predator Attraction. **Journal Chemical Ecology**, New York, v. 34, n. 3, p. 281-290, Mar. 2008.

De MORAES, C. M.; MESCHER, M. C.; TUMLINSON, J. H. Catterpillar-induced nocturnal plant volatiles repel conspecific females. **Nature**, London, v. 410, p. 577-580, Mar. 2001.

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

DICKE, M. Local and Systemic Production of Volatile Herbivore induced Terpenoids: Their Role in Plant-carnivore Mutualism. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 143, n. 4/5, p. 465-472, Apr. 1994.

DICKE, M. Specificity of herbivore-induced plant defences. In: CHADWICK, D. J.; GOODE, J. (Ed.). **Insect-Plant Interactions and Induced Plant Defence**. Chicester: Wiley, 1999. p. 43-59. (Novartis Foundation Symposium, 223).

DICKE, M.; SABELIS, M. W. Infochemical Terminology: Based on Cost-Benefit Analysis Rather than Origin of Compounds? **Functional Ecology**, Oxford, v. 2, n. 2, p. 131-139, 1988.

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

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

DICKE, M. et al. Mixed blends of herbivore-induced plant volatiles and foraging success of carnivorous arthropods. **Oikos**, Buenos Aires, v. 101, n. 1, p. 38-48, Apr. 2003.

DRUKKER, B.; BRUIN, J.; SABELIS, M. W. Anthocorid predators learn to associate herbivore-induced plant volatiles with presence or absence of prey. **Physiological Entomology**, Oxford, v. 25, n. 3, p. 260-265, Jan. 2000.

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

FALL, R. et al. Volatile organic compounds emitted after leaf wounding: On-line analysis by proton-transfer-reaction mass spectrometry. **Journal of Geophysical Research**, v. 104, n. D13, p. 15963-15974, July 1999.

GALLO, D. et al. **Entomologia agrícola**. Piracicaba, SP: FEALQ, 2002. v. 10.

GUERREIRO, J. C. A importância das joaninhas no controle biológico de pragas no Brasil e no mundo. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, [s.l.], ano 3, n. 5, p. 1-4, jun. 2004.

GUREVITCH, J.; SCHEINER, S. M.; FOX, G. A. **Ecologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2006.

HARE, J. D. Ecological role of volatiles produced by plants in response to damage by herbivorous insects. **Annual Reviews Entomology**, Palo Alto, v. 56, p. 161-180, 2011.

HARE, J. D.; SUN, J. J. Production of Induced Volatiles by *Datura wrightii* in Response to Damage by Insects: Effect of Herbivore Species and Time. **Journal Chemical Ecology**, New York, v. 37, n. 7, p. 751-764, July 2011.

HARTLEY, S. Interrelationship between insects and plants. By Pierre Jolivet. **New Phytologist**, London, v. 144, n. 2, p. 209-211, Nov. 1999.

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

HORIUCHI, J.-I. et al. Lima bean leaves exposed to herbivore-induced conspecific plant volatiles attract herbivores in addition to carnivores. **Applied Entomology and Zoology**, Tokyo, v. 38, n. 3, p. 365-368, 2003.

JOHNSON, M. T. J. Evolutionary ecology of plant defences against herbivores. **Functional Ecology**, Oxford, v. 25, n. 2, p. 305-311, Apr. 2011.

KALBERER, N. M.; TURLINGS, T. C. J.; RAHIER, M. Attraction of a leaf beetle (*Oreina cacaliae*) to damage host plants. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 27, n. 4, p. 647-661, Apr. 2001.

KESSLER, A.; BALDWIN, I. T. Defensive function of herbivore-induced plant volatile emissions in nature. **Science**, New York, v. 291, n. 5511, p. 2141-2144, Mar. 2001.

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

KESSLER, A.; HALITSCHKE, R. Specificity and complexity: the impact of herbivore-induced plant responses on arthropod community structure. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 10, n. 4, p. 409-414, Aug. 2007.

KOORNNEEF, A.; PIETERSE, C. M. J. Cross Talk in Defense Signaling. **Plant Physiology**, Stuttgart, v. 146, n. 3, p. 839-844, Mar. 2008.

MEDEIROS, A. H. **Identificação e caracterização de genes induzidos por *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em cana-de-açúcar**. 2008. 101 p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2008.

MELLO, M. O.; SILVA-FILHO, M. C. Plant insects interactions: an evolutionary arms race between two distinct defense mechanisms. **Brazilian Journal Plant Physiology**, Londrina, v. 14, n. 2, p. 71-81, Aug. 2002.

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

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

MOURA, A. P. et al. **Manejo integrado de pragas de pimenta do gênero *Capsicum***. Brasília, DF: Embrapa, mar. 2013. (Circular técnica, 115).

NINKOVIC, V.; AL ABASSI, S.; PETTERSSON, J. The influence of aphid-induced plant volatiles on ladybird beetle searching behavior. **Biological Control**, Orlando, v. 21, n. 2, p. 191-195, June 2001.

ODUM, E. P. **Ecologia**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988.

OHARA, Y.; TAKAFUJI, A.; TAKABAYASHI, J. Response to host-infested plants in females of *Diadegma semiclausum* Hellen (Hymenoptera: Ichneumonidae). **Applied Entomology and Zoology**, Tokyo, v. 38, n. 1, p. 157-162, Jan. 2003.

PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. **Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2009.

PEÑUELAS, J.; LLUSIÀ, J. BVOCs: plant defense against climate warming? **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 8, n. 3, p. 105-109, Mar. 2003.

PEÑUELAS, J.; LLUSIÀ, J. Plant VOC emissions: making use of the unavoidable. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 19, n. 8, p. 402-404, Aug. 2004.

PICANÇO, M. C. [Apostila de entomologia agrícola]. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Biologia Animal, Setor de Entomologia, 2010. Disponível em: <http://www.ica.ufmg.br/insetario/images/apostilas/Apostila_Entomologia_Agricola.pdf>. Acesso em: 14 nov. 2012.

PINTO-ZEVALLOS, D. M. et al. Compostos orgânicos voláteis na defesa induzida das plantas contra insetos herbívoros. **Química Nova**, São Paulo, v. 36, n. 9, p. 1395-1405, 2013.

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

PUTMAN, R. J. **Community ecology**. London: Chapman & Hall, 1994.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R**: a language and environment for statistical computing. Vienna, 2006. Software. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>. Acesso em: 20 dez. 2012.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EECHHORN, S. E. **Biologia vegetal**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.

SWAMY, G. S. Defense Signaling in Plants: Plants Cry for Help. **Resonance**, [s.l.], p. 43-53, Aug. 2000.

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

SARMENTO, R. A. et al. Use of odours by *Cycloneda sanguinea* to assess patch quality. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Wageningen, v. 124, n. 3, p. 313-318, Sept. 2007.

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

SILVA, A. C. et al. **Guia para o reconhecimento de inimigos naturais de pragas agrícolas**. Edição técnica de Alessandra de Carvalho Silva. Brasília, DF: Embrapa, 2013.

SILVA, A. G. et al. Interação tritrófica: aspectos gerais e suas implicações no manejo integrado de pragas. **Nucleus**, Ituverava, v. 9, n. 1, p. 35-47, Apr. 2012.

STAMP, N. Out of the quagmire of plant defense hypotheses. **The Quarterly Review of Biology**, Chicago, v. 78, n. 1, p. 23-55, Mar. 2003.

STOWE, K. A. et al. The evolutionary ecology of tolerance to consumer damage. **Annual Review Ecological Systems**, [s.l.], v. 31, p. 565-595, 2000.

TIMBÓ, R. V. **Estudo bioquímico da soja em defesa induzida pela herbivoria do percevejo-marrom *Euchistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae)**. 2013. 81 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2013.

TURLINGS, T. C. J.; WACKERS, F. Recruitment of predators and parasitoids by herbivore-injured plants. Edited by CARDÉ, R. T.; MILLAR, J. G. (Ed.). **Advances in Insect Chemical Ecology**. Cambridge: Cambridge University Press, 2004. v. 2, p. 21-75.

TURLINGS, T. C. J. et al. Volicitin, an elicitor of maize volatiles in oral secretion of *Spodoptera exigua*: isolation and bioactivity. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 26, n. 1, p. 189-202, 2000.

TRIPLEHORN, C. A.; JONNISON, N. F. **Estudos dos insetos**. Tradução da 7ª edição de Borror and Delon's Introduction to the Study of Insects. São Paulo: Cengage Learning, 2011.

VET, M. E. L.; DICKE, M. Ecology of Infochemical use by Natural Enemies in a Tritrophic Context. **Annual Review Entomology**, Palo Alto, v. 37, p. 141-172, Jan. 1992.

VORBURGER, C.; GOUSKOV, A.; von BURG, S. Genetic covariation between effectiveness and cost of defence in aphids. **Biology Letters**, London, v. 4, n. 6, p. 674-676, Dec. 2008.

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

ZULUAGA, C. et al. **Herbivoria em dois ambientes com alta e baixa disponibilidade de nutrientes e água**. São Paulo, 2013. Prática da Pesquisa em Ecologia da Mata Atlântica. Curso de Pós-Graduação em Ecologia da Universidade de São Paulo.