



BIANCA PITALUGA MAGALHÃES

**PAPEL DOS VOLÁTEIS DE EUCALIPTO INDUZIDOS PELA
HERBIVORIA NA LOCALIZAÇÃO HOSPEDEIRA DO
PARASITOIDE PUPAL *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle,
1993 (Hymenoptera: Eulophidae)**

LAVRAS – MG

2025

BIANCA PITALUGA MAGALHÃES

**PAPEL DOS VOLÁTEIS DE EUCALIPTO INDUZIDOS PELA HERBIVORIA NA
LOCALIZAÇÃO HOSPEDEIRA DO PARASITOIDE PUPAL *Palmistichus elaeisis*
Delvare & LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae)**

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

Profª. Dra. Maria Fernanda Gomes Villalba Peñaflor

Orientadora

Dr. Tiago Morales Silva

Coorientador

LAVRAS-MG

2025

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

Pitaluga Magalhães, Bianca.

Papel dos voláteis de eucalipto induzidos pela herbivoria na localização
hospedeira do parasitoide pupal *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle, 1993
(Hymenoptera: Eulophidae) / Bianca Pitaluga Magalhães. - 2025.

53 p. : il.

Orientadora: Maria Fernanda Gomes Villalba Peñaflor

Coorientador: Tiago Morales Silva

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2025.

Bibliografia.

1. Voláteis induzidos pela herbivoria. 2. Parasitoide pupal. 3. Thyrinteina
arnobia. I. Gomes Villalba Peñaflor, Maria Fernanda. II. Morales Silva, Tiago. III.
Universidade Federal de Lavras. IV. Título.

BIANCA PITALUGA MAGALHÃES

PAPÉL DOS VOLÁTEIS DE EUCALIPTO INDUZIDOS PELA HERBIVORIA NA LOCALIZAÇÃO HOSPEDEIRA DO PARASITOIDE PUPAL *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae)

ROLE OF HERBIVORE-INDUCED EUCALYPTUS VOLATILES IN HOST LOCATION BY THE PUPAL PARASITOID *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae)

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

APROVADA em 17 de Fevereiro de 2025.
Prof. Dr. Bruno Henrique Sardinha de Souza UFLA
Dra. Fernanda Moreira Andrade AGROTESTE

Prof (a). Dra Maria Fernanda Gomes Villalba Peñaflor
Orientadora

Dr. Tiago Morales Silva
Coorientador

**LAVRAS – MG
2025**

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia, ao Departamento de Entomologia e à Universidade Federal de Lavras por todo o apoio estrutural e técnico durante minha formação.

À Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) pela concessão da minha bolsa de estudos.

À empresa Pró Mudas, parceira que cedeu todas as mudas de eucalipto utilizadas nos experimentos.

À empresa Sorel pelo envio dos insetos que deram início à criação da lagarta parda em nosso laboratório.

À Deus, que me guiou, me protegeu e iluminou meu caminho durante toda minha trajetória.

Aos meus pais, por me ensinarem, com muito amor e cuidado, a lutar pelos meus sonhos, e me apoiarem em cada um deles.

Ao meu parceiro, Ezequiel, por acreditar em mim mais do que eu mesma, e por inúmeras vezes não me deixar cair.

À minha orientadora, Maria Fernanda, por fazer da pós-graduação um lugar mais humano e gentil, permitindo com que eu me sentisse em casa.

Ao meu coorientador, Tiago Morales, por me apoiar e sempre ajudar a simplificar os caminhos.

Aos meus colegas do LEQIIP, por me oferecerem um ambiente de trabalho amigável e repleto de parceira.

Aos meus amigos, que estiveram presentes em meus piores momentos e ainda assim me tiraram as melhores risadas.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para que eu chegasse até aqui.

"O olhar atento a um inseto revela mais sobre a natureza do que mil paisagens vistas de longe." (Henry David Thoreau)

RESUMO

Ao serem atacadas por insetos herbívoros, as plantas utilizam de estratégias de defesas induzidas pela herbivoria que estimulam a produção de novos metabólitos secundários, como compostos orgânicos voláteis (COVs). Os voláteis de planta induzidos pela herbivoria (HIPVs, sigla em inglês) são muito abundantes e altamente detectáveis, e são utilizados pelos inimigos naturais para a localização de presas e hospedeiros. Essa produção de defesas induzidas é regulada por fitormônios, da qual os jasmonatos, como jasmonato de metila (MeJA), possuem papel fundamental na amplificação da sinalização do ataque. Os parasitoides larvais comumente possuem a capacidade de reconhecer os HIPVs especificamente liberados pelas plantas atacadas pelos estágios-alvo do parasitismo de suas espécies hospedeiras. Contudo, os parasitoides de pupas enfrentam maiores obstáculos, visto que as pupas geralmente são inconspícuas, não se alimentam ou defecam. Ainda assim, alguns poucos estudos indicam que os parasitoides pupais são atraídos pelos HIPVs emitidos por plantas infestadas pelos estágios larvais de seus hospedeiros. Diante disso, este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de investigar o papel dos voláteis induzidos pela herbivoria na localização hospedeira do parasitoide pupal *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle 1993 (Hymenoptera: Eulophidae). Especificamente, analisamos se a herbivoria natural por lagartas de *Thyriniteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae) de diferentes idades e indução artificial (induzida pela aplicação exógena de duas concentrações de jasmonato de metila) induz a emissão de voláteis da planta de eucalipto atrativos para o parasitoide. A partir de bioensaios de olfatométrica de tubo em 'Y', foi avaliada a preferência de fêmeas de *P. elaeisis* frente aos voláteis emitidos por plantas tratadas vs. plantas não tratadas (controle), e em seguida, os voláteis emitidos pelas plantas foram coletados, identificados e quantificados. Foi observado que as fêmeas preferiram os odores das plantas não tratadas àqueles das plantas tratadas com MeJA a 3,0 mM, enquanto as plantas tratadas com MeJA a 4,5 mM produziram voláteis atrativos. Entretanto, a composição da mistura de COVs pela planta não diferiu significativamente entre os tratamentos, tanto de forma qualitativa, quanto quantitativa. Com relação à herbivoria de lagartas, as fêmeas não distinguiram entre plantas controle e plantas infestadas com lagartas de segundo ínstar. Porém, quando expostas às plantas infestadas com lagartas de quinto ínstar, as fêmeas preferiram as plantas com herbivoria. A emissão total média de voláteis pelas plantas infestadas com lagartas mais velhas foi quantitativamente maior do que a emissão de plantas com lagartas jovens e plantas controle. Este trabalho mostrou que os parasitoides são atraídos pelo MeJA de maneira dose-dependente, assim, a depender da concentração utilizada, o terceiro nível trófico responderá de forma diferente. Além disso, os parasitoides foram atraídos pelos voláteis emitidos por plantas induzidas com lagartas mais velhas, o que pode indicar que os parasitoides pupais exploram estas pistas químicas na localização de hospedeiros. E o reconhecimento acontece apenas quando as lagartas estão mais velhas, o que pode ser vantajoso, visto que este estágio de desenvolvimento está temporalmente mais próximo do estágio-alvo acontecer.

Palavras-chave: parasitoide pupal; *Thyriniteina arnobia*; localização do hospedeiro; defesas induzidas.

ABSTRACT

When attacked by herbivorous insects, plants use herbivore-induced defense strategies that stimulates the production of new secondary metabolites, such as volatile organic compounds (VOCs). Herbivore-induced plant volatiles (HIPVs) are highly abundant and easily detectable, serving as cues for natural enemies to locate prey and hosts. This induced defense production is regulated by phytohormones, among which jasmonates, such as methyl jasmonate (MeJA), play a crucial role in amplifying attack signaling. Larval parasitoids commonly have the ability to recognize HIPVs specifically released by plants attacked by the target stages of their host species. However, pupal parasitoids face greater challenges, as pupae are generally inconspicuous, do not feed or defecate. Still, a few studies indicate that pupal parasitoids are attracted to HIPVs emitted by plants infested with the larval stages of their hosts. In this context, the present study aimed to investigate the role of herbivore-induced plant volatiles in host location by the pupal parasitoid *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle 1993 (Hymenoptera: Eulophidae). Specifically, we analyzed whether natural herbivory by *Thyrintaina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae) caterpillars of different ages and artificial induction (through the exogenous application of two concentrations of methyl jasmonate) stimulate the emission of eucalyptus plant volatiles that attract the parasitoid. Using Y-tube olfactometry bioassays, we evaluated the preference of *P. elaeisis* females for volatiles emitted by treated vs untreated (control) plants. Subsequently, the volatiles emitted by the plants were collected, identified, and quantified. It was observed that females preferred the odours of untreated plants over those of plants treated with MeJA at 3.0 mM, whereas plants treated with MeJA at 4,5 mM produced attractive volatiles. However, the qualitative and quantitative composition of the plant's VOC mixture did not differ significantly among treatments. Regarding caterpillar herbivory, females did not distinguish between control plants and plants with second-instar caterpillars. However, when exposed to plants infested with fifth-instar caterpillars, females preferred the herbivore-induced plants. The average total emission of volatiles by plants infested with older caterpillars was quantitatively higher than that of plants infested with younger caterpillars and control plants. This study demonstrated that parasitoids are attracted to MeJA in a dose-dependent manner; thus, depending on the concentration used, the third trophic level will respond differently. Additionally, parasitoids were attracted to volatiles emitted by plants induced by older caterpillars, which may indicate that pupal parasitoids exploit these chemical cues when locating hosts. Recognition only occurred when caterpillars were older, which could be advantageous, as this developmental stage is temporally closer to the target parasitism stage.

Keywords: pupal parasitoid; *Thyrintaina arnobia*; host location; induced defenses.

INDICADORES DE IMPACTO

Este trabalho teve como objetivo avaliar o impacto da produção de compostos voláteis em plantas de eucalipto induzida pela herbivoria na comunicação com o agente de controle biológico *Palmistichus elaeisis*, contribuindo para o avanço do conhecimento na interface entre ecologia química e controle biológico. Os resultados obtidos permitiram aprofundar a compreensão da interação entre parasitoides pupais e plantas hospedeiras, promovendo impacto direto na ciência básica e potencial impacto tecnológico e produtivo na agricultura sustentável. Observou-se que a idade das lagartas herbívoras influencia significativamente a atratividade das plantas ao parasitoide, o que pode ser incorporado a programas de monitoramento e manejo de pragas, otimizando o momento de liberação dos inimigos naturais. Ademais, identificaram-se compostos voláteis com potencial de serem produzidos sinteticamente e aplicados em campo como atrativos para parasitoides, o que pode aumentar a eficiência do controle biológico e reduzir a dependência de inseticidas químicos. Tais estratégias oferecem benefícios econômicos e ambientais, especialmente para produtores de eucalipto e empresas de bioinsumos, que podem incorporar essas descobertas às suas práticas de manejo integrado de pragas. Embora o trabalho tenha se desenvolvido em ambiente experimental, os impactos são aplicáveis em territórios produtores de eucalipto e em sistemas agrícolas que buscam inovação sustentável, envolvendo potenciais parcerias extensionistas com o setor produtivo. Este estudo se alinha às áreas temáticas de *meio ambiente, tecnologia e produção e trabalho* da Política Nacional de Extensão, bem como aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável da ONU, especialmente os ODS 2 (fome zero e agricultura sustentável), 12 (consumo e produção responsáveis), 13 (ação contra a mudança global do clima) e 15 (vida terrestre), ao promover práticas agrícolas mais eficientes, ambientalmente conscientes e baseadas em conhecimento científico.

IMPACT INDICATORS

This study aimed to evaluate the impact of volatile compound production in eucalyptus plants induced by herbivory on communication with the biological control agent *Palmistichus elaeisis*, contributing to the advancement of knowledge at the interface between chemical ecology and biological control. The results allowed for a deeper understanding of the interaction between pupal parasitoids and host plants, generating a direct impact on basic science and potential technological and productive impacts on sustainable agriculture. It was observed that the age of the herbivorous caterpillars significantly influences the plant's attractiveness to the parasitoid, which can be incorporated into pest monitoring and management programs, optimizing the timing of natural enemy releases. Additionally, attractive volatile compounds were identified with potential for synthetic production and field application to enhance parasitoid location, increase biological control efficiency, and reduce reliance on chemical insecticides. These strategies offer economic and environmental benefits, especially for eucalyptus producers and bioinput companies, who can incorporate these findings into their integrated pest management practices. Although the study was conducted under experimental conditions, its impacts are applicable to eucalyptus-producing regions and agricultural systems seeking sustainable innovation, involving potential extension partnerships with the productive sector. This research aligns with the thematic areas of *environment, technology and production*, and *labor* from the National Extension Policy, as well as the United Nations Sustainable Development Goals (SDGs), particularly SDG 2 (zero hunger and sustainable agriculture), SDG 12 (responsible consumption and production), SDG 13 (climate action), and SDG 15 (life on land), by promoting more efficient, environmentally conscious agricultural practices based on scientific knowledge.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Preferência olfativa das fêmeas do parasitoide *Palmistichus elaeisis* expostas a voláteis de plantas não tratadas e plantas tratadas com MeJA a 3,0 mM e 4,5 mM em testes de olfatometria em tubo Y. Os números dentro das barras correspondem a quantidade de fêmeas que responderam a cada tratamento..... 34
- Figura 2 - Preferência olfativa das fêmeas de *Palmistichus elaeisis* expostas a voláteis de plantas não infestadas vs plantas infestadas com lagartas de segundo e quinto ínstar, em testes de olfatometria de tubo Y. Os números dentro das barras correspondem ao número de fêmeas que responderam a cada tratamento..... 35
- Figura 3 - Análise de Componentes Principais (PCA) da composição de voláteis emitidos por plantas de eucalipto não infestadas e infestadas por lagartas de segundo (jovens) e quinto (velhas) ínstars.37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Emissão de voláteis (média + SE ng) de plantas de eucalipto tratadas com MeJA a 3,0 mM e MeJA 4,5 mM.....	36
Tabela 2 - Emissão de voláteis de plantas de eucalipto infestadas por lagartas de <i>Thyriniteina arnobia</i> de segundo e quinto ínstar, e de plantas não infestadas.....	38

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	13
1 INTRODUÇÃO GERAL	13
REFERÊNCIAS	18
SEGUNDA PARTE – ARTIGO.....	24
1 INTRODUÇÃO.....	26
2 MATERIAL E MÉTODOS	29
3 RESULTADOS.....	33
4 DISCUSSÃO.....	38
5 CONCLUSÃO.....	42
AGRADECIMENTOS	43
REFERÊNCIAS	44
TERCEIRA PARTE.....	52
CONSIDERAÇÕES FINAIS	52

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO GERAL

Ao longo do processo evolutivo, as plantas desenvolveram diversos mecanismos para se defender contra o ataque de insetos herbívoros (Schoonhoven; Van Loon; Dicke, 2005; War et al., 2012). Essas defesas podem se apresentar de forma constitutiva ou induzida, e atuam direta ou indiretamente sobre os insetos (Chen, 2008; Aljory; Chen, 2018). As defesas constitutivas estão presentes continuamente na planta, independente do ambiente externo, enquanto as defesas induzidas são produzidas somente após a percepção do estímulo externo gerado pelo inseto (Mumm; Dicke, 2010; Xu et al., 2015).

