

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

ECOLOGIA QUÍMICA DE PENTATOMÍDEOS EM *Oryza sativa* (Poaceae):
IMPLICAÇÕES NO MANEJO COM FEROMÔNIO SEXUAL SINTÉTICO E NAS
INTERAÇÕES TRITRÓFICAS MEDIADAS POR FITORMÔNIOS

Thais Fernanda Stella de Freitas
Engenheira Agrônoma/UFRGS
Mestre em Fitotecnia/UFRGS

Tese apresentada como um dos requisitos
à obtenção do Grau de Doutor em Fitotecnia
Área de concentração: Fitotecnia / Ênfase em Entomologia

Porto Alegre (RS), Brasil
Fevereiro, 2017

CIP - Catalogação na Publicação

Freitas, Thais Fernanda Stella de
ECOLOGIA QUÍMICA DE PENTATOMÍDEOS EM *Oryza sativa*
(Poaceae): IMPLICAÇÕES NO MANEJO COM FEROMÔNIO SEXUAL
SINTÉTICO E NAS INTERAÇÕES TRITRÓFICAS MEDIADAS POR
FITORMÔNIOS / Thais Fernanda Stella de Freitas. --
2017.

120 f.

Orientador: Josué Sant'Ana.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de
Pós-Graduação em Fitotecnia, Porto Alegre, BR-RS, 2017.

1. Manejo integrado de pragas. 2. Semioquímicos.
3. Zingiberenol. 4. Indução de resistência. 5. Arroz
irrigado. I. Sant'Ana, Josué, orient. II. Título.

THAÍS FERNANDA STELLA DE FREITAS
Engenheira Agrônoma - UFRGS
Mestre em Fitotecnia - UFRGS

TESE

Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

DOCTOR EM FITOTECNIA

Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia
Faculdade de Agronomia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovado em: 22.02.2017
Pela Banca Examinadora

Homologado em: 03.10.2017
Por

JOSUÉ SANT'ANA
Orientador - PPG Fitotecnia

CHRISTIAN BREDEMEIER
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em Fitotecnia

LUIZA RODRIGUES REDAELLI
PPG Fitotecnia/UFRGS

MIGUEL BORGES
EMBRAPA Recursos Genéticos e
Biotecnologia - Brasília, DF

FERNANDO FELISBERTO DA SILVA
UNIPAMPA - Itaqui, RS

CARLOS ALBERTO BISSANI
Diretor da Faculdade
de Agronomia

AGRADECIMENTOS

A minha família, em especial aos meus pais, Rose e Fernando, por todo o suporte e dedicação incondicional a minha formação. Nunca poderei retribuir! Aos meus irmãos, Thiago e Thércio, pelo incentivo.

Ao professor Josué Sant'Ana, pela orientação, amizade, dedicação e confiança.

Ao Sr. Cláudio Spilere, por ceder a área e viabilizar o trabalho de campo com infinita disposição.

Ao professor Michael Stout, da Louisiana State University, pela orientação no período de intercâmbio.

A todos do Laboratório de Semioquímicos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, em especial à Dra. Maria Carolina Blassioli Moraes e à amiga Marla Juliane Hassemer pela ajuda e pelos ensinamentos.

A todos os professores, funcionários e colegas do Departamento de Fitossanidade, pela convivência tão agradável durante este período. Ao colegas do LEEQI que contribuíram de forma especial, Roberta Tognon e William Zarda, e aos bolsistas Augusto, Jorge, Juliana e Thaís pela ajuda e coleguismo. À grande amiga Rita Machado, por ter iniciado uma parte deste trabalho e me ensinado muito.

À UFRGS, pelo ensino público, gratuito e de qualidade.

Ao CNPq e CAPES pelas bolsas concedidas.

ECOLOGIA QUÍMICA DE PENTATOMÍDEOS EM *Oryza sativa* (Poaceae): IMPLICAÇÕES NO MANEJO COM FEROMÔNIO SEXUAL SINTÉTICO E NAS INTERAÇÕES TRITRÓFICAS MEDIADAS POR FITORMÔNIOS¹

Autor: Thais Fernanda Stella de Freitas
Orientador: Josué Sant'Ana

RESUMO

Substâncias químicas utilizadas nas interações entre espécies podem ser ferramentas no manejo de pragas agrícolas. Este trabalho objetivou avaliar o uso de feromônio sexual sintético no monitoramento populacional do percevejo-do-colmo *Tibraca limbativentris* Stål, 1860 (Hemiptera: Pentatomidae) e o uso de fitormônios na indução de defesa de plantas de arroz ao percevejo *T. limbativentris* e ao percevejo-do-grão *Oebalus pugnax* Fabricius, 1775 (Hemiptera: Pentatomidae). Zingiberenol é o feromônio sexual de *T. limbativentris*, e oito isômeros deste composto foram impregnados em septos de borracha, combinados 2 a 2, configurando os tratamentos Z1, Z2, Z3 e Z4. Em ensaios de olfatometria, o tratamento Z1 (3S, 6S, 7R + 3R, 6R, 7R) foi superior ao Z4 e ao controle e, no campo, foi superior a todos os demais, mesmo em área com população baixa. Da mesma forma que as relações entre insetos, interações inseto-planta são baseadas em compostos químicos. Plantas atacadas emitem voláteis derivados das rotas do ácido jasmônico (AJ) e do ácido salicílico (AS), que repelem herbívoros e recrutam inimigos naturais. Plantas da cultivar BR-IRGA 409 receberam os tratamentos 1) herbivoria de *T. limbativentris*; 2) aspersão de solução AJ 2mM; 3) AJ 5mM; 4) AS 8mM; 5) AS 16mM; e 6) controle (etanol) e foram submetidas a avaliação da emissão de compostos por CG-EM e CG-DIC e testes de olfatometria. O tratamento com AS 16mM modificou o perfil cromatográfico de forma semelhante ao tratamento herbivoria, aumentando a emissão de salicilato de metila, e modificou o comportamento de fêmeas de *T. limbativentris* e do parasitoide *Telenomus podisi* Ashmead, 1893 (Hymenoptera: Scelionidae). A indução de defesa ao percevejo *O. pugnax* foi avaliada em plantas da cultivar Cocodrie utilizando metil jasmonato (MeJa), um derivado do AJ, como indutor. As plantas receberam os tratamentos 1) herbivoria de *O. pugnax*; 2) aspersão de solução MeJa 2mM; 3) MeJa 5mM; 4) AS 8mM; 5) AS 16mM; e 6) controle (etanol). A emissão de compostos foi avaliada por CG-EM e o desenvolvimento de ninfas e efeito nos componentes de rendimento foram avaliados em experimentos de casa de vegetação e campo. O tratamento com AS 16mM aumentou a emissão de salicilato de metila de forma semelhante ao tratamento herbivoria e dificultou o desenvolvimento e alimentação do percevejo. O hormônio AS induz defesas diretas e indiretas em arroz. Mais trabalhos devem ser feitos para verificar a dose adequada.

¹ Tese de Doutorado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (121 f.) Fevereiro 2017.

**CHEMICAL ECOLOGY OF PENTATOMIDS IN *Oryza sativa* (Poaceae):
MANAGEMENT IMPLICATION WITH SYNTHETIC SEX PHEROMONE AND
TRITROPHIC INTERACTIONS MEDIATED BY PLANT HORMONES¹**

Author: Thais Fernanda Stella de Freitas

Adviser: Josué Sant'Ana

ABSTRACT

Chemical substances used in interactions among species may become tools for agricultural pest management. This work aimed to evaluate the use of synthetic sex pheromone for population monitoring of the rice stem stink bug *Tibraca limbativentris* Stål, 1860 (Hemiptera: Pentatomidae) and the use of plant hormones to induce rice defence to *T. limbativentris* and *Oebalus pugnax* Fabricius, 1775 (Hemiptera: Pentatomidae). Zingiberenol is the sexual pheromone of *T. limbativentris*. Eight isomers of this compound were impregnated in rubber septums, combined 2 to 2, configuring treatments Z1, Z2, Z3 and Z4. In olfactometry assays, Z1 (3*S*, 6*S*, 7*R* + 3*R*, 6*R*, 7*R*) was preferred over Z4 and check and, in field assays, over all the others isomers, even with a low population area. Like insects relationships, insect-plant interactions are based on chemical compounds. Plants under insect attack emit volatiles derived from routes of jasmonic acid (JA) and salicylic acid (SA), which repel herbivores and recruit natural enemies. Plants of BR-IRGA 409 variety received the treatments 1) herbivory of *T. limbativentris*; 2) spray until run off a JA 2mM solution; 3) JA 5mM 4) SA 8mM; 5) SA 16mM; and 6) check (ethanol) and were submitted to evaluation of volatiles compound emission by GC-MS and GC-FID and olfactometry tests. Treatment with SA 16mM modified chromatographic profile as the herbivory treatment, increasing methyl salicylate emission and changing the behavior of *T. limbativentris* and of the females of its parasitoid, *Telenomus podisi* Ashmead, 1893 (Hymenoptera: Scelionidae). Defense induction to the stink bug *O. pugnax* was evaluated in plants of Cocodrie variety using methyl jasmonate (MeJa), a JA derivative, as elicitor. Plants were treated with 1) herbivory of *O. pugnax*; 2) spray 30 mL of MeJA 2mM solution; 3) MeJA 5mM; 4) SA 8mM; 5) SA 16mM; and 6) check (ethanol). Compound emission was evaluated by GC-MS. Nymph development and yield components were evaluated in greenhouse and field experiments. Treatment with SA 16mM increased methyl salicylate emission, just like herbivory treatment, and made the nymph feeding and development more difficult. Salicylic acid elicits direct and indirect defenses in rice. Additional work should be done check the proper dose.

¹ Doctoral thesis in Plant Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (121 p.) February, 2017.

SUMÁRIO

	Página
1. CAPÍTULO I. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. INTRODUÇÃO GERAL.....	2
1.2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
1.2.1 Cultura do arroz.....	4
1.2.2 Percevejo-do-colmo na cultura do arroz.....	5
1.2.3 Percevejo-do-grão na cultura do arroz.....	7
1.2.4 Comunicação química.....	8
1.2.5 Defesa das plantas.....	11
1.3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	21
2. CAPÍTULO II: Avaliação do feromônio sexual sintético de <i>Tibraca limbativentris</i> (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) em laboratório e em lavoura de arroz irrigado.....	31
2.1. INTRODUÇÃO.....	32
2.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	34
2.2.1 Obtenção e criação de <i>T. limbativentris</i>	34
2.2.2 Feromônio.....	34
2.2.3 Olfatometria.....	35
2.2.4 Testes de campo.....	35
2.2.5 Análise estatística.....	37
2.3. RESULTADOS.....	39
2.3.1 Olfatometria.....	39
2.3.2 Testes de campo.....	40
2.4. DISCUSSÃO.....	45
2.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
3. CAPÍTULO III. IMPACTO DE FITORMÔNIOS NO PERFIL QUÍMICO DE PLANTAS DE ARROZ E NO COMPORTAMENTO QUIMIOTÁXICO DE <i>Tibraca limbativentris</i> (Hemiptera: Pentatomidae) e <i>Telenomus podisi</i> (HYMENOPTERA: SCELIONIDAE).....	52
3.1. INTRODUÇÃO.....	53

3.2. MATERIAL E MÉTODOS	56
3.2.1 Obtenção e criação de <i>T. limbiventris</i>	56
3.2.2 Obtenção e criação de <i>E. heros</i> e <i>T. podisi</i>	56
3.2.3 Semeadura e cultivo das plantas	57
3.2.4 Preparo das soluções	58
3.2.5 Tratamento das plantas	58
3.2.6 Coleta e identificação de voláteis	59
3.2.7 Olfatometria	61
3.3. RESULTADOS	63
3.3.1 Coleta e identificação dos voláteis	63
3.3.2. Olfatometrias	69
3.4. DISCUSSÃO	73
3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77
4. CAPÍTULO IV. EFEITO DO METIL JASMONATO E ÁCIDO SALICÍLICO NA DEFESA DE PLANTAS DE ARROZ (<i>Oryza sativa</i>) À <i>Oebalus pugnax</i> (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) E EM COMPONENTES DE RENDIMENTO DE GRÃOS	81
4.1. INTRODUÇÃO	82
4.2. MATERIAL E MÉTODOS	85
4.2.1 Obtenção e criação de <i>O. pugnax</i>	85
4.2.2 Semeadura e cultivo das plantas	85
4.2.3 Preparo das soluções	86
4.2.4 Tratamento das plantas	86
4.2.5 Coleta e identificação dos voláteis	86
4.2.6 Avaliação do metil jasmonato e ácido salicílico no desenvolvimento de <i>O. pugnax</i> e em componentes de rendimento de grãos	88
4.2.7 Efeito da aplicação de metil jasmonato e ácido salicílico em plantas de arroz na ocorrência de <i>O. pugnax</i> e qualidade de grãos a campo	89
4.3. RESULTADOS	91
4.3.1 Coleta e identificação dos voláteis	91
4.3.2 Avaliação do metil jasmonato e ácido salicílico no desenvolvimento de <i>O. pugnax</i> e em componentes de rendimento de grãos	95
4.3.3 Efeito da aplicação de metil jasmonato e salicílico em plantas de arroz na ocorrência de <i>O. pugnax</i> e qualidade de grãos a campo	96
4.4. DISCUSSÃO	98
4.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	103
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	108

RELAÇÃO DE TABELAS

Página

1. Quantidade média (μg) \pm EP dos compostos liberados por plantas de arroz submetidas a diferentes tratamentos entre 0 - 24 horas de aeração. Tratamentos AJ: ácido jasmônico nas concentrações 2 mM e 5 mM; AS ácido salicílico nas concentrações 8 mM e 16 mM; Herbivoria: plantas previamente submetidas à herbivoria de duas fêmeas de *Tibraca limbativentris*; Etanol: 1mL de etanol + 200 mL de água destilada; Controle: água destilada. (n=10)..... 66
2. Quantidade média (μg) \pm EP de compostos liberados por plantas de arroz submetidas a diferentes tratamentos entre 24 - 48 horas após o início da aeração. Tratamentos AJ: ácido jasmônico nas concentrações 2 mM e 5 mM; AS ácido salicílico nas concentrações 8 mM e 16 mM; Herbivoria: plantas previamente submetidas à herbivoria de duas fêmeas de *Tibraca limbativentris*; Etanol: 1mL de etanol + 200 mL de água destilada; Controle: água destilada. (n=10)..... 67
3. Quantidade média (μg) \pm EP dos compostos liberados por plantas de arroz submetidas a diferentes tratamentos entre 0 - 24 e 24 - 48 horas após o início da aeração. Tratamentos AJ: ácido jasmônico nas concentrações 2 mM e 5 mM; AS ácido salicílico nas concentrações 8 mM e 16 mM; Herbivoria: plantas previamente submetidas à herbivoria de duas fêmeas de *Tibraca limbativentris*; Etanol: 1mL de etanol + de 200 mL água destilada; Controle: água destilada. (n=10)..... 68
4. Quantidade média (μg) \pm EP dos compostos mais frequentes emitidos (6 horas de extração) por panículas de arroz de submetidas a diferentes tratamentos. Tratamentos MeJa: metil jasmonato nas concentrações 2 mM e 5 mM; AS ácido salicílico nas concentrações 8 mM e 16 mM; Herbivoria: plantas previamente submetidas à herbivoria de cinco fêmeas de *Oebalus pugnax*; Etanol: 1mL etanol + 200 mL água destilada; Controle: água destilada 94
5. Sobrevivência (%), peso (mg) de machos e fêmeas e tempo de desenvolvimento (dias) (\pm EP) de ninfas de terceiro instar de *Oebalus pugnax* até a fase adulta em plantas de arroz mantidas em casa de vegetação e submetidas aos seguintes tratamentos: plantas aspergidas com solução etanol (controle), herbivoria por cinco fêmeas de *O. pugnax*, metil jasmonato 2mM, metil jasmonato 5mM, ácido salicílico 8mM, ácido salicílico 16mM e (n = 10). 95

6. Número médio (\pm EP) de grãos por panícula, esterilidade de espiguetas (%) e de grãos picados (%) de plantas de arroz mantidas em casa de vegetação e submetidas aos seguintes tratamentos: etanol (controle), herbivoria por cinco fêmeas de *Oebalus pugnax*, metil jasmonato 2mM, metil jasmonato 5mM, ácido salicílico 8mM e ácido salicílico 16 mM (n = 10). 96
7. Número médio (\pm EP) de grãos por panícula, esterilidade de espiguetas (%) e grãos picados (%) de arroz em parcelas a campo, submetidas aos seguintes tratamentos: etanol (controle), metil jasmonato 2 mM, metil jasmonato 5 mM, ácido salicílico 8 mM e ácido salicílico 16 mM. Crowley, LA, 2015 97

RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
1. Oito diastereoisômeros possíveis da molécula zingiberenol (Borges <i>et al.</i> , 2006).....	9
2. Croqui da área experimental.....	37
3. Respostas quimiotáticas (%) de fêmeas de <i>Tibraca limbativentris</i> testadas em olfatômetro em Y a septos de borracha impregnados com quatro misturas de diastereoisômeros do zingiberenol, combinados 2 a 2, em contraste com o controle (hexano). a) Z1 (3 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>R</i> + 3 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i>); b) Z2 (3 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>R</i> + 3 <i>S</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i>); c) Z3 (3 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>S</i> + 3 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>S</i>); d) Z4 (3 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>S</i> + 3 <i>S</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>S</i>). Valores sobre as barras indicam o número de insetos responsivos e, entre parênteses, os não responsivos. Asterisco indica diferença significativa pelo teste de Qui-quadrado ($P < 0,05$).	39
4. Respostas quimiotáticas (%) de fêmeas de <i>Tibraca limbativentris</i> testadas em olfatômetro em Y a septos de borracha impregnados com quatro misturas de diastereoisômeros do zingiberenol, combinados 2 a 2: a) Z1 (3 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>R</i> + 3 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i>); b) Z2 (3 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>R</i> + 3 <i>S</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i>); c) Z3 (3 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>S</i> + 3 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>S</i>) e d) Z4 (3 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>S</i> + 3 <i>S</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>S</i>). Valores sobre as barras indicam o número de insetos responsivos e, entre parênteses, os não responsivos. Asterisco indica diferença significativa pelo teste de Qui-quadrado ($P < 0,05$).	40
5. Número médio (\pm EP) de fêmeas de <i>Tibraca limbativentris</i> capturadas por armadilha do tipo PET, de fêmeas observadas e da população total (fêmeas + machos + ninfas) observada nos pontos de amostragem próximos às armadilhas iscadas com septos de borracha impregnados com quatro misturas de diastereoisômeros do zingiberenol, combinados 2 a 2 a) Z1 (3 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>R</i> + 3 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i>); b) Z2 (3 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>R</i> + 3 <i>S</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i>); c) Z3 (3 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>S</i> + 3 <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>S</i>) e d) Z4 (3 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>S</i> + 3 <i>S</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>S</i>). Eldorado do Sul, RS, safras 2013/2014 e 2014/2015. Letras maiúsculas indicam a comparação de uma variável entre os tratamentos e minúsculas o efeito de tratamento para diferentes variáveis pelo método de diferença mínima significativa ($P < 0,05$).	41
6. Número médio de fêmeas, machos e ninfas de <i>Tibraca limbativentris</i> observados nas inspeções visuais em lavoura de arroz em Eldorado do Sul, RS, durante as safras de 2013/2014 e 2014/2015.	42

7. Número médio de fêmeas de *Tibraca limbativentris* capturadas por semana em armadilhas do tipo PET, iscadas com septos de borracha impregnados com quatro misturas de diastereoisômeros do zingiberenol, combinados 2 a 2: a) Z1 (3*S*,6*S*,7*R* + 3*R*,6*R*,7*R*); b) Z2 (3*R*,6*S*,7*R* + 3*S*,6*R*,7*R*); c) Z3 (3*S*,6*S*,7*S* + 3*R*,6*R*,7*S*); d) Z4 (3*R*,6*S*,7*S* + 3*S*,6*R*,7*S*) e e) hexano em lavoura de arroz em Eldorado do Sul, RS, durante as safras de 2013/2014 e 2014/2015..... 44
8. Cromatogramas dos extratos de aeração de plantas de arroz submetidas a diferentes tratamentos entre 0 - 24 horas de aeração. Tratamentos AJ: ácido jasmônico nas concentrações 2 mM (A) e 5 mM (B); AS: ácido salicílico nas concentrações 8 mM (C) e 16 mM (D); Herbivoria: plantas submetidas à herbivoria de *Tibraca limbativentris* (E). Etanol: 1 mL etanol + 200 mL água destilada (F); controle: água destilada (G). Os números indicam os compostos: 1) Heptanal; 2) α -pineno; 3) 1-octen-3-ol; 4) Octanal; 5) 1-hexanol-2-etil; 6) Limoneno; 7) γ -terpineno; 8) Octanol; 9) Linalol; 10) Nonanal; 11) Salicilato de metila; 12) α -terpineol; 13) Indol; 14) α -bergamoteno; 15) Geranil acetona; 16) β -farneseno; 17) α -curcumeno; 18) β -bisaboleno; 19) β -sesquifelandreno; 20) α -zingibereno..... 64
9. Cromatogramas dos extratos de aeração de plantas de arroz submetidas a diferentes tratamentos entre 24 - 48 horas de aeração. Tratamentos AJ: ácido jasmônico nas concentrações 2 mM (A) e 5 mM (B); AS: ácido salicílico nas concentrações 8 mM (C) e 16 mM (D); Herbivoria: plantas submetidas à herbivoria de *Tibraca limbativentris* (E). Etanol: 1 mL etanol + 200 mL água destilada (F); controle: água destilada (G). Os números indicam os compostos 1) Heptanal; 2) α -pineno; 3) 1-octen-3-ol; 4) Octanal; 5) 1-hexanol-2-etil; 6) Limoneno; 7) γ terpineno; 8) Octanol; 9) Linalol; 10) Nonanal; 11) Salicilato de metila; 12) α -terpineol; 13) indol; 14) α -bergamoteno; 15) Geranil acetona; 16) β -farneseno; 17) α -curcumeno; 18) β -bisaboleno; 19) β -sesquifelandreno; 20) α -zingibereno..... 65
10. Primeira escolha (%) de fêmeas de *Tibraca limbativentris* em olfâmetro em Y a plantas de arroz previamente infestadas por fêmeas coespecíficas (herbivoria) ou tratadas com ácido jasmônico (AJ), ácido salicílico (AS), em diferentes concentrações e controle (etanol). Valores sobre as barras indicam o número de insetos responsivos e, entre parênteses, de não responsivos. Asterisco indica diferença significativa pelo teste de Qui-quadrado ($P < 0,05$). 69
11. Primeira escolha (%) de fêmeas de *Telenomus podisi* testadas em olfâmetro em Y a plantas de arroz previamente infestadas por fêmeas de *Tibraca limbativentris* (herbivoria) ou tratadas com ácido jasmônico (AJ), ácido salicílico (AS) em diferentes concentrações ou controle (etanol). Valores sobre as barras indicam o número de insetos responsivos e, entre parênteses, de não responsivos. Asterisco indica diferença significativa pelo teste de Qui-quadrado ($P < 0,05$). 70

12. Tempo médio de residência (s) de fêmeas de *Telenomus podisi* testadas em olfatômetro em Y em plantas de arroz previamente infestadas por fêmeas de *Tibraca limbativentris* (herbivoria) ou tratadas com ácido jasmônico (AJ), ácido salicílico (AS) em diferentes concentrações ou controle (etanol). Valores sobre as barras indicam o número de insetos responsivos e, entre parênteses, de não responsivos. Asterisco indica diferença significativa pelo teste de Wilcoxon ($P < 0,05$). 70
13. Primeira escolha (%) de fêmeas de *Telenomus podisi* testadas em olfatômetro em Y a plantas de arroz previamente infestadas por fêmeas de *Tibraca limbativentris* (herbivoria) ou tratadas com ácido jasmônico (AJ) e ácido salicílico (AS) em diferentes concentrações. Valores dentro das barras indicam o número de insetos responsivos e, entre parênteses, o de insetos não responsivos. Asterisco indica diferença significativa pelo teste de Qui-quadrado ($P < 0,05$). 71
14. Tempo médio de residência (s) de fêmeas de *Telenomus podisi* testadas em olfatômetro em Y a plantas de arroz previamente infestadas por fêmeas de *Tibraca limbativentris* (herbivoria) ou tratadas com ácido jasmônico (AJ) e ácido salicílico (AS) em diferentes concentrações. Valores sobre as barras indicam o tempo (s) de residência e, entre parênteses, o número de insetos não responsivos. Asterisco indica diferença significativa pelo teste de Wilcoxon ($P < 0,05$). 72
15. Cromatogramas dos extrtos de aeração de panículas de arroz de plantas aspergidas com etanol (controle) (A), herbivoria por cinco fêmeas de *Oebalus pugnax* (B), metil jasmonato 2 mM (C). Os números indicam os principais compostos identificados a partir de padrões autênticos 1) α -pineno; 2) (+)-3-careno; 3) β -pineno; 4) 1-hexanol-2-etil; 5) azuleno; 6) salicilato de metila. 92
16. Cromatogramas dos extratos de aeração de panículas de arroz de plantas aspergidas com metil jasmonato 5 mM (A), ácido salicílico 8 mM (B) e ácido salicílico 16 mM (C). Os números indicam os principais compostos identificados a partir de padrões autênticos 1) α -pineno; 2) (+)-3-careno; 3) β -pineno; 4) 1-hexanol-2-etil; 5) azuleno; 6) salicilato de metila..... 93
17. Flutuação populacional de *Oebalus pugnax* em parcelas de arroz irrigado em pré aplicação e após o tratamento com fitormônios em quatro estádios reprodutivos. MeJa (metil jasmonato); AS (ácido salicílico) e mM (milimolar). Crowley, LA, 2015. 97

1. CAPÍTULO I. INTRODUÇÃO

1.1 INTRODUÇÃO GERAL

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos cereais mais importantes do mundo, tanto em participação econômica quanto na alimentação humana. Um dos principais problemas fitossanitários diretamente relacionados a perda de produtividade da cultura é o ataque de pragas, em especial, dos percevejos. A espécie *Tibraca limbativentris* Stål, 1860 (Hemiptera: Pentatomidae) é um importante herbívoro da cultura na América do Sul e Central, enquanto *Oebalus pugnax* Fabricius, 1775 (Hemiptera: Pentatomidae) se destaca na América do Norte. O controle destas espécies é tradicionalmente feito com o uso de inseticidas químicos, muitas vezes de forma excessiva, o que pode levar a consequências indesejadas como o surgimento de pragas secundárias, resistência de insetos aos ingredientes ativos e morte de inimigos naturais, entre outros.

Ecologia química é ciência que estuda as interações mediadas por compostos químicos entre os seres vivos e vem trazendo novas alternativas para a defesa fitossanitária na agricultura. A utilização de feromônio sexual sintético para o monitoramento de pragas já é uma realidade em diversos sistemas, mas ainda indisponível para os percevejos do arroz. O método atualmente recomendado para monitorá-los nesta cultura é com rede de varredura, exigindo que o produtor caminhe periodicamente por todos os talhões da lavoura, o que demanda tempo e esforço. Desta forma, o desenvolvimento de iscas contendo feromônio sexual sintético destas espécies pode facilitar esta amostragem, dando maior precisão na detecção da praga e evitando intervenções desnecessárias.

Assim como os insetos, as plantas também produzem substâncias químicas que modulam as interações com outras espécies. Algumas substâncias agem na defesa, repelindo herbívoros e atraindo inimigos naturais, e a produção pode ser ativada com a utilização de fitormônios. Estes mecanismos, se melhor estudados, podem auxiliar na redução do uso de agrotóxicos, aumentando a sustentabilidade dos sistemas de produção.

Neste sentido, este trabalho objetivou estudar a ecologia química de pentatomídeos e parasitoides importantes na cultura do arroz, com ênfase na utilização de feromônio sexual sintético para monitoramento populacional de *T. limbativentris* e na indução de resistência de plantas de arroz a percevejos. Os objetivos específicos foram: a) avaliar a influência de diferentes isômeros do feromônio sexual sintético, zingiberenol, na atração de fêmeas de *T. limbativentris* em lavouras de arroz; b) avaliar em olfatômetro o efeito de diferentes estereoisômeros do zingiberenol sobre a atividade quimiotática de fêmeas de *T. limbativentris*; c) avaliar como os compostos voláteis de defesa do arroz tratado com ácido jasmônico ou ácido salicílico influenciam o comportamento de busca de fêmeas de *T. limbativentris* e de *Telenomus podisi* Ashmead, 1893 (Hymenoptera: Scelionidae) em laboratório; d) avaliar o efeito dos compostos voláteis de defesa do arroz tratado com metil jasmonato ou ácido salicílico sobre o desenvolvimento de *O. pugnax* em casa de vegetação; f) registrar, em parcelas de campo, o efeito da aplicação de metil jasmonato e ácido salicílico, na ocorrência de *O. pugnax*.

1.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.2.1 Cultura do arroz

O arroz é o segundo cereal mais cultivado no mundo e uma das culturas mais importantes para a alimentação humana. Compõe a base da dieta de mais da metade da população mundial, principalmente nos países em desenvolvimento. No mundo, mais de 3,5 bilhões de pessoas obtêm do arroz cerca de 20% das calorias consumidas diariamente (Seck *et al.*, 2012).

Na safra 2015/2016, o Brasil produziu 10,602 milhões de toneladas de arroz. O Rio Grande do Sul se destaca como maior produtor nacional, sendo responsável por aproximadamente de 70% do total produzido, seguido por Santa Catarina, com produção de 9% (CONAB, 2016).

Como todas as culturas agrícolas, o arroz tem o potencial de produção reduzido pela interferência de fatores bióticos como plantas invasoras, insetos herbívoros e microrganismos patogênicos (Savary *et al.*, 2012). Em levantamento feito em 19 regiões produtoras do cereal, distribuída nos cinco continentes, Oerke (2006) concluiu que a redução de produtividade devido ao ataque de insetos é, em média, de 15%, com potencial de redução de até 24%.

No Brasil, as perdas de produtividades por insetos e outros fitófagos que consomem arroz foram citadas entre 10 e 35% (Martins *et al.*, 2004). Dentre as principais pragas, destaca-se o percevejo-do-colmo *T. limbativentris*, tanto no sistema de produção

em terras baixas, irrigado por inundação, como de terras altas, também conhecido por sequeiro (Ferreira *et al.*, 1997).

Nas regiões arrozeiras da América Central, Caribe e América do Norte, *O. pugnax* é uma importante espécie praga que suga os grãos, desde a fase da antese até a maturação, causando perdas quantitativas e qualitativas na cultura (Pantoja *et al.*, 1995).

1.2.2 Percevejo-do-colmo na cultura do arroz

O percevejo-do-colmo é considerado uma praga importante na produção de arroz do Brasil, Argentina, Colômbia, Peru, Equador, República Dominicana e Venezuela (Pantoja *et al.*, 2007). No Brasil, esta espécie é uma das mais prejudiciais à cultura e pode atacar plantas desde o início da fase vegetativa até a fase de enchimento de grãos (SOSBAI, 2016).

Segundo Silva *et al.* (2004), sob condições controladas (temperatura em $26 \pm 1^\circ\text{C}$; umidade relativa do ar de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 horas) a duração total do ciclo de vida de *T. limbativentris* é de $62,5 \pm 7$ dias; o período de ovo dura $6,9 \pm 1,2$ dias com viabilidade de 89,8%. A fase ninfal tem duração média, em dias, de 5,5; 7,2; 10,4; 15,4; 19,8 para o primeiro ao quinto ínstar, respectivamente. De acordo com os autores, a duração de cada período pode variar em função das condições ambientais, especialmente a temperatura. Os machos atingem a maturidade sexual aos 11 e as fêmeas aos 14 dias.

Entre