As defesas podem ser induzidas naturalmente a partir de diferentes estímulos, como a oviposição, a herbivoria e o caminhar dos insetos (Colazza et al., 2004; Hall et al., 2004; Peiffer et al., 2009; Shi et al., 2024). E a produção dessas defesas é iniciada a partir do reconhecimento pela planta de compostos elicitores, que são substâncias presentes em secreções dos insetos, como saliva, regurgito e fezes (Acevedo et al., 2015; Kant et al., 2015; Ray et al., 2016). Contudo, a indução pode ocorrer também de maneira artificial, gerada a partir de estímulos externos, muitas vezes provenientes de aplicações exógenas de compostos sintéticos (Ali et al., 2023; War et al., 2015).

O reconhecimento da herbivoria pela planta induz a produção de metabólitos secundários, que incluem compostos tóxicos, antinutritivos, ou deterrentes, para deter o ataque dos herbívoros (Block et al., 2019; Hussain et al., 2019; Kessler; Baldwin, 2002; Wu; Baldwin, 2010). Além disso, a planta atacada passa a emitir uma mistura de compostos orgânicos voláteis (COVs) distinta daquela emitida pela planta intacta e, por isso, é denominada de voláteis de planta induzidos pela herbivoria (ou *herbivore-induced plant volatiles*, HIPVs) (Faiola et al., 2015; Skoczek et al., 2017). Os HIPVs são abundantes e de alta volatilidade, tendo um papel fundamental na comunicação inseto-planta e planta-planta (Karban et al., 2013; Pérez-Hedo et al., 2015). E, além disso, servem como sinais importantes para o terceiro nível trófico, isto é, os inimigos naturais dos herbívoros, que usam esses compostos em seu forrageamento, facilitando a localização de hospedeiros e presas adequados (Ayelo et al., 2021; Dicke; Van Loon, 2000; Turlings; Erb, 2018).

A produção de defesas induzidas acontece através da regulação hormonal na planta. Os principais fitormônios que regulam a ativação de rotas metabólicas de sinalização para a

produção de defesas são ácido salicílico (AS), ácido jasmônico (AJ) e etileno (ET) (Erb et al., 2012; Verma et al., 2016; Zhang et al., 2013). A atuação dos fitormônios está diretamente relacionada ao hábito alimentar dos herbívoros. Enquanto a herbivoria causada por insetos mastigadores ativa a rota associada ao ácido jasmônico (AJ), a herbivoria por insetos sugadores de seiva estimula, principalmente, a rota ligada ao ácido salicílico (AS) (Van Poecke; Dicke, 2004; Zhao et al., 2009). Dessa forma, os herbívoros pertencentes a diferentes guildas alimentares induzem respostas distintas nas plantas.

Os jasmonatos, como o ácido jasmônico (AJ) e o jasmonato de metila (MeJA), são derivados de ácidos graxos que regulam tanto a produção de defesas quanto várias etapas do desenvolvimento da planta, como a germinação de sementes, o crescimento de raízes e a senescência (He et al., 2002; Reinbothe et al., 2009; Wang et al., 2021). O AJ regula a expressão de genes associados a defesas contra herbívoros, promovendo a produção de compostos químicos deterrentes, repelentes, ou que interferem na fisiologia dos insetos herbívoros (Haas et al., 2018; Hickman et al., 2017). Enquanto o MeJA é um derivado volátil do AJ que tem papel essencial na amplificação das respostas de defesa e na sinalização do ataque, podendo também ter um papel importante na interação inseto-planta quando detectado nas emissões de voláteis (Bruinsma et al., 2009; Tonga et al., 2022; Weber et al., 2023).

Os parasitoides são inimigos naturais amplamente utilizados no controle biológico de pragas importantes. Eles geralmente são especializados em parasitar um estágio específico do ciclo de vida do inseto, sendo frequentemente classificados como parasitoides de ovos, larvais ou pupais (Godfray, 1994; Strand; Obrycki, 1996). Apesar da alta variabilidade na composição da mistura dos HIPVs, os parasitoides podem reconhecer as misturas liberadas pelas plantas atacadas pelas suas espécies hospedeiras de maneira bastante específica (De Moraes et al., 1998; Turlings; Erb, 2018), habilidade que pode ser inata ou aprendida (Giunti et al., 2015; Kruidhof et al., 2015; Sobhy et al., 2019). Entretanto, quando comparados com os químicos associados ao próprio hospedeiro, os HIPVs não são sinais tão confiáveis da presença do hospedeiro na planta (McCormick; Unsicker; Gershenzon, 2012; Vet; Dicke, 1992).

Os parasitoides de pupa enfrentam maiores desafios para localizar seus hospedeiros, uma vez que as pupas são inconspícuas, não se alimentam, não defecam, não se movimentam e frequentemente permanecem escondidas no ambiente, como no solo, dentro de tecidos vegetais ou abaixo de folhas (Frederickx et al., 2014; Geden, 2002). Os odores mais detectáveis a longas distâncias sobre a presença de hospedeiros seriam os HIPVs, porém esses sinais químicos não sinalizam diretamente o estágio-alvo do parasitismo para os parasitoides de pupas. Ainda assim,

alguns poucos trabalhos mostram que os parasitoides de pupas são atraídos pelos HIPVs emitidos por plantas infestadas pelos estágios larvais (De La Vega; Triñanes; González, 2021; Gohole et al., 2003). Esses sinais podem indicar indiretamente a presença do seu hospedeiro, e a localização guiada por HIPVs pode constituir uma estratégia eficiente para o inimigo natural (De La Vega; Triñanes; González, 2021; Giunti et al., 2015).

Nesse contexto, essa estratégia deve ser vantajosa para parasitoides de pupas, principalmente quando as plantas estão sendo atacadas por lagartas mais velhas, visto que o estágio-alvo está próximo de acontecer (Vet; Dicke, 1992). Em espécies de herbívoro multivoltinas, que possuem diversas gerações ao longo do ano, há uma sobreposição de estágios de desenvolvimento em uma mesma planta (Bjørnstad; Nelson; Tobin, 2016), assim, localizar estágios que são antecedentes, ou mesmo posteriores, ao estágio-alvo pode resultar no encontro do hospedeiro.

Sob a perspectiva aplicada, a capacidade do parasitoide de reconhecer os voláteis associados ao seu hospedeiro ou ao habitat de seu hospedeiro, independente da origem do sinal químico, é de extrema importância para o controle biológico de pragas. Esse método de controle utiliza de organismos vivos (inimigos naturais das pragas) para suprimir as populações de espécies-praga (Debach; Rosen, 1991; Kumaraswamy et al., 2024; Waage; Greathead, 1988). Esse se baseia na especificidade de interações existente entre os agentes de controle e as espécies alvo, o que permite a aplicação da técnica sem risco ecológico (Van Lenteren, 2001) e diminui expressivamente a necessidade de utilização de insumos químicos, como os pesticidas (Baker; Green, 2020; Wyckhuys et al., 2024). E, além disso, é um método de controle que tem sido cada vez mais empregado mundialmente, não apenas em cultivos agrícolas, mas também em cultivos florestais (Dahlsten; Mills, 1999; Fischbein; Corley, 2022), como o eucalipto (Martínez et al., 2018; Mendel et al., 2017;).

O Brasil está entre os países com maior área de florestas plantadas no mundo, com o eucalipto sendo a principal espécie cultivada (IBÁ, 2019; Rabelo, 2020). De acordo com o levantamento feito em 2020 pelo IBGE, existem mais de 7 milhões de hectares de plantações de eucalipto no país (IBGE, 2020). Esta espécie florestal possui diversas aplicações, dentre as quais se destacam a produção de celulose, papel, madeira processada, móveis e carvão vegetal (Júnior; Colodette, 2013). Assim, é um setor de grande importância econômica, e movimenta bilhões de reais anualmente (IBÁ, 2017). No entanto, um grande problema que os produtores enfrentam no cultivo dessa espécie é o dano causado por insetos-praga, os quais geram prejuízos expressivos à produtividade (Da Silva et al., 2020; Ghiotto et al., 2023).

A espécie *Thyriniteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae), conhecida como lagarta-parda ou lagarta-marrom-do-eucalipto, é uma das principais pragas da cultura do eucalipto (Barbosa et al., 2023; Zanuncio et al., 1994; Zanuncio et al., 2006;). Apesar da baixa capacidade de dispersão, muitas vezes relacionada com a expansão das plantações de eucalipto (Nanini et al., 2024), essa espécie está amplamente distribuída, e sua ocorrência já foi registrada em muitos estados brasileiros (Santos, 2008). Ela utiliza desde plantas jovens (com um mês de idade) até florestas estabelecidas, com mais de 20 anos, como fonte de alimento (Macedo; Mariconi, 1975; Osse et al., 1970; Wilcken, 1996). A principal injúria que causa é a desfolha das árvores, a qual, em cenários de surtos, pode reduzir cerca de 60% do volume da madeira e ainda causar a mortalidade de árvores (Anjos et al., 1987; Oda; Berti Filho, 1978). O controle químico, por meio da aplicação de piretróides e neonicotinóides via pulverização terrestre ou aérea, é o método de controle mais utilizado e preferido pelos produtores para suprimir a população de *T. arnobia* (Zanuncio et al., 1992; Zanuncio et al., 1994). Mas, apesar de possuir ação rápida, o controle químico traz alguns riscos, como o aumento da resistência dos insetos aos ingredientes ativos e efeitos letais ou subletais aos inimigos naturais (Pereira et al., 2016; Zhu et al., 2020). Assim, o controle biológico com inimigos naturais, tais como predadores e parasitoides, torna-se uma opção mais viável de manejo sustentável para garantir a diminuição de populações desta praga em plantios de eucalipto.

Palmistichus elaeisis Delvare & LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) é uma espécie de parasitoide atualmente registrada como agente de controle biológico de *T. arnobia* (MAPA, 2021). Trata-se de um parasitoide de pupas generalista e gregário que utiliza diversas espécies de lepidópteros como hospedeiro (Bittencourt; Berti Filho, 1999; Pastori et al., 2012; Pereira et al., 2010). O primeiro registro de parasitismo natural de *P. elaeisis* em *T. arnobia* foi em 2008 (Pereira et al., 2008). Contudo, pouco se sabe sobre as pistas químicas que guiam esse parasitoide na localização da pupa de seu hospedeiro, que pode ocorrer tanto suspensa nas folhas de eucalipto, como na vegetação do sub-bosque, ou ainda no solo (Zanuncio et al., 2021).

Considerando que *P. elaeisis* é um parasitoide registrado como agente de controle biológico, compreender como os voláteis influenciam em seu comportamento e quais pistas químicas essa espécie utiliza para encontrar seu hospedeiro é importante para o desenvolvimento de técnicas que visam maior eficiência no controle biológico de pragas desse sistema. Diante disso, este trabalho foi realizado visando compreender qual o papel dos voláteis de defesa induzidos pela herbivoria na localização hospedeira do parasitoide pupal *P. elaeisis*. Mais especificamente, nós avaliamos: (i) se indução de defesas em plantas de eucalipto a partir

do MeJA em diferentes concentrações e (ii) se a herbivoria de lagartas de *T. arnobia* de dois instares diferentes (jovens e velhas) pode alterar a preferência olfativa do parasitoide pupal. Foi avaliado também quais compostos são liberados pelas plantas em ambas as situações, sendo eles identificados e quantificados. Era esperado que o MeJA gerasse atração aos parasitoides nas duas concentrações testadas, pelo papel indicativo da presença do hospedeiro que possui. Esperávamos também que a herbivoria de lagartas mais velhas estimularia uma liberação de voláteis diferente da herbivoria de lagartas mais jovens, e que os parasitoides apresentassem preferência aos voláteis liberados pelas plantas infestadas com lagartas mais velhas.

O desenvolvimento deste trabalho contribui para a expansão do conhecimento sobre a estratégia de exploração de pistas químicas das plantas empregada pelo parasitoide *P. elaeisis* no forrageamento e localização das pupas de *T. arnobia* em mudas de eucalipto. O presente estudo também fornece informações valiosas sobre a atratividade de parasitoides pupais a voláteis derivados da atividade de outros estágios de desenvolvimento, ressaltando a importância dos voláteis induzidos pela herbivoria na comunicação inseto-planta.

REFERÊNCIAS

- ACEVEDO, F. E. et al. Cues from chewing insects – the intersection of DAMPs, HAMPs, MAMPs and effectors. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 26, p. 80–86, 2015.
- ALI, J. et al. Exogenous Application of Methyl Salicylate Induces Defence in *Brassica* against Peach Potato Aphid *Myzus persicae*. **Plants**, v. 12, n. 9, p. 1770, 2023.
- ALJBORY, Z.; CHEN, M. S. Indirect plant defense against insect herbivores: a review. **Insect science**, v. 25, n. 1, p. 2-23, 2018.
- ANJOS, N. dos; SANTOS, G. P.; ZANUNCIO, J. C. A lagarta-parda, *Thyrintina arnobia* Stoll, 1782 (Lepidoptera: Geometridae) desfolhadora de eucaliptos. Belo Horizonte: **EPAMIG**, 1987. 56 p. (EPAMIG. Boletim técnico, 25).
- AYELO, P. M. et al. Terpenes from herbivore-induced tomato plant volatiles attract *Nesidiocoris tenuis* (Hemiptera: Miridae), a predator of major tomato pests. **Pest Management Science**, v. 77, n. 11, p. 5255-5267, 2021.
- BARBOSA, L. R. et al. Eucalyptus pests. In: **Forest Microbiology**. Academic Press, p. 227-249, 2023
- BITTENCOURT, M. A. L.; BERTI FILHO, E. Preferência de *Palmistichus elaeisis* por pupas de diferentes lepidópteros praga. **Scientia Agricola**, v. 56, p. 1281-1283, 1999.
- BJØRNSTAD, O. N.; NELSON, W. A.; TOBIN, P. C. Developmental synchrony in multivoltine insects: generation separation versus smearing. **Population Ecology**, v. 58, p. 479-491, 2016.
- BLOCK, A. K. et al. Biosynthesis and function of terpenoid defense compounds in maize (*Zea mays*). **Planta**, v. 249, p. 21-30, 2019.
- BRUINSMA, M. et al. Jasmonic acid-induced volatiles of *Brassica oleracea* attract parasitoids: effects of time and dose, and comparison with induction by herbivores. **Journal of experimental botany**, v. 60, n. 9, p. 2575-2587, 2009.
- CHEN, M. S. Inducible direct plant defense against insect herbivores: A review. **Insect Science**, v. 15, n. 2, p. 101–114, abr. 2008. doi: 10.1111/j.1744-7917.2008.00190.x.
- COLAZZA, S. et al. Insect oviposition induces volatile emission in herbaceous plants that attracts egg parasitoids. **Journal of Experimental Biology**, v. 207, n. 1, p. 47-53, 2004.
- DAHLSTEN, D. L.; MILLS, N. J. Biological Control of Forest Insects. **Handbook of Biological Control**, p. 761–788, 1999. doi:10.1016/b978-012257305-7/50076-x
- DA SILVA, P. H. M. et al. Susceptibility of eucalypt taxa to a natural infestation by *Leptocybe invasa*. **New Forests**, v. 51, p. 753-763, 2020.
- DEBACH, P.; ROSEN, D. **Biological control by natural enemies**. CUP Archive, 1991.
- DE MORAES, C. M. et al. Herbivore-infested plants selectively attract parasitoids. **Nature**, v. 393, n. 6685, p. 570-573, 1998.
- DE LA VEGA, G. J.; TRIÑANES, F.; GONZÁLEZ, A. Effect of *Drosophila suzukii* on blueberry VOCs: chemical cues for a pupal parasitoid, *Trichopria anastrephae*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 47, p. 1014-1024, 2021.

- DICKE, M.; VAN LOON, J. J. A. Multitrophic effects of herbivore-induced plant volatiles in an evolutionary context. **Entomologia experimentalis et applicata**, v. 97, n. 3, p. 237-249, 2000.
- ERB, M et al. Role of phytohormones in insect-specific plant reactions. **Trends in plant science**, v. 17, n. 5, p. 250-259, 2012.
- FAIOLA, C. L. et al. Impacts of simulated herbivory on volatile organic compound emission profiles from coniferous plants. **Biogeosciences**, v. 12, n. 2, p. 527-547, 2015.
- FISCHBEIN, D.; CORLEY, J. C. Population ecology and classical biological control of forest insect pests in a changing world. **Forest Ecology and Management**, v. 520, p. 120400, 2022.
- FREDERICKX, C. et al. Depth and type of substrate influence the ability of *Nasonia vitripennis* to locate a host. **Journal of Insect Science**, v. 14, n. 1, p. 58, 2014.
- GEDEN, C. J. Effect of habitat depth on host location by five species of parasitoids (Hymenoptera: Pteromalidae, Chalcididae) of house flies (Diptera: Muscidae) in three types of substrates. **Environmental Entomology**, v. 31, n. 2, p. 411-417, 2002.
- GIUNTI, G et al. Parasitoid learning: Current knowledge and implications for biological control. **Biological Control**, v. 90, p. 208-219, 2015.
- GHIOTTO, T. C. et al. Ecological importance of lepidopteran defoliators on eucalyptus plantations based in faunistic and natural enemy analyses. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, p. e268747, 2023.
- GODFRAY, H. C. J. **Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology**. Princeton University Press, 1994.
- GOHOLE, L. S. et al. Role of volatiles emitted by host and non-host plants in the foraging behaviour of *Dentichasmias busseolae*, a pupal parasitoid of the spotted stemborer *Chilo partellus*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 107, n. 1, p. 1-9, 2003
- HAAS, J. et al. Getting ready for battle: do cabbage seeds treated with jasmonic acid and chitosan affect chewing and sap-feeding insects?. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 166, n. 5, p. 412-419, 2018.
- HALL, D.E. et al. Footsteps from insect larvae damage leaf surfaces and initiate rapid responses. **European Journal of Plant Pathology**, v. 110, p. 441-447, 2004.
- HE, Y. et al. Evidence supporting a role of jasmonic acid in Arabidopsis leaf senescence. **Plant physiology**, v. 128, n. 3, p. 876-884, 2002.
- HICKMAN, R. et al. Architecture and dynamics of the jasmonic acid gene regulatory network. **The Plant Cell**, v. 29, n. 9, p. 2086-2105, 2017.
- HUSSAIN, M. et al. Role of saponins in plant defense against specialist herbivores. **Molecules**, v. 24, n. 11, p. 2067, 2019.
- IBÁ – INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES. Relatório 2017. Disponível em: https://iba.org/images/shared/Biblioteca/IBA_RelatorioAnual2017.pdf . Acesso em: 30 out 2023.
- IBÁ - Indústria Brasileira de Árvores. Relatório Anual 2019. Disponível em: <https://www.iba.org/datafiles/publicacoes/relatorios/iba-relatorioanual2019.pdf>>. Acesso em 17 de janeiro de 2025.

- IBGE. Produção da Extração Vegetal e Silvicultura 2020. Rio de Janeiro, v. 35, p. 1-8, 2020
- JÚNIOR, D. L.; COLODETTE, J. L. Importância e versatilidade da madeira de eucalipto para a indústria de base florestal. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 33, n. 76, p. 429-438, 2013
- KANT, M. R. et al. Mechanisms and ecological consequences of plant defence induction and suppression in herbivore communities. **Annals of Botany**, v. 115, p. 1015–1051, 2015.
- KARBAN, R. et al. Kin recognition affects plant communication and defence. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 280, p. 2012-3062, 2013.
- KESSLER A.; BALDWIN I. T. Plant responses to insect herbivory: the emerging molecular analysis. **Annual Review of Plant Biology**, v. 53, p. 299–328, 2002
- KRUIDHOF, H. M. et al. Habitat complexity reduces parasitoid foraging efficiency, but does not prevent orientation towards learned host plant odours. **Oecologia**, v. 179, p. 353-361, 2015.
- KUMARASWAMY, S. et al. Parasitoids as biocontrol agents in India. **Current Opinion in Insect Science**, p. 101282, 2024.
- MACEDO, N.; MARICONI, F. A. M. Estudo das principais pragas das ordens Lepidoptera e Coleoptera dos eucaliptais do Estado de São Paulo. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba, 87 p. 1975.
- MAPA. Portaria nº 363, de 14 de Julho de 2021. Diário oficial da união. Brasília, DF, ed. 136, p. 4. 21 jul 2021. Seção 1. Disponível em: < <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-n-363-de-14-de-julho-de-2021-333280433> > Acesso em: 17 de janeiro 2025.
- MARTÍNEZ, G. et al. Rearing and releasing the egg parasitoid *Cleruchoides noackae*, a biological control agent for the Eucalyptus bronze bug. **Biological Control**, v. 123, p. 97-104, 2018.
- MCCORMICK, A. C.; UNSICKER, S. B.; GERSHENZON, J. The specificity of herbivore-induced plant volatiles in attracting herbivore enemies. **Trends in plant science**, v. 17, n. 5, p. 303-310, 2012.
- MENDEL, Z. et al. Classical biological control of two Eucalyptus gall wasps; main outcome and conclusions. **Biological Control**, v. 105, p. 66-78, 2017.
- MUMM, R.; DICKE, M. Variation in natural plant products and the attraction of bodyguards involved in indirect plant defense. **Canadian journal of zoology**, v. 88, n. 7, p. 628-667, 2010.
- NANINI, F. et al. Genetic diversity, population structure and ecological niche modeling of *Thyrintina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae), a native Eucalyptus pest in Brazil. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, p. 20963, 2024.
- OSSE, L. et al. The occurrence of insects in Eucalyptus plantations of the Companhia Siderúrgica Belgo-Mineira and experiments on their control by various means. **Brasil Florestal**, v. 1, n. 2, p. 21-24, 1970.
- PASTORI, P. L. et al. Densidade de fêmeas de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) para sua reprodução em pupas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 79, p. 525-532, 2012
- PEIFFER, M. et al. Plants on early alert: glandular trichomes as sensors for insect herbivores. **New Phytologist**, v. 184, p. 644–656, 2009.

- PEREIRA, E. S. et al. Manejo integrado de pragas na eucaliptocultura: inseticidas e parasitoides são compatíveis?. **Agri-Environmental Sciences**, v. 2, n. 2, p. 1-13, 2016.
- PEREIRA, F. F. et al. Species of Lepidoptera defoliators of Eucalyptus as new host for the parasitoid *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, p. 259-262, 2008
- PEREIRA, F. F. et al. The density of females of *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) affects their reproductive performance on pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 82, p. 323-331, 2010.
- PÉREZ-HEDO, M. et al. Defensive plant responses induced by *Nesidiocoris tenuis* (Hemiptera: Miridae) on tomato plants. **Journal of Pest Science**, v. 88, p. 543-554, 2015.
- RABELO, L. K. L. et al. Cenário das árvores plantadas no Brasil. **Biodiversidade**, v. 19, n. 3, 2020
- RAY, S. et al. Lessons from the far end: caterpillar frass-induced defenses in maize, rice, cabbage, and tomato. **Journal of Chemical Ecology**, v. 42, p. 1130–1141, 2016.
- REINBOTHE, C. et al. Plant oxylipins: role of jasmonic acid during programmed cell death, defence and leaf senescence. **The FEBS journal**, v. 276, n. 17, p. 4666-4681, 2009.
- SANTOS, G. P.; ZANUNCIO, J. C.; ZANUNCIO, T. V.; PIRES, E. M. Pragas do eucalipto. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 29, n. 242, p. 47-70, jan./fev. 2008.
- SCHOONHOVEN, L. M.; VAN LOON, J. J. A; DICKE, M. **Insect-plant biology**. Oxford university press, 2005.
- SHI, J. H. et al. The oviposition of cotton bollworms stimulates the defense against its eggs and larvae in tomato plants. **Pest Management Science**, 2024.
- SKOCZEK, A. et al. Volatile organic compounds released by maize following herbivory or insect extract application and communication between plants. **Journal of Applied Entomology**, v. 141, n. 8, p. 630-643, 2017.
- SOBHY, I. S. et al. Associative learning and memory retention of nectar yeast volatiles in a generalist parasitoid. **Animal Behaviour**, v. 153, p. 137-146, 2019.
- STRAND, M. R.; OBRYCKI, J. J. Host specificity of insect parasitoids and predators. **BioScience**, v. 46, n. 6, p. 422-429, 1996.
- TONGA, A. et al. Cotton treatment with methyl jasmonate at different growth stages reduces the population of sucking insect pests and marginally increases their associated predators. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 170, n. 3, p. 207-221, 2022.
- TURLINGS, T. C. J; ERB, M. Tritrophic interactions mediated by herbivore-induced plant volatiles: mechanisms, ecological relevance, and application potential. **Annual review of entomology**, v. 63, n. 1, p. 433-452, 2018.
- VAN POECKE, R. M. P.; DICKE, M. Indirect defence of plants against herbivores: using *Arabidopsis thaliana* as a model plant. **Plant Biology**, v. 6, n. 04, p. 387-401, 2004.
- VERMA, V. et al. Plant hormone-mediated regulation of stress responses. **BMC plant biology**, v. 16, p. 1-10, 2016.

- VET, L. E. M.; DICKE, M. Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. **Annual review of entomology**, v. 37, n. 1, p. 141-172, 1992.
- WANG, Y. et al. Function and mechanism of jasmonic acid in plant responses to abiotic and biotic stresses. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 16, p. 8568, 2021.
- WAR, A. R. et al. Mechanisms of plant defense against insect herbivores. **Plant signaling & behavior**, v. 7, n. 10, p. 1306-1320, 2012.
- WAR, A. R. et al. Induced resistance to *Helicoverpa armigera* through exogenous application of jasmonic acid and salicylic acid in groundnut, *Arachis hypogaea*. **Pest Management Science**, v. 71, n. 1, p. 72-82, 2015.
- WEBER, N. C. et al. Tomato plant defense induced by methyl jasmonate impacts on foraging behavior and parasitism of *Trichogramma pretiosum*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 171, n. 3, p. 162-171, 2023.
- WILCKEN, C. F. **Biologia de Thyrinteina arnobia (Stoll, 1782)(Lepidoptera: Geometridae) em espécies de Eucalyptus e em dieta artificial**. 1996. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- WU, J.; BALDWIN, I. T. New insights into plant responses to the attack from insect herbivores. **Annual review of genetics**, v. 44, n. 1, p. 1-24, 2010.
- WYCKHUYS, K. A. G. et al. Restoring functional integrity of the global production ecosystem through biological control. **Journal of Environmental Management**, v. 370, p. 122446, 2024.
- XU, S. et al. Herbivore associated elicitor-induced defences are highly specific among closely related *Nicotiana* species. **BMC plant biology**, v. 15, p. 1-13, 2015.
- ZANUNCIO, J. C. et al. Eficiência de *Bacillus thuringiensis* e de deltametrina, em aplicação aérea, para o controle de *Thyrinteina arnobia* Stoll, 1782 (Lepidoptera: Geometridae) em eucaliptal no Pará. **Acta Amazonica**, v. 22, n. 4, p. 485-492, 1992.
- ZANUNCIO, J. C. et al. Eficiência da deltametrina e da permetrina, em aplicação terrestre, contra os lepidópteros *Thyrinteina arnobia* (Geometridae) e *Nystalea nyseus* (Notodontidae) no trópico úmido. **Acta Amazonica**, v. 24, n. 3-4, p. 321-326, 1994.
- ZANUNCIO, J. C. et al. Major lepidopterous defoliators of eucalypt in southeast Brazil. **Forest Ecology and Management**, v. 65, n. 1, p. 53-63, 1994.
- ZANUNCIO, J. C. et al. *Thyrinteina arnobia*. LEMES, Pedro Guilherme; ZANUNCIO, José Cola (Org.). **Novo Manual de Pragas Florestais Brasileiras**. Montes Claros: Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, 2021., 2021.
- ZANUNCIO, T. V. et al. Main lepidopteran pest species from an eucalyptus plantation in Minas Gerais, Brazil. **Revista de biologia tropical**, v. 54, n. 2, p. 553-560, 2006
- ZHANG, P. J. et al. Jasmonate and ethylene signaling mediate whitefly-induced interference with indirect plant defense in *Arabidopsis thaliana*. **New Phytologist**, v. 197, n. 4, p. 1291-1299, 2013.
- ZHAO, L. Y. et al. Biochemical and molecular characterizations of *Sitobion avenae*-induced wheat defense responses. **Crop Protection**, v. 28, n. 5, p. 435-442, 2009.
- ZHU, Q. et al. Synthesis, insecticidal activity, resistance, photodegradation and toxicity of pyrethroids (A review). **Chemosphere**, v. 254, p. 126779, 2020.

SEGUNDA PARTE – ARTIGO**Voláteis de plantas de eucalipto induzidos pela herbivoria afetam o comportamento do parasitoide pupal *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae)**

Bianca P. Magalhães¹, Tiago Morales-Silva^{1,2}, Ezequiel G. de Souza¹, Luciano de Souza¹, Rosângela C. Marucci¹, Ronald Zanetti¹, Maria Fernanda G. V. Penãflor¹.

¹Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Lavras – UFLA, 37200-900, Lavras – MG, Brasil.

²Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural – INCAPER, 29052-010, Vitória – ES, Brasil.

RESUMO

O sucesso do parasitismo depende da capacidade do parasitoide em localizar seus hospedeiros, processo que geralmente se baseia em pistas químicas a longa e curta distâncias. Neste cenário, os parasitoides de pupa encontram desafios, visto que o estágio de pupa é inconspícuo. Assim, é esperado que os voláteis de planta induzidos pela herbivoria do estágio larval sejam utilizados na localização de hospedeiros. Diante disso, este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de compreender qual o papel dos voláteis induzidos pela herbivoria na localização hospedeira do parasitoide pupal *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle 1993 (Hymenoptera: Eulophidae). Especificamente, analisamos se a herbivoria natural por lagartas de *Thyrinteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae) de diferentes ínstares e a indução artificial (induzida pela aplicação exógena de duas concentrações de jasmonato de metila) induz a emissão de voláteis da planta de eucalipto atrativos para o parasitoide. A preferência olfativa do parasitoide aos voláteis de plantas tratadas com MeJA e plantas infestadas com lagartas de segundo ou quinto ínstar, foi avaliada em bioensaios de olfatometria. Quando expostas às plantas tratadas com MeJA, as vespas apresentaram preferência aos odores desse tratamento apenas na concentração de 4,5 mM, ao passo que foram repelidas por aqueles liberados por plantas tratadas a 3,0 mM. Embora as vespas apresentaram resposta comportamental distinta aos tratamentos, as análises cromatográficas não revelaram diferenças quantitativas ou qualitativas na emissão de voláteis das plantas tratadas ou não com o MeJA. Quando expostas às plantas infestadas por lagartas, as vespas não distinguiram entre os voláteis de plantas não infestadas e plantas com lagartas jovens, porém apresentaram preferência para os odores das plantas infestadas por lagartas velhas. A caracterização química da emissão de voláteis mostrou que plantas infestadas por lagartas velhas tiveram uma emissão com maior quantidade de vários compostos, entre terpenos e benzenoides, do que plantas infestadas por lagartas jovens e plantas controle. Assim, com este trabalho foi possível observar que a indução pelo MeJA possui efeitos sobre os parasitoides, porém de forma dose-dependente, isto é, dependendo da concentração aplicada. Além disso, pela atração que os parasitoides apresentaram frente aos voláteis emitidos por plantas infestadas por lagartas mais velhas, podemos concluir que os HIPVs são usados durante o forrageamento para localização do hospedeiro, mesmo não sendo pistas derivadas do estágio-alvo do parasitismo.

Palavras-chave: *Thyrinteina arnobia*; defesas induzidas; parasitoide pupal.

1 INTRODUÇÃO

Uma das formas que as plantas utilizam para se comunicar é a partir de compostos orgânicos voláteis (COVs) (FINCHEIRA et al, 2021; ABBAS et al, 2022). A emissão de COVs geralmente é complexa e contém dezenas de compostos. Sua composição varia de acordo com a espécie de planta e o estresse sofrido por ela (FAIOLA et al, 2015; ROWEN & KAPLAN, 2016; NGUMBI & UGARTE, 2021). Ao reconhecer o ataque de um inseto herbívoro, a planta emite uma mistura, quantitativa e qualitativamente distinta daquela emitida em um cenário sem estresse, que pode passar a ter efeitos repelentes aos herbívoros (LAMY et al, 2017; CONBOY et al, 2020), ou ainda ser atrativa ao terceiro nível trófico (D’ALESSANDRO et al, 2009; ALSABTE et al, 2022). Essa mistura de voláteis é conhecida como voláteis de planta induzidos pela herbivoria (ou *herbivore-induced plant volatiles*, *HIPVs*), e constituem uma estratégia de defesa induzida contra o ataque de herbívoros (PARÉ & TUMLINSON, 1999; PÉREZ-HEDO et al, 2021).

A produção de defesas induzidas acontece através de regulação hormonal, mediada por três fitormônios principais: ácido salicílico (AS), ácido jasmônico (AJ) e etileno (ET) (ERB et al, 2012; ZHANG et al, 2013; VERMA et al, 2016). O AJ tem papel essencial na modulação da síntese das defesas químicas e a ativação de sua rota de sinalização está diretamente ligada à herbivoria por insetos mastigadores (VAN POECKE & DICKE, 2004; ZHAO et al, 2009). O jasmonato de metila (MeJA), seu derivado volátil, atua na sinalização e comunicação do ataque, seja para outras partes da própria planta, plantas vizinhas ou até mesmo para os insetos (TONĀ et al, 2022; WEBER et al, 2023).

Os HIPVs produzidos após o reconhecimento do ataque podem ter efeitos no terceiro nível trófico, sendo muitas vezes utilizados por predadores e parasitoides, durante seu forrageamento, como pistas confiáveis da presença de presas e hospedeiros adequados (ORRE et al, 2010; MCCORMICK et al, 2012; AYELO et al, 2021). Embora as misturas de voláteis sejam muito variáveis, os parasitoides podem reconhecer os HIPVs emitidos pelas plantas atacadas por suas espécies hospedeiras (GUO & WANG, 2019).

Ao se tratar de parasitoides pupais, o processo de localização hospedeira se torna mais complexo, visto que as pupas apresentam pistas químicas com atuação a curtas distâncias (LI et al, 2020) e, como não se alimentam e nem defecam, não estimulam a produção de sinais químicos pelas plantas, que poderiam ser relacionados à presença deste estágio de

desenvolvimento do hospedeiro. Assim, embora não sinalizem o estágio-alvo do parasitismo, estudos demonstram que o reconhecimento de voláteis à longas distâncias pelos parasitoides pupais muitas vezes é feito por HIPVs derivados de estágios de desenvolvimento anteriores ao estágio-alvo, como o estágio larval, visto que esses sinais podem indicar indiretamente a presença de seu hospedeiro (GOHOLE et al, 2003; CUSUMANO et al, 2019; DE LA VEGA et al, 2021). Essa estratégia deve ser vantajosa para parasitoides de pupas, principalmente quando a herbivoria é por lagartas mais velhas, visto que o estágio-alvo está próximo de acontecer.

A capacidade de reconhecimento de voláteis derivados do próprio hospedeiro ou do habitat de seu hospedeiro é uma habilidade que pode ser inata ou aprendida, geralmente variável entre parasitoides generalistas e especialistas (PEÑAFLORES et al, 2011; NGUMBI et al, 2012; DE RIJK et al, 2018). Tal habilidade é desejável ao controle biológico de pragas, estratégia de controle que utiliza de inimigos naturais para suprimir populações de insetos de importância agrícola (DEBACH & ROSEN, 1991; Kumaraswamy et al., 2024). Embora sua expansão tenha acontecido apenas nos últimos 30 anos, o controle biológico no Brasil não é recente (PARRA, 2014). Porém, o conhecimento e ferramentas disponíveis para algumas culturas, como as espécies florestais, ainda são restritas e carecem de investimento e pesquisa.

O eucalipto é uma espécie florestal de grande importância para o Brasil, de modo que, atualmente, existem mais de 7 milhões de hectares de plantações de eucalipto no país (IBGE, 2020). Sua aplicação é variada, podendo ser utilizado como matéria prima para a produção de celulose, papel, madeira processada, móveis e carvão vegetal (JÚNIOR & COLODETTE, 2013). Uma das principais ameaças a este setor são os insetos-praga, responsáveis por gerar severos prejuízos aos produtores (DA SILVA et al, 2020; GHIOTTO et al., 2023). O principal método de controle de pragas é o químico, baseado na utilização de inseticidas piretróides e neonicotinóides. E, apesar de apresentar rápida solução, essa técnica está atrelada a diversos prejuízos ambientais e ecológicos, além de possivelmente ser muito dispendiosa (MESNAGE & SÉRALINI, 2018; NARAYANAN et al, 2022).

Uma praga de grande importância da cultura do eucalipto é a *Thyrintina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Geometridae), lagarta desfolhadora popularmente conhecida como lagarta-parda ou lagarta-marrom-do-eucalipto. Essa espécie se alimenta das folhas das árvores, causando desfolha e perda da produtividade (ODA & BERTI FILHO, 1978; ANJOS et al., 1987; BARBOSA et al, 2023). Tradicionalmente, o controle químico é o método mais utilizado para reduzir as populações de *T. arnobia*, mas esta estratégia tem sido amplamente substituída pela tecnologia Bt (produtos microbiológicos à base da bactéria *Bacillus thuringiensis*)

(ZANUNCIO et al, 1994; JORDAN et al, 2024). Porém, o uso excessivo de ambos os métodos pode trazer riscos, seja de contaminação ambiental ou de resultar na seleção de populações resistentes aos inseticidas (LIU et al, 1999; ZHU et al, 2020; GASSMANN, 2021). Dessa forma, alternar os métodos de controle com outras estratégias de baixo risco, como o controle biológico, se torna essencial para garantir o manejo sustentável. Atualmente existem 3 espécies de parasitoide registrados no MAPA para o controle de *T. arnobia*, mas apenas uma para o controle desta praga na cultura do eucalipto (BRASIL, 2025a).

A espécie *Palmistichus elaeisis* é a única registrada para o controle de *T. arnobia* em eucalipto. Trata-se de um parasitoide de pupas generalista e gregário, que utiliza de várias espécies de lepidópteros como hospedeiro (BITTENCOURT & BERTI FILHO, 1999; PEREIRA et al., 2010; PASTORI et al., 2012). A liberação desse parasitoide pode ocorrer tanto via aérea, quanto terrestre, com até 3 liberações por mês, dependendo do nível de infestação da praga (BRASIL, 2025b). Estudos demonstram a grande eficiência de parasitismo de *P. elaeisis* em pupas de *T. arnobia* em laboratório, que pode chegar a 82% dependendo da densidade (PEREIRA et al, 2008; BARBOSA et al, 2016), mas pouco se sabe sobre os mecanismos envolvidos em sua busca por hospedeiros, que podem ficar suspensos nas folhas de eucalipto, ou na vegetação do sub-bosque, ou ainda no solo (ZANUNCIO et al, 2021).

Compreender como este parasitoide interage com as pistas químicas voláteis derivadas do ambiente de seu hospedeiro e como seu comportamento é alterado por elas é de grande relevância para o aprimoramento das técnicas de controle biológico. Assim, este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o papel dos voláteis de defesa de plantas de eucalipto induzidos pela herbivoria na localização hospedeira do parasitoide *P. elaeisis*. Este estudo avaliou três questões centrais: (i) a simulação da herbivoria por meio da aplicação de MeJA em plantas de eucalipto influencia na emissão de voláteis atrativos para *P. elaeisis*?; (ii) qual é a preferência olfativa dos parasitoides quando são expostos aos voláteis induzidos pela herbivoria de lagartas de *T. arnobia* de idades diferentes?; (iii) como a herbivoria simulada pela aplicação de MeJA e a infestação por lagartas de *T. arnobia* de diferentes idades influenciam a composição de voláteis do eucalipto? Nós hipotetizamos que a aplicação exógena de MeJA na concentração mais alta induziria uma emissão de voláteis mais atrativa ao parasitoide, por representar um grau de herbivoria maior. Hipotetizamos também que a infestação de lagartas mais velhas levaria a produção de uma emissão de composição distinta daquela das plantas infestadas por lagartas mais jovens, e mais atrativa aos parasitoides pupais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

1.1 Local de Estudo

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Ecologia Química das Interações Inseto-Planta (LEQIIP), presente no departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras, campus localizado em Lavras, Minas Gerais, Brasil. Os testes foram feitos no período de fevereiro a novembro de 2024, sob condições de temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ e umidade relativa de $60\% \pm 10$.

1.2 Plantas

Foram utilizadas mudas de *Eucalyptus urograndis*, espécie híbrida proveniente da união entre *Eucalyptus urophylla* e *Eucalyptus grandis*, clone I144, que foram adquiridas da empresa Pró-Mudas, localizada em Lavras-MG. As mudas foram replantadas em vasos de 700 ml de capacidade e posteriormente mantidas em casa de vegetação, sob temperatura de $27^{\circ}\text{C} \pm 2$ (Figura S1). As plantas foram fertilizadas com MAP (10 g) e Cloreto de Potássio (1,5 g) diluídos em 1 litro de água, de forma que cada muda recebeu 50 mL dessa solução a cada 10 dias. Ao atingirem quatro meses de idade, foram utilizadas nos experimentos.

1.3 Insetos

A criação da lagarta-parda *T. arnobia* foi estabelecida no Laboratório de Ecologia Química das Interações Inseto-Planta a partir de indivíduos cedidos pela empresa Sorel, de Pompéu-MG. Os ovos foram mantidos em recipientes plásticos de 700 ml vedados com voile durante todo o período de incubação. Após a eclosão, as lagartas foram transferidas para gaiolas de acrílico de 30 x 30 x 60 cm e alimentadas com ramos de eucalipto. A troca dos ramos ocorreu a cada 2 dias. As pupas, ao se formarem, foram retiradas das gaiolas e individualizadas em recipientes plásticos de 700 ml. Após o período pupal, os adultos foram transferidos para gaiolas de PVC de 40 cm revestida de folha sulfite, mantendo a proporção de 4 machos:1 fêmea. Os adultos foram alimentados com solução de mel a 10% (Figura S2). A criação foi mantida sob condições controladas de temperatura de $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Os indivíduos de *P. elaeisis* utilizados nos experimentos foram criados no Laboratório de Controle Biológico de Pragas (LCBIOL, Departamento de Entomologia, UFLA). Os adultos foram mantidos em gaiolas de acrílico de 30 x 30 x 60 cm, e alimentados com mel puro. Eles

foram expostos a pupas de *Tenebrio molitor* Linnaeus, 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae) durante 48 horas para realizar o parasitismo. Após esse período, as pupas parasitadas foram acondicionadas em potes plásticos de 12 x 7,5 cm até a emergência de novos adultos (Figura S3). A criação foi mantida sob condições controladas de temperatura (25 ± 2 °C), umidade relativa (70 ± 10 %) e fotofase de 14 horas.

1.4 Tratamentos

Para o tratamento das plantas com o MeJA, foi realizada a aplicação exógena de duas concentrações nas plantas de eucalipto, sendo elas 3,0 mM e 4,5 mM. As soluções foram preparadas com MeJA (340 e 510 µl, para 3,0 mM e 4,5 mM, respectivamente), 500 µl de acetona e 500 µl de Tween 80. Ambas as soluções foram aplicadas nas plantas através de borrifadores (de 30 mL) até o ponto de escorrimento. Nas plantas controle, foi aplicada apenas uma solução de água destilada, acetona e Tween 80. A aplicação aconteceu 48 horas antes das plantas serem utilizadas nos bioensaios. Para os tratamentos com a infestação das lagartas, as plantas receberam lagartas “jovens” (de segundo ínstar) ou “velhas” (de quinto ínstar) (Figura S4). As plantas com lagartas jovens foram infestadas com 40 indivíduos, e as plantas tratadas com lagartas velhas foram infestadas com 4 indivíduos. Essa diferença no número foi determinada em ensaios prévios, para que a injúria causada na planta fosse minimamente equivalente entre os tratamentos. As plantas controles do tratamento com infestação consistiram em plantas de eucalipto livres de insetos. Tanto as plantas infestadas quanto as não infestadas foram ensacadas com sacos de voile e acondicionadas em laboratório. Assim como no tratamento com o MeJA, a infestação das plantas foi feita 48 horas antes delas serem utilizadas nos bioensaios.

1.5 Preferência olfativa do parasitoide

Foi avaliada a preferência olfativa do parasitoide por voláteis da planta de eucalipto, em ensaios de olfatômetro em “Y” de vidro (braços centrais e laterais com 15 cm e diâmetro de 4 cm, Figura S5). Em nosso sistema de olfatométrica, um compressor de ar (bomba de aquário) gerou um fluxo de ar de 2 L/min, que passou por um filtro de carvão ativado e um umidificador antes de ser injetado no espaço aéreo das plantas. As plantas foram cobertas por sacos de polietileno de 41 x 33 cm com duas aberturas distais, por onde o ar adentrava e saía, por mangueiras de silicone, em direção ao tubo “Y”. Os ensaios foram realizados no período das 07:00 às 14:00, em uma sala escura, com apenas uma luz vermelha posicionada acima da

estrutura. A preferência dos parasitoides foi testada para duas concentrações de MeJA, sendo contrastadas: (i) plantas tratadas com MeJA 3,0 mM vs plantas controle e (ii) plantas tratadas com MeJA 4,5 mM vs plantas controle. Para as plantas infestadas com lagartas, foram contrastadas: (i) plantas não infestadas vs plantas infestadas com lagartas jovens e (ii) plantas não infestadas vs plantas infestadas com lagartas velhas. Para cada tratamento, foram testadas 5 pares de planta no total, alternando o lado das plantas a cada repetição. Foi liberada uma fêmea copulada por vez, e elas tiveram o período de 5 minutos para realizar a escolha. As que excederam esse tempo foram excluídas das análises. No total, foi registrada a resposta de, no mínimo, 40 fêmeas em cada tratamento. Os testes foram conduzidos sob condições controladas de temperatura de 25 ± 2 °C e umidade relativa de 70 ± 10 %

1.6 Coleta de voláteis

A coleta dos voláteis liberados pelas plantas tratadas com MeJA e infestadas por lagartas, assim como pelos respectivos controles, foi realizada em um sistema de *headspace* dinâmico (Figura S6). As plantas (apenas parte aérea) foram individualmente acondicionadas em sacos de polietileno de (41 x 33 cm), que possuíam dois orifícios: em um deles, foi conectada uma mangueira para a entrada de ar, e no outro, um filtro de vidro contendo polímero adsorvente. Uma bomba compressora forneceu ar limpo e filtrado ($500 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$) por carvão ativado aos sacos contendo as plantas. O filtro de polímero adsorvente de COVs era formado por um tubo de vidro contendo 30 g de um polímero adsorvente HayeSep-Q® (80/100 mesh; Supelco, Bellefonte, PA, USA). Ao coletor, estava conectada uma bomba de sucção a vácuo, que puxou o ar a $125 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. Sobre as plantas, estava posicionada painel de LED UV para simular a radiação solar. Os voláteis foram coletados por 8 horas (08:00 até 16:00), totalizando 5 repetições por tratamento de MeJA e 3 repetições por tratamento com herbivoria. Concluído o tempo de coleta, o polímero foi retirado do sistema e eluído com 150 μL de hexano em vials de 5 mL. As soluções foram armazenadas a -18°C até serem analisadas. Contaminantes do sistema de coleta foram analisados pela filtragem de ar de sacos de polietileno vazios e posterior eluição das amostras e análise química.

As amostras dos tratamentos de infestação das plantas por lagartas foram analisadas no Laboratório Central de Análises e Prospecção Química (CAPQ), presente no Departamento de Química da UFLA. Uma alíquota de 2 μL de cada amostra foi injetada (pelo modo splitless) em um cromatógrafo a gás com detector de ionização em chama (GC-FID; Shimadzu GC-2010, Shimadzu Corp., Kyoto, Japan) equipado com uma coluna Rtx-1 (30 m \times 25 mm \times 25 μm ; RESTEK, Bellefonte, PA, USA) que usa Hélio como o gás carreador em velocidade linear de

31.9 cm/seg. A temperatura da coluna foi mantida a 40°C por 5 minutos, aumentou gradativamente para 150 °C (5°C/min) e por fim aumentou para 250°C (20°C/min), mantida por 10 minutos. Além disso, alíquotas de 2 µl de uma amostra representativa por tratamento também foram injetadas no cromatógrafo a gás acoplado ao espectômetro de massas (GC-MS; GCQP-2010 Ultra, Shimadzu Corp., Kyoto, Japan), equipado com uma coluna Rtx-1MS (30 m × 25 µm × 25 mm; Restek, Bellefonte, PA, USA), e as análises seguiram a mesma metodologia do GC-FID. A fonte de íons quadrupla e a linha de transferência foram mantidas a 250°C para a análise de impacto de elétrons 70 eV (35–300 m/z).

Já as amostras das plantas tratadas com o MeJA foram analisadas no Laboratório de Ecologia Química e Comportamento de Insetos, presente na Escola Superior de Agricultura “Luis de Queiroz” (ESALQ/USP). A análise ocorreu no mesmo equipamento, mas com o gás Hélio a uma velocidade linear de 30.3 cm/seg. Foi adicionado acetato de nonila (2 µl de uma solução de 10 ng/ µl) como padrão interno. A temperatura da coluna foi mantida a 40°C por 5 minutos, aumentou gradativamente para 150 °C (5°C/min) e por fim aumentou para 250°C (20°C/min), mantida por 20 minutos. As amostras foram analisadas cromatógrafo a gás acoplado ao espectômetro de massas seguindo a mesma metodologia anterior.

Para as amostras de plantas com herbivoria de lagartas, a emissão total foi estimada a partir da proporção relativa das áreas de cada composto em relação ao composto com pico de maior área. Já para as plantas tratadas com MeJA, a quantidade de emissão de cada composto foi estimada a partir do pico de acetato de nonila, usado como padrão interno nas amostras, no cromatograma gerado pelo GC-FID. Em todos os tratamentos, a quantificação dos compostos voláteis foi corrigida. Os espectros de massas e os índices de Kovats (usando alcanos C7-C30) dos compostos foram comparados com os da biblioteca NIST11 e com os padrões sintéticos disponíveis para identificar os compostos.

1.7 Análise de Dados

Para compreender a preferência olfativa de *P. elaeisis* entre os diferentes tratamentos dos testes em olfatômetro, os dados de escolha das fêmeas foram analisados por modelos lineares generalizados (GLM) com distribuição binomial. Já para analisar os dados obtidos na quantificação dos compostos voláteis, primeiramente foi aplicado um fator de correção nas quantidades totais, de forma que os dados foram divididos pelo peso da massa foliar seca das plantas de cada repetição. Em seguida, foi realizada uma análise de variância (ANOVA) para

cada composto isolado e para os grupos químicos que eles pertencem, seguida de Teste de Tukey. Posteriormente, os dados passaram por transformação logarítmica e sobre eles foi conduzida uma Análise de Componentes Principais (PCA) utilizando as funções `prcomp` e `ggplot2` do pacote `ggplot2`. Além disso, foi realizada uma Análise de Variância Permutacional Multivariada (PERMANOVA) para avaliar se os tratamentos diferiam significativamente quanto ao perfil dos compostos voláteis. A PERMANOVA foi feita a partir da função `adonis2` do pacote `vegan`. A variabilidade dos grupos foi testada com o teste de homogeneidade de dispersão (PERMDISP). Todas as análises foram realizadas com a versão 4.2.3 do software R.

3 RESULTADOS

3.1 Resposta olfativa à indução pela aplicação do MeJA

As fêmeas de *P. elaeisis* responderam de forma diferente de acordo com a concentração de MeJA aplicada na planta. Ao serem expostas aos voláteis de plantas controle e plantas tratadas com MeJA 3,0 mM, aproximadamente 62% das fêmeas escolheram as plantas controle enquanto apenas 38% escolheram as plantas com MeJA, demonstrando atração pelas plantas controle ($X^2 = 6.73$, $p = 0.009$, Fig. 1). Porém, quando foram expostas aos voláteis das plantas tratadas com o MeJA 4,5 mM a resposta foi contrária, aproximadamente 63% das fêmeas escolheram as plantas com MeJA, indicando atração pelas plantas tratadas ($X^2 = 5.06$, $p = 0.024$, Fig. 1).

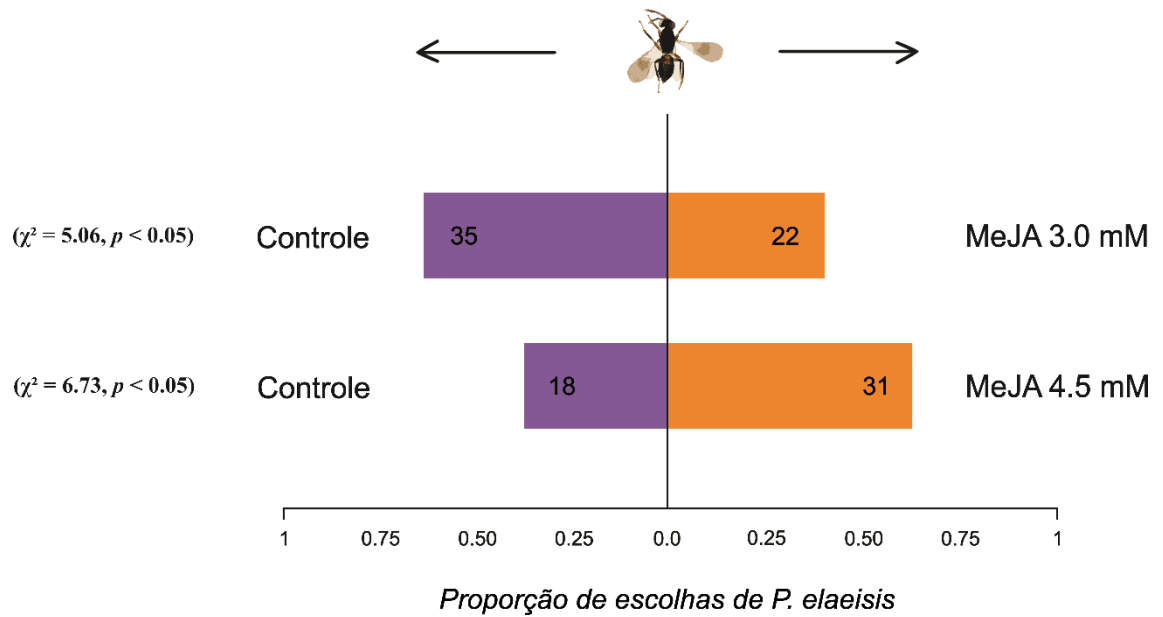


Figura 1 - Preferência olfativa das fêmeas do parasitoide *Palmistichus elaeisis* expostas a voláteis de plantas não tratadas e plantas tratadas com MeJA a 3,0 mM e 4,5 mM em testes de olfatometria em tubo Y. Os números dentro das barras correspondem a quantidade de fêmeas que responderam a cada tratamento.

3.2 Resposta olfativa à indução pelas lagartas

Quando expostas aos voláteis de plantas infestadas com lagartas de segundo instar e de plantas não infestadas, as fêmeas de *P. elaeisis* não apresentaram preferência por nenhum dos tratamentos, de tal modo que 23 escolheram as plantas infestadas e 18 escolheram as plantas controle ($X^2 = 1.21, p = 0.27$, Fig. 2). Contudo, ao comparar os voláteis emitidos pelas plantas infestadas com lagartas de quinto instar com plantas não infestadas, aproximadamente 73% das fêmeas se orientaram em direção às plantas infestadas, demonstrando preferência pelos odores liberados por essas plantas ($X^2 = 17.38, p < 0.001$, Fig. 2).

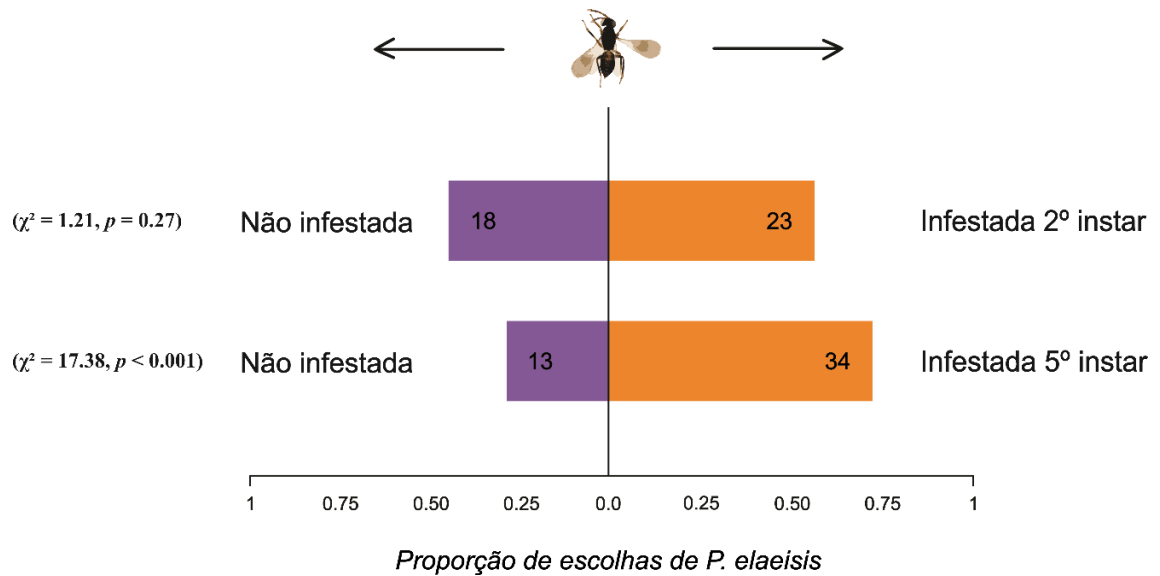


Figura 2 - Preferência olfativa das fêmeas de *Palmistichus elaeisis* expostas a voláteis de plantas não infestadas vs plantas infestadas com lagartas jovens (segundo instar) e velhas (quinto instar), em testes de olfatometria de tubo Y. Os números dentro das barras correspondem ao número de fêmeas que responderam a cada tratamento

3.3 Emissão de Voláteis

3.3.1 Plantas tratadas com MeJA

Foram identificados no total 21 compostos, pertencentes aos grupos dos terpenoides, benzenoides, derivados de ácidos graxos e compostos C ramificados. A análise multivariada mostrou que a emissão dos compostos entre plantas controle e plantas tratadas com o MeJA, de ambas as concentrações, não diferiu significativamente (PERMANOVA, $F = 0.3461$, $df = 2$, $p = 0.7475$, $R^2 = 0.054$). Assim, plantas controle e plantas tratadas com MeJA nas duas concentrações tiveram emissões qualitativa e quantitativamente semelhantes (Tabela 1). Além disso, ao comparar os compostos emitidos dentro dos grupos químicos aos quais pertencem, foi possível observar que a emissão de voláteis foi similar para os terpenos (Teste Tukey, $F = 0.029$, $p = 0.972$), benzenoides ($F = 0.583$, $p = 0.573$), derivados de ácidos graxos ($F = 0.92$, $p = 0.425$) e compostos c ramificados ($F = 0.674$, $p = 0.528$, Tabela 1).

Tabela 1 - Emissão de voláteis (média + SE ng) de plantas de eucalipto tratadas com MeJA a 3,0 mM e MeJA 4,5 mM

Compostos	Tratamentos			f	p
	Controle	MeJA 3,0mM	MeJA 4,5mM		
Terpenos					
camphene	17.1 ± 6.08a	9.69 ± 2.30a	22.2 ± 10.9a	0.7303	0.502
unknown terpene	0.06 ± 0.02a	0.03 ± 0.01a	0.08 ± 0.03a	0.7688	0.4851
β-Myrcene	0.10 ± 0.03a	0.07 ± 0.02a	0.11 ± 0.06a	0.301	0.7455
α-Phellandrene	0.05 ± 0.00a	0.07 ± 0.01a	0.11 ± 0.04a	0.9869	0.401
eucalyptol	1.64 ± 0.57a	1.69 ± 0.45a	2.33 ± 0.89a	0.3335	0.7228
D-Limonene	1.83 ± 0.61a	1.26 ± 0.30a	2.49 ± 1.20a	0.5952	0.5669
α-Pinene	2.31 ± 0.89a	1.52 ± 0.43a	3.38 ± 1.83a	0.6041	0.5624
trans-Ocimene	0.10 ± 0.03a	0.09 ± 0.01a	0.15 ± 0.07a	0.3976	0.6804
γ-Terpinene	0.07 ± 0.02a	0.05 ± 0.01a	0.11 ± 0.05a	0.7141	0.5093
(+)-4-Carene	0.14 ± 0.04a	0.10 ± 0.02a	0.29 ± 0.13a	1.4429	0.2745
ocimene	0.61 ± 0.23a	0.40 ± 0.12a	0.86 ± 0.45a	0.59	0.5696
α-Terpineol	0.10 ± 0.02a	0.11 ± 0.03a	0.10 ± 0.04a	0.0133	0.9868
acetato de linalila	0.29 ± 0.10a	0.26 ± 0.07a	0.51 ± 0.19a	1.0262	0.3878
Total	24.5±8.52	15.4±3.56	32.7±15.8	0.029	0.972
Benzenoides					
o-Cymene	0.04 ± 0.00a	0.03 ± 0.00a	0.05 ± 0.02a	0.2474	0.7847
naphthalene	0.66 ± 0.18a	0.75 ± 0.26a	0.75 ± 0.20a	0.0579	0.944
methyl salicylate	0.25 ± 0.02a	0.19 ± 0.04a	0.23 ± 0.02a	0.8239	0.4621
Total	0.963±0.16	0.987±0.28	1.04±0.22	0.583	0.573
Derivados de AG					
isobutyl butyrate	0.02 ± 0.00a	0.01 ± 0.00a	0.02 ± 0.00a	0.335	0.7218
leaf acetate	0.03 ± 0.01a	0.01 ± 0.00a	0.02 ± 0.02a	0.8517	0.4509
isopentyl isobutyrate	0.02 ± 0.00a	0.01 ± 0.00a	0.02 ± 0.01a	0.3309	0.7246
Total	0.08±0.02	0.04±0.01	0.06±0.02	0.92	0.425
Compostos C					
ramificados					
2,4-Dimethylheptane	0.15 ± 0.00a	0.13 ± 0.01a	0.15 ± 0.00a	1.1444	0.3508
dodecane, 4,6-dimethyl-	0.13 ± 0.00a	0.12 ± 0.02a	0.13 ± 0.00a	0.1981	0.8229
Total	0.289±0.01	0.254±0.03	0.282±0.01	0.674	0.528
TOTAL	25.8 ± 8.42a	16.7 ± 3.62a	34.1 ± 15.8a	0.6858	0.5224

Letras diferentes na mesma linha representam diferenças significativas

3.3.2 Plantas infestadas por lagartas

Foram identificados 14 compostos emitidos pelas plantas infestadas por lagartas de *T. arnobia*, pertencentes aos grupos químicos: terpenos, benzenoides e derivados de ácidos graxos. A análise multivariada mostrou que a emissão dos compostos entre plantas infestadas e plantas não infestadas diferiu entre os tratamentos (PERMANOVA, $F = 6.725$, $df = 2$, $p = 0.01$, $R^2 = 0.691$), mas não houve variância dentro dos grupos (PERMDISP, $F = 1.805$, $p = 0.2433$). O PCA revelou que a quantidade de voláteis emitidos pelas plantas infestadas com lagartas velhas diferiu daquela emitida por plantas controle e plantas infestadas com lagartas jovens. Tal distinção pode ser observada através do eixo X, em que o PC1 englobou 80.3% da variância (Figura 3).

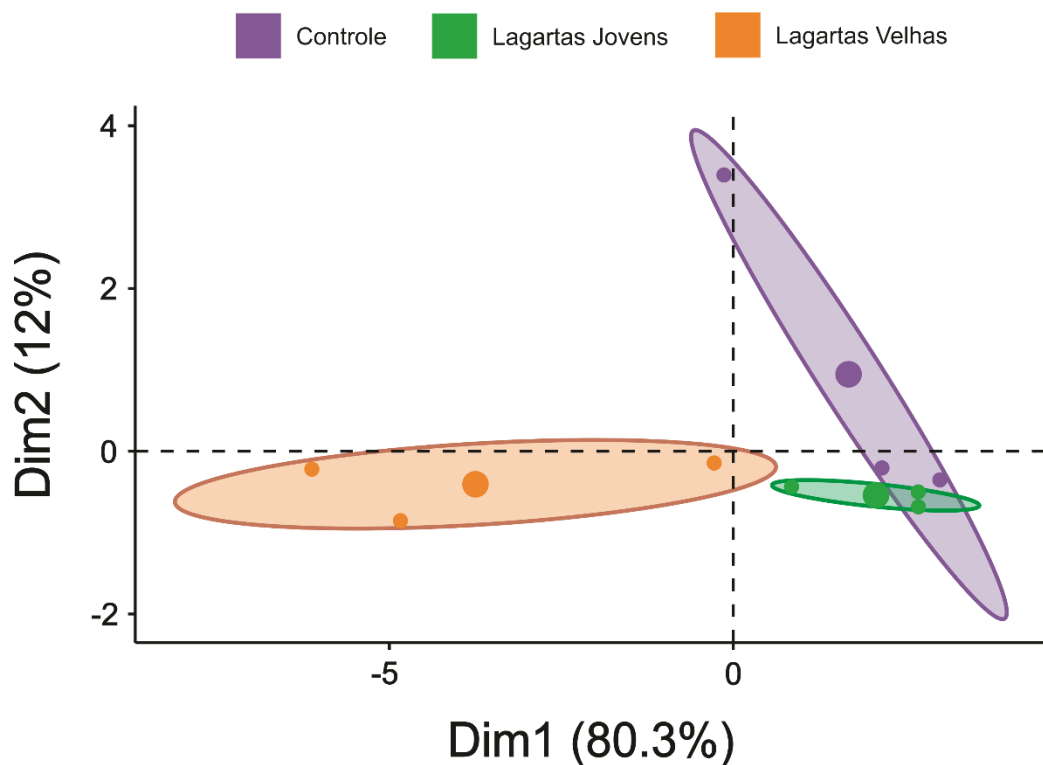


Figura 3 - Análise de Componentes Principais (PCA) da composição de voláteis emitidos por plantas de eucalipto não infestadas e infestadas por lagartas de segundo (jovens) e quinto (velhas) instares.

Além disso, também foi possível observar que a emissão total de voláteis não diferiu entre plantas controle e plantas infestadas por lagartas jovens. Ao comparar a emissão total por grupos químicos dos compostos, foi observado que para os grupos terpenos e derivados de ácidos graxos a emissão de voláteis foi maior para o tratamento com lagartas velhas (terpenos: $F = 6.997$, $p = 0.027$; derivados a.g.: $F = 8.829$, $p = 0.016$, Tabela 2). Para os benzenoides, a

emissão dentro do grupo foi similar ($F = 3.509$, $p = 0.0979$). Os compostos α -Thujene (Teste Tukey $p = 0.015$), α -Phellandrene ($p = 0.001$), ocimene ($p = 0.01$), terpinolene ($p = 0.02$), β -caryophyllene ($p = 0.02$) e cymene ($p = 0.02$) foram encontrados em maiores quantidades nas plantas tratadas com lagartas velhas (Tabela 2). Além disso, o composto benzene teve maior emissão nas plantas infestadas com lagartas velhas do que nas plantas controle, mas apresentou emissão similar às plantas tratadas com lagartas jovens (Teste Tukey $p = 0.03$, Tabela 2).

Tabela 2 - Emissão de voláteis de plantas de eucalipto infestadas por lagartas de *Thyrinteina arnobia* de segundo e quinto ínstar, e de plantas não infestadas.

Compostos	Tratamentos			F	P
	Controle	Jovens	Velhas		
Terpenos					
α -Thujene	0.009 \pm 0.00b	0.008 \pm 0.004b	0.04 \pm 0.01a	8.9195	0.015
(+) sabinene	0.05 \pm 0.04a	0.01 \pm 0.00a	0.01 \pm 0.03a	0.8176	0.4853
β -Pinene	0.05 \pm 0.03a	0.01 \pm 0.00a	0.07 \pm 0.01a	1.6301	0.272
α -Phellandrene	0.10 \pm 0.06b	0.09 \pm 0.04b	0.76 \pm 0.11a	23.851	0.0013
ocimene	0.04 \pm 0.02b	0.05 \pm 0.01b	0.32 \pm 0.08a	9.6554	0.0133
terpinene	0.03 \pm 0.01a	0.02 \pm 0.00a	0.08 \pm 0.02a	4.7732	0.0574
terpinolene	0.07 \pm 0.03b	0.07 \pm 0.02b	0.47 \pm 0.14a	7.3834	0.0241
Unknown terpene2	0.02 \pm 0.00a	0.02 \pm 0.01a	0.09 \pm 0.03a	4.0264	0.0778
alpha-terpinylacetate	0.28 \pm 0.02a	0.22 \pm 0.01a	0.35 \pm 0.07a	2.1109	0.2022
β -caryophyllene	0.10 \pm 0.03b	0.12 \pm 0.03b	0.39 \pm 0.08a	7.9342	0.0206
bicyclogermacrene	0.21 \pm 0.07a	0.12 \pm 0.03a	0.33 \pm 0.07a	2.7112	0.1449
Total	1.00 \pm 0.32b	0.78 \pm 0.18b	2.98 \pm 0.59a	6.997	0.027
Benzenoides					
Benzene	0.007 \pm 0.00b	0.01 \pm 0.00ab	0.03 \pm 0.00a	5.971	0.0374
Cymene	0.04 \pm 0.02b	0.04 \pm 0.01b	0.22 \pm 0.06a	6.9886	0.0270
Total	0.05 \pm 0.02a	0.05 \pm 0.01a	0.25 \pm 0.07a	3.509	0.0979
Derivados de AG					
2,6-dimethyl-2,4,6-octatriene	0.10 \pm 0.02a	0.14 \pm 0.04a	1.70 \pm 0.84a	3.509	0.097
Total	0.10 \pm 0.02b	0.14 \pm 0.04b	1.70 \pm 0.84a	8.829	0.0163
TOTAL	1.16 \pm 0.37b	0.98 \pm 0.24b	4.93 \pm 1.35a	7.3562	0.024

Letras diferentes na mesma linha representam diferenças significativas

4 DISCUSSÃO

Ao reconhecer a herbivoria de insetos, a planta passa a emitir uma mistura de voláteis diferente daquela emitida pela planta intacta (SKOCZEK et al, 2017), e essa alteração na composição química exerce efeito no terceiro nível trófico (ALSABTE et al, 2022). Os parasitoides larvais, por exemplo, são bem conhecidos por explorarem esses voláteis como pistas na localização de hospedeiros adequados (GIUNTI et al, 2015; TURLINGS & ERB, 2018). Por outro lado, a literatura carece de informações a respeito do uso dos HIPVs por parasitoides pupais durante a localização de hospedeiros a longas distâncias. Este trabalho visou compreender qual o papel dos voláteis de defesa de plantas de eucalipto induzidos pela herbivoria no forrageamento do parasitoide pupal *P. elaeisis*. Nossos resultados confirmaram que os HIPVs representam pistas químicas importantes para esse parasitoide durante a localização de hospedeiros, e que essa interação é modulada pela idade das lagartas que se alimentam da planta.

Neste estudo, inicialmente, testamos se a aplicação do MeJA, que simula uma indução da herbivoria inespecífica, induziria a emissão de voláteis atrativos ao parasitoide pupal *P. elaeisis*. Nossos resultados corroboraram parcialmente com a nossa hipótese, já que os parasitoides preferiram os odores das plantas não tratadas frente àqueles das plantas tratadas com MeJA a 3,0 mM. Já na concentração mais alta (4,5 mM), os parasitoides foram atraídos pelos voláteis das plantas tratadas. Dessa forma, dependendo da concentração aplicada do indutor, uma resposta comportamental diferente foi observada no terceiro nível trófico. Entretanto, ao contrário do que esperávamos, a aplicação exógena do MeJA não induziu uma emissão de voláteis significativamente distinta entre as plantas, tanto em termos qualitativos quanto quantitativos.

A aplicação exógena de MeJA tem sido amplamente estudada diante de seu papel na indução de defesas contra a herbivoria de insetos. Alguns estudos demonstram que este método pode aumentar a produção de terpenos produzidos pelas plantas sob condições de estresse (MOREIRA et al, 2011). Porém, no caso de plantas arbóreas, como coníferas, foi observado que a aplicação exógena de MeJA não resulta em um relevante aumento da síntese de defesas induzidas, de forma que a concentração foliar de terpenos não se altera e a expressão de genes é afetada apenas de forma discreta (HENERY et al, 2008; KÜLHEIM et al, 2014). No nosso estudo, a aplicação de MeJA pode ter resultado em alterações fisiológicas discretas na planta, principalmente sobre a transcrição de genes que regulam a produção de defesas. Como resultado, as mudanças sutis no perfil de voláteis das plantas tratadas com MeJA a 4,5mM deve

ter sido abaixo dos limiares de detecção do GC-MS e GC-FID, mas detectáveis e reconhecidas pelos insetos, que possuem estruturas sensoriais muito sensíveis.

Além disso, as plantas tratadas com o MeJA 3,0 mM tiveram uma emissão de voláteis um pouco menor, embora não significativa, do que os demais tratamentos. Os compostos Camphene, Isobutyl butyrate, Leaf acetate e Isopentyl isobutyrate apresentaram emissões médias duas vezes menor do que na emissão das plantas não tratadas. Além disso, o composto α -Pinene teve uma emissão 65% menor do que as plantas controle. Essas diferenças, embora não significativas, podem ter sido suficientes para a alteração no reconhecimento de voláteis pelo parasitoide *P. elaeisis*, visto que as fêmeas preferiram as plantas controle às plantas tratadas com MeJA 3,0 mM.

Quando o parasitoide *P. elaeisis* foi exposto aos odores das plantas sob infestação natural do eucalipto pelo seu hospedeiro, a resposta comportamental foi de preferência pelos HIPVs induzidos especificamente pela herbivoria das lagartas velhas. Nossos resultados corroboraram nossa hipótese, indicando que a idade da lagarta é um fator importante para a indução de voláteis atrativos para o parasitoide pupal. Esse comportamento do parasitoide pupal deve ser adaptativo, pois a atração por voláteis induzidos por lagartas de instares iniciais pode representar apenas gasto energético já que o estágio de pupa está temporalmente distante de acontecer. Ao ser atraído pelos voláteis de plantas induzidos pelo estágio de desenvolvimento antecedente ao estágio-alvo do parasitismo, o parasitoide pupal *P. elaeisis* tem maior probabilidade de encontrar as pupas de *T. arnobia*, especialmente por ser uma espécie multivoltina (Bjørnstad; Nelson; Tobin, 2016). Uma vez na planta infestada pelas lagartas velhas, os parasitoides pupais podem detectar pistas químicas provindas do odor do próprio estágio-alvo do hospedeiro, que são detectáveis a curtas distâncias. Assim, eles podem se guiar entre as folhas para encontrar pupas suspensas, ou ainda se deslocar ao solo da planta infestada pelas lagartas mais velhas, onde as pupas de *T. arnobia* também são encontradas.

A resposta comportamental observada nos parasitoides pode ser explicada pela emissão de voláteis distinta das plantas infestadas com lagartas velhas em relação às plantas infestadas com lagartas jovens e plantas não infestadas. Ao sofrer herbivoria de lagartas velhas, as plantas tiveram uma emissão de voláteis quatro vezes maior que os demais tratamentos, o que pode ter sido responsável pela maior atratividade dos parasitoides. Essa diferença na quantidade da emissão pode ter sido resultante do consumo foliar das lagartas, que é maior por aquelas mais velhas (PRATISSOLI et al, 2002; CABEZAS et al, 2013). Como as lagartas de instares avançados possuem tamanho corporal maior, elas têm maior necessidade energética e, portanto,

se alimentam mais. Essa diferença na herbivoria foi visível nos experimentos, apesar do número de lagartas de segundo ínstar usado na infestação das plantas ter sido 10 vezes maior do que na infestação por lagartas de quinto ínstar. Além disso, o tipo de injúria causada na folha foi diferente entre os instares, de forma que lagartas mais jovens se alimentaram principalmente através de raspagem das folhas, enquanto as lagartas mais velhas removeram o tecido foliar. Assim, o reconhecimento dos voláteis induzidos pela herbivoria de lagartas de quinto ínstar pelo parasitoide pode estar relacionado com a intensidade da herbivoria e o tipo de injúria, e não apenas com possíveis diferenças na composição ou volume da secreção oral das lagartas de diferentes idades (EVELEIGH et al, 2015).

Embora as plantas infestadas por lagartas jovens tenham sido visivelmente injuriadas (Figura S7), não foram detectáveis diferenças no perfil dos voláteis emitidos. Esse resultado pode explicar a ausência de preferência do parasitoide pelos odores das plantas infestadas por lagartas jovens. As plantas arbóreas tendem a sustentar maior intensidade de herbivoria antes de ativarem as defesas induzidas comparadas às plantas anuais e de curto ciclo de vida, pois alocam mais recursos para o crescimento do que para a defesa (AGRAWAL, 2007). Assim, é possível que a herbivoria causada pela infestação das mudas de eucalipto com 40 lagartas de 2º ínstar por dois dias não tenha sido suficiente para ativar as defesas induzidas da planta. Dessa forma, estudos futuros se tornam essenciais para analisar o efeito das variações no nível e no tempo de infestação das plantas de eucalipto, de forma que as plantas fiquem expostas por mais tempo à herbivoria de uma maior quantidade de lagartas.

Alguns estudos demonstram que a localização de hospedeiros por parasitoides pupais ocorre a partir da integração de pistas multimodais, que incluem pistas visuais e vibracionais para localização a curtas distâncias, e pistas químicas a longas distâncias (WÄCKERS et al, 1998; FISCHER et al, 2004a; FISCHER et al, 2004b; GOUBERT et al, 2013). Os nossos resultados são congruentes com estudos anteriores, os quais estudaram a localização de hospedeiro mediada por voláteis induzidos pela herbivoria por parasitoides pupais. Por exemplo, o parasitoide pupal *Trichopria anastrephae* Lima, 1940 (Hymenoptera: Diapriidae) também apresentou atração aos voláteis derivados de estágio anteriores ao estágio-alvo, sendo atraído por voláteis de mirtilos infestados por estágios imaturos de *Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931) (Diptera: Drosophilidae) (DE LA VEGA et al, 2021). Em um sistema envolvendo espécies de insetos taxonomicamente relacionadas ao nosso sistema de estudo, foi demonstrado que os odores constitutivos provenientes de folhas coletadas do chão da conífera *Picea abies* (L) (Pinales: Pinaceae) foram atrativos ao parasitoide pupal *Dahlbominus*

fuscipennis (Zetterstedt, 1838) (Hymenoptera: Eulophidae), que utiliza as pupas de *Gilpinia hercyniae* (Hartig, 1837) (Hymenoptera: Diprionidae) que ficam escondidas na serrapilheira como hospedeiros (ROSTÁS et al, 1998). De maneira similar, o parasitoide pupal *Dentichasmias busseolae* Heinrich, 1968 (Hymenoptera: Ichneumonidae) foi atraído pelos voláteis induzidos pela herbivoria de *Chilo partellus* Swinhoe, 1885 (Lepidoptera: Crambidae) ao ser exposto a plantas de milho e sorgo infestadas, indicando que os HIPVs são importantes ao forrageamento deste parasitoide (GOHOLE et al, 2003). Mas esta é uma área ainda pouco explorada, que carece de estudos que visam analisar o papel e o efeito dos HIPVs sobre o forrageamento e a localização hospedeira em parasitoides pupais. Assim, os resultados encontrados neste estudo representam uma grande contribuição para o entendimento das interações mediadas por voláteis induzidos pela herbivoria entre parasitoides pupais e seus hospedeiros.

5 CONCLUSÃO

Para garantir o sucesso do parasitismo, o parasitoide precisa encontrar hospedeiros adequados em seu ambiente, e tal busca frequentemente é guiada por voláteis induzidos pela herbivoria. Este estudo mostrou que o parasitoide pupal *Palmistichus elaeisis* apresenta preferência frente aos voláteis induzidos pela herbivoria de lagartas de *T. arnobia* e pela aplicação exógena de jasmonato de metila, e que ela é moldada de acordo com a idade das lagartas e com a concentração aplicada na planta. Assim, podemos concluir que os HIPVs podem ser utilizados na busca por hospedeiros pelos parasitoides pupais, mas apenas aquelas misturas induzidas por estágios imediatamente anteriores ao estágio-alvo do hospedeiro. Além disso, foi possível observar que a presença do herbívoro levou à alteração da mistura de voláteis emitidos pela planta de eucalipto e que, quando presente, a mudança na emissão ocorreu de forma quantitativa, e não qualitativa. Este estudo contribuiu para a expansão do conhecimento a respeito da interação dos parasitoides pupais com os voláteis induzidos pela herbivoria de estágios anteriores ao estágio-alvo do parasitismo.

Estudos futuros irão investigar se os compostos identificados que apresentaram diferenças influenciam também na preferência olfativa do parasitoide quando testados de forma isolada. Além disso, é preciso investigar se os compostos voláteis atrativos possuem real impacto no encontro do hospedeiro, de forma a verificar se as taxas de parasitismo das pupas, geralmente

localizadas no solo, são maiores nas plantas atacadas que estão emitindo os voláteis atrativos do que nas plantas emissoras de misturas diferentes. Ressaltamos a importância de mais estudos que integrem a localização química guiada por voláteis em inimigos naturais com sua aplicação no controle biológico de pragas, para reduzir a distância de um manejo agrícola mais sustentável.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi realizado com o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) e do Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras. Além disso, a execução desse estudo só foi possível pela parceria estabelecida com as empresas Sorel (Pompéu-MG) e Pró-Mudas (Lavras-MG).

REFERÊNCIAS

- ABBAS, F. et al. Volatile organic compounds as mediators of plant communication and adaptation to climate change. **Physiologia Plantarum**, v. 174, n. 6, p. e13840, 2022.
- AGRAWAL, A. A. Macroevolution of plant defense strategies. **Trends in ecology & evolution**, v. 22, n. 2, p. 103-109, 2007.
- ALSABTE, A. et al. Effects of volatile organic compounds (VOCs) emitted by citrus infested with *Aonidiella aurantii* on the predator *Rhyzobius lophanthae* attraction. **Phytoparasitica**, v. 50, n. 3, p. 645-653, 2022.
- ANJOS, N. dos; SANTOS, G. P.; ZANUNCIO, J. C. A lagarta-parda, *Thyrintina arnobia* Stoll, 1782 (Lepidoptera: Geometridae) desfolhadora de eucaliptos. Belo Horizonte: EPAMIG, 1987. 56 p. (EPAMIG. Boletim técnico, 25).
- AYELO, P. M. et al. Terpenes from herbivore-induced tomato plant volatiles attract *Nesidiocoris tenuis* (Hemiptera: Miridae), a predator of major tomato pests. **Pest Management Science**, v. 77, n. 11, p. 5255-5267, 2021.
- BARBOSA, L. R. et al. Eucalyptus pests. In: **Forest Microbiology**. Academic Press, p. 227-249, 2023.
- BARBOSA, R. H. et al. Foraging activity of *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) at various densities on pupae of the eucalyptus defoliator *Thyrintina arnobia* (Lepidoptera: Geometridae). **Florida Entomologist**, v. 99, n. 4, p. 686-690, 2016.
- BITTENCOURT, M. A. L.; BERTI FILHO, E. Preferência de *Palmistichus elaeisis* por pupas de diferentes lepidópteros praga. **Scientia Agricola**, v. 56, p. 1281-1283, 1999.
- BJØRNSTAD, O. N.; NELSON, W. A.; TOBIN, P. C. Developmental synchrony in multivoltine insects: generation separation versus smearing. **Population Ecology**, v. 58, p. 479-491, 2016.
- BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários (Agrofit)**. Disponível em: <https://agrofit.agricultura.gov.br/>. Acesso em: 17 jan. 2025a.
- BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários (Agrofit)**. Disponível em: https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons . Acesso em: 09 fev 2025b.
- CABEZAS, M. F. et al. Development and leaf consumption by *Spodoptera cosmioides* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) reared on leaves of agroenergy crops. **Neotropical Entomology**, v. 42, p. 588-594, 2013.
- CONBOY, N. J. A. et al. Volatile organic compounds as insect repellents and plant elicitors: an integrated pest management (IPM) strategy for glasshouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*). **Journal of chemical ecology**, v. 46, p. 1090-1104, 2020.
- CUSUMANO, A. et al. Hyperparasitoids exploit herbivore-induced plant volatiles during host location to assess host quality and non-host identity. **Oecologia**, v. 189, p. 699-709, 2019.
- D'ALESSANDRO, M. et al. Strong attraction of the parasitoid *Cotesia marginiventris* towards minor volatile compounds of maize. **Journal of chemical ecology**, v. 35, p. 999-1008, 2009.

- DA SILVA, P. H. M. et al. Susceptibility of eucalypt taxa to a natural infestation by *Leptocybe invasa*. **New Forests**, v. 51, p. 753-763, 2020.
- DEBACH, P.; ROSEN, D. **Biological control by natural enemies**. CUP Archive, 1991
- DE LA VEGA, G. J. et al. Effect of *Drosophila suzukii* on blueberry VOCs: chemical cues for a pupal parasitoid, *Trichopria anastrephae*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 47, p. 1014-1024, 2021
- DE RIJK, M. et al. Associative learning of host presence in non-host environments influences parasitoid foraging. **Ecological Entomology**, v. 43, n. 3, p. 318-325, 2018.
- ERB, M et al. Role of phytohormones in insect-specific plant reactions. **Trends in plant science**, v. 17, n. 5, p. 250-259, 2012.
- EVELEIGH, E. et al. Spruce Budworm (Lepidoptera: Tortricidae) Oral Secretions I: Biology and Function. **Environmental Entomology**, v. 44, n. 6, p. 1641-1651, 2015.
- FAIOLA, C. L. et al. Impacts of simulated herbivory on volatile organic compound emission profiles from coniferous plants. **Biogeosciences**, v. 12, n. 2, p. 527-547, 2015.
- FINCHEIRA, P. et al. Current advances in plant-microbe communication via volatile organic compounds as an innovative strategy to improve plant growth. **Microbiological Research**, v. 247, p. 126726, 2021.
- FISCHER, S. et al. Host location of a pupal parasitoid in a tritrophic system compared to a model offering mechanosensory cues only. **Journal of Insect Behavior**, v. 17, p. 191-199, 2004a.
- FISCHER, S. et al. Perception of chromatic cues during host location by the pupal parasitoid *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera: Ichneumonidae). **Environmental Entomology**, v. 33, n. 1, p. 81-87, 2004b.
- GASSMANN, A. J. Resistance to Bt maize by western corn rootworm: effects of pest biology, the pest-crop interaction and the agricultural landscape on resistance. **Insects**, v. 12, n. 2, p. 136, 2021.
- GHIOTTO, T. C. et al. Ecological importance of lepidopteran defoliators on eucalyptus plantations based in faunistic and natural enemy analyses. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, p. e268747, 2023.
- GIUNTI, G et al. Parasitoid learning: Current knowledge and implications for biological control. **Biological Control**, v. 90, p. 208-219, 2015.
- GOHOLE, L. S. et al. Role of volatiles emitted by host and non-host plants in the foraging behaviour of *Dentichasmias busseolae*, a pupal parasitoid of the spotted stemborer *Chilo partellus*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 107, n. 1, p. 1-9, 2003
- GOUBERT, C. et al. Short-and long-range cues used by ground-dwelling parasitoids to find their host. **Naturwissenschaften**, v. 100, p. 177-184, 2013.
- GUO, H.; WANG, C. Z. The ethological significance and olfactory detection of herbivore-induced plant volatiles in interactions of plants, herbivorous insects, and parasitoids. **Arthropod-Plant Interactions**, v. 13, n. 2, p. 161-179, 2019.
- JÚNIOR, D. L.; COLODETTE, J. L. Importância e versatilidade da madeira de eucalipto para a indústria de base florestal. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 33, n. 76, p. 429-438, 2013

- HENERY, M. L. et al. Methyl jasmonate does not induce changes in *Eucalyptus grandis* leaves that alter the effect of constitutive defences on larvae of a specialist herbivore. **Oecologia**, v. 156, p. 847-859, 2008.
- JORDAN, C. et al. Potential of *Bacillus thuringiensis* isolates to manage *Gonipterus platensis* (Coleoptera: Curculionidae) larvae populations. **Environmental Entomology**, p. nva124, 2024.
- KÜLHEIM, C. et al. Foliar application of methyl jasmonate does not increase terpenoid accumulation, but weakly elicits terpenoid pathway genes in sandalwood (*Santalum album* L.) seedlings. **Plant Biotechnology**, v. 31, n. 5, p. 585-591, 2014.
- KUMARASWAMY, S. et al. Parasitoids as biocontrol agents in India. **Current Opinion in Insect Science**, p. 101282, 2024.
- LAMY, F. C. et al. Artificially applied plant volatile organic compounds modify the behavior of a pest with no adverse effect on its natural enemies in the field: Improving the push-pull strategy against a major Brassicaceae pest. **Journal of Pest Science**, v. 90, p. 611-621, 2017.
- LI, M. et al. Isolation and identification of attractants from the pupae of three lepidopteran species for the parasitoid *Chouioia cunea* Yang. **Pest management science**, v. 76, n. 5, p. 1920-1928, 2020.
- LIU, Y. B. et al. Development time and resistance to Bt crops. **Nature**, v. 400, n. 6744, p. 519-519, 1999.
- MCCORMICK, A. C.; UNSICKER, S. B.; GERSHENZON, J. The specificity of herbivore-induced plant volatiles in attracting herbivore enemies. **Trends in plant science**, v. 17, n. 5, p. 303-310, 2012.
- MESNAGE, R.; SÉRALINI, G. E. Toxicity of pesticides on health and environment. **Frontiers in public health**, v. 6, p. 268, 2018.
- MOREIRA, X. et al. Methyl jasmonate as chemical elicitor of induced responses and anti-herbivory resistance in young conifer trees. In: **Plant defence: Biological control**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2011. p. 345-362.
- NARAYANAN, M. et al. Ecological impacts of pesticides on soil and water ecosystems and its natural degradation process. In: **Pesticides in the natural environment**. p. 23-49. Elsevier, 2022.
- NGUMBI, E. et al. Comparison of associative learning of host-related plant volatiles in two parasitoids with different degrees of host specificity, *Cotesia marginiventris* and *Microplitis croceipes*. **Chemoecology**, v. 22, p. 207-215, 2012.
- NGUMBI, E. N.; UGARTE, C. M. Flooding and herbivory interact to alter volatile organic compound emissions in two maize hybrids. **Journal of Chemical Ecology**, v. 47, n. 7, p. 707-718, 2021.
- ODA, S.; BERTI FILHO, E. Incremento anual volumétrico de *Eucalyptus saligna* Sm. em áreas com diferentes níveis de infestação de lagartas de *Thyriniteina arnobia* (Stoll, 1782) (Lepidoptera, Geometridae). **IPEF. Piracicaba**, v. 17, p. 27-31, 1978.
- ORRE, G. U. S. et al. Effects of an herbivore-induced plant volatile on arthropods from three trophic levels in brassicas. **Biological control**, v. 53, n. 1, p. 62-67, 2010.

- PARRA, J. R. P. Biological control in Brazil: an overview. **Scientia Agricola**, v. 71, p. 420-429, 2014.
- PARÉ, P. W.; TUMLINSON, J. H. Plant volatiles as a defense against insect herbivores. **Plant physiology**, v. 121, n. 2, p. 325-332, 1999.
- PASTORI, P. L. et al. Densidade de fêmeas de *Palmistichus elaeisis* Delvare & LaSalle, 1993 (Hymenoptera: Eulophidae) para sua reprodução em pupas de *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 79, p. 525-532, 2012
- PEÑAFLORES, M. F. G. V. et al. Herbivore-induced plant volatiles can serve as host location cues for a generalist and a specialist egg parasitoid. **Journal of Chemical Ecology**, v. 37, p. 1304-1313, 2011.
- PEREIRA, F. F. et al. Species of Lepidoptera defoliators of Eucalyptus as new host for the parasitoid *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, p. 259-262, 2008.
- PEREIRA, F. F. et al. The density of females of *Palmistichus elaeisis* Delvare and LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae) affects their reproductive performance on pupae of *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 82, p. 323-331, 2010
- PÉREZ-HEDO, M. et al. Plant exposure to herbivore-induced plant volatiles: a sustainable approach through eliciting plant defenses. **Journal of Pest Science**, v. 94, n. 4, p. 1221-1235, 2021.
- PRATISSOLI, D. et al. Leaf consumption and duration of instars of the cassava defoliator *Erinnyis ello* (L., 1758) (Lepidoptera, Sphingidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 46, p. 251-254, 2002.
- ROSTÁS, M. et al. Infochemicals influencing the host foraging behaviour of *Dahlbominus fuscipennis*, a pupal parasitoid of the European spruce sawfly (*Gilpinia hercyniae*). **Entomologia experimentalis et applicata**, v. 86, n. 3, p. 221-227, 1998.
- ROWEN, E; KAPLAN, I. Eco-evolutionary factors drive induced plant volatiles: a meta-analysis. **New Phytologist**, v. 210, p. 284-294, 2016.
- SKOCZEK, A. et al. Volatile organic compounds released by maize following herbivory or insect extract application and communication between plants. **Journal of Applied Entomology**, v. 141, n. 8, p. 630-643, 2017.
- TONGA, A. et al. Cotton treatment with methyl jasmonate at different growth stages reduces the population of sucking insect pests and marginally increases their associated predators. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 170, n. 3, p. 207-221, 2022.
- TURLINGS, T. C. J; ERB, M. Tritrophic interactions mediated by herbivore-induced plant volatiles: mechanisms, ecological relevance, and application potential. **Annual review of entomology**, v. 63, n. 1, p. 433-452, 2018.
- VAN POECKE, R. M. P.; DICKE, M. Indirect defence of plants against herbivores: using *Arabidopsis thaliana* as a model plant. **Plant Biology**, v. 6, n. 04, p. 387-401, 2004
- VERMA, V. et al. Plant hormone-mediated regulation of stress responses. **BMC plant biology**, v. 16, p. 1-10, 2016.

- WÄCKERS, F. L. et al. Vibrational Sounding by the Pupal Parasitoid *Pimpla (Coccygomimus) turionellae*: An Additional Solution to the Reliability–Detectability Problem. **Biological Control**, v. 11, n. 2, p. 141-146, 1998.
- WEBER, N. C. et al. Tomato plant defense induced by methyl jasmonate impacts on foraging behavior and parasitism of *Trichogramma pretiosum*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 171, n. 3, p. 162-171, 2023.
- ZANUNCIO, J. C. et al. Eficiência da deltametrina e da permetrina, em aplicação terrestre, contra os lepidópteros *Thyrinteina arnobia* (Geometridae) e *Nystalea nyseus* (Notodontidae) no trópico úmido. **Acta Amazonica**, v. 24, n. 3-4, p. 321-326, 1994.
- ZHANG, P. J. et al. Jasmonate and ethylene signaling mediate whitefly-induced interference with indirect plant defense in *Arabidopsis thaliana*. **New Phytologist**, v. 197, n. 4, p. 1291-1299, 2013.
- ZHAO, L. Y. et al. Biochemical and molecular characterizations of *Sitobion avenae*-induced wheat defense responses. **Crop Protection**, v. 28, n. 5, p. 435-442, 2009.
- ZHU, Q. et al. Synthesis, insecticidal activity, resistance, photodegradation and toxicity of pyrethroids (A review). **Chemosphere**, v. 254, p. 126779, 2020.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Figura S1 – Mudanças de eucalipto plantadas em vasos de 700 mL e mantidas em casa de vegetação. A: Mudanças jovens recém plantadas. B: Mudanças de eucalipto prontas para uso em experimentos.

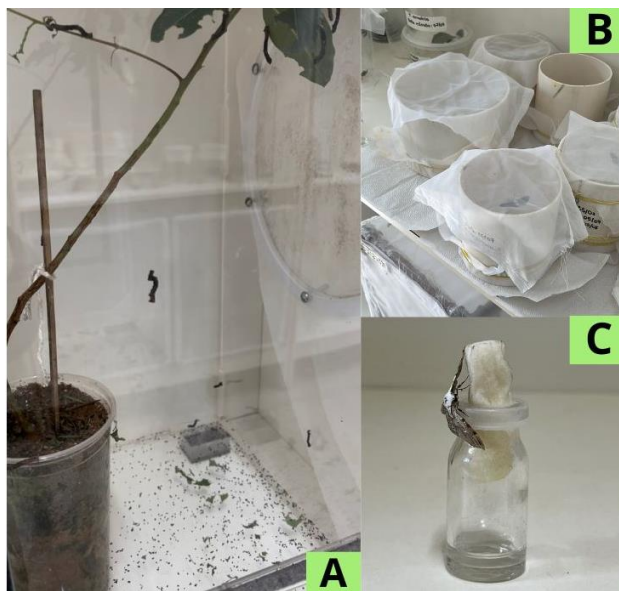


Figura S2 – A: Gaiola de acrílico de 30 x 30 x 60 cm em que as lagartas eram mantidas. B: Gaiolas de PVC de 40 cm em que os adultos eram mantidos. C: Macho adulto se alimentando de solução de mel a 10% em algodão dental.

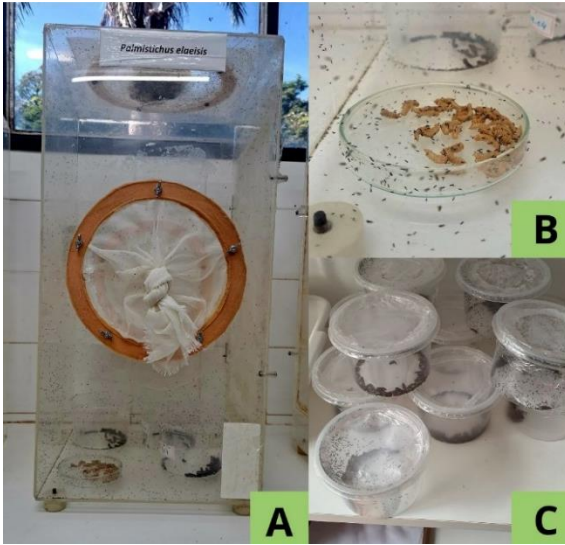


Figura S3 – A: Gaiola de acrílico de 30 x 30 x 60 cm em que os parasitoides adultos eram mantidos. B: Pupas de *T. mollitor* oferecidas em placas de Petri para os parasitoides parasitarem. C: Pupas parasitadas de *T. mollitor* mantidas em potes plásticos, até a emergência de novos adultos.

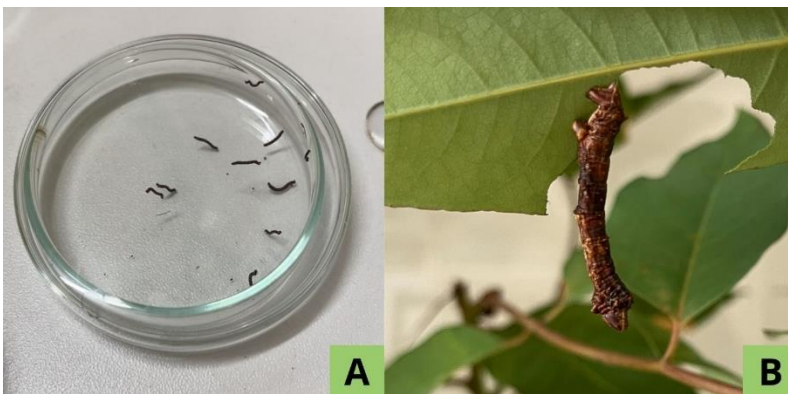


Figura S4 – A: Lagartas de segundo ínstar isoladas em placas de Petri de 5 cm. B: Lagarta de quinto ínstar em ramo de eucalipto.

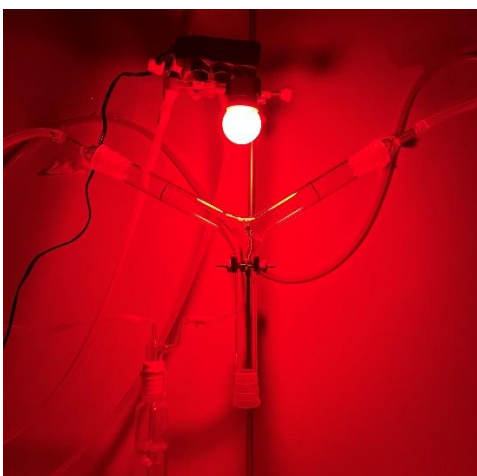


Figura S5 – Sistema de olfatometria em tubo “Y”, com uma luz vermelha posicionada sobre a estrutura de vidro.

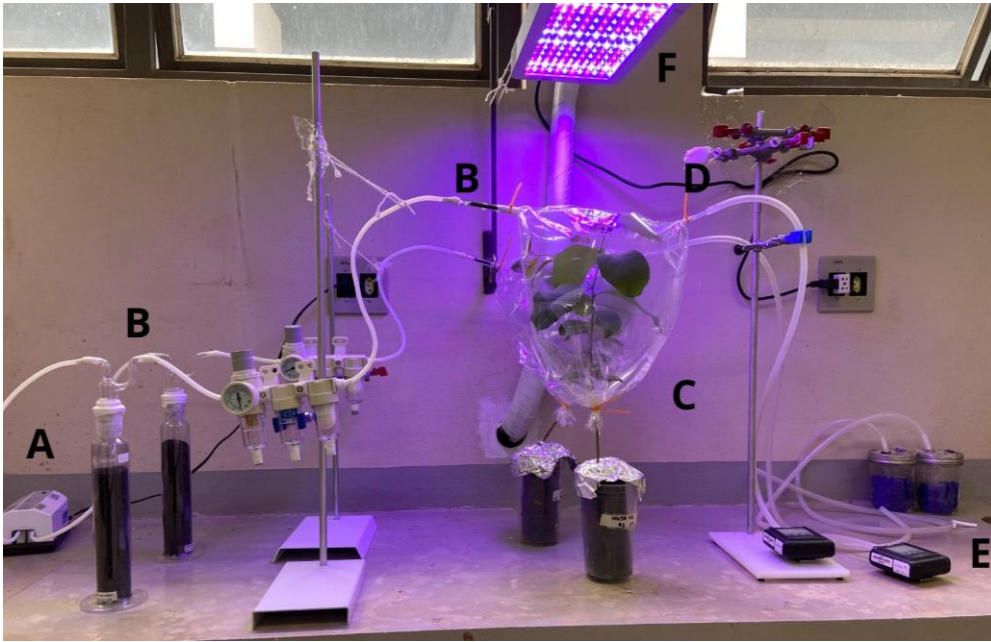


Figura S6 – Sistema de coleta de voláteis de plantas de eucalipto. A: compressor de ar (bomba de aquário), que injetou o fluxo de ar de $500 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$. B: Filtros de carvão ativado. C: planta de eucalipto tratada dentro do saco de polietileno. D: filtro coletor com polímero adsorvente. E: Bomba de sucção a vácuo. F: painel LED que simula a radiação solar.

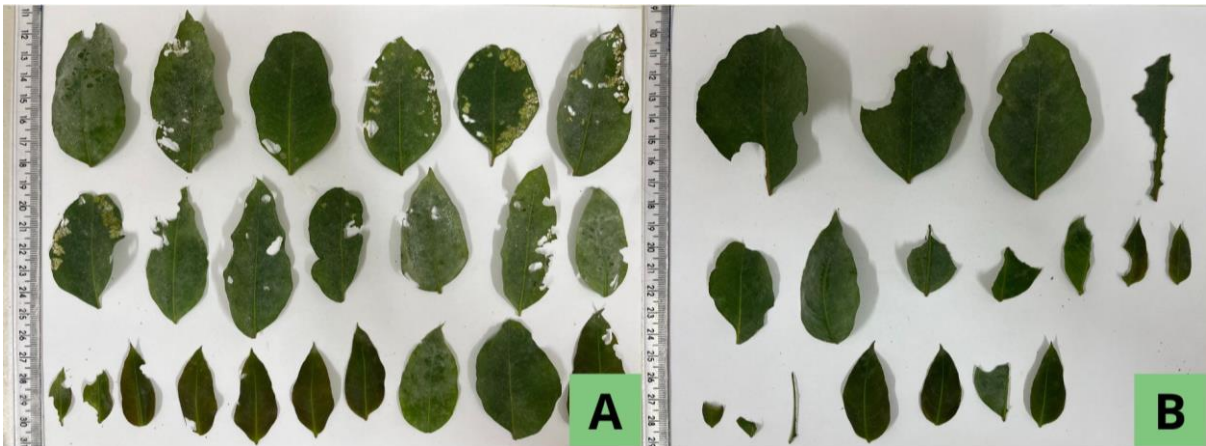


Figura S7 – A: Injúria nas folhas de eucalipto causadas por lagartas de segundo ínstar. B: Injúrias nas folhas de eucalipto causadas por lagartas de quinto ínstar.

TERCEIRA PARTE

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir da realização deste trabalho, foi possível avaliar o papel dos HIPVs no forrageamento do parasitoide pupal *P. elaeisis*. Esse estudo mostrou que a produção de voláteis de defesa induzidos pela herbivoria em plantas de eucalipto são moldados pela idade das lagartas de *T. arnobia* ou pela concentração de MeJA aplicada. Além disso, foi possível observar que a mudança na emissão, quando presente, é capaz de alterar a preferência olfativa do parasitoide. Dessa forma, foi possível concluir que os voláteis de planta induzidos por estágios anteriores ao estágio-alvo do parasitismo são utilizados como pistas a longas distâncias para o reconhecimento e localização de hospedeiros. O desenvolvimento deste estudo foi importante para a expansão do conhecimento sobre a ecologia química de parasitoides, trazendo informações valiosas sobre o papel dos HIPVs no forrageamento de parasitoides pupais, área que ainda é pouco estudada e carece de informações. Além disso, muitas questões foram levantadas durante o desenvolvimento deste trabalho, o que abre portas para pesquisas futuras, que visem compreender o efeito de compostos isolados na preferência olfativa e a aplicabilidade desses conhecimentos para o aprimoramento do controle biológico com parasitoides pupais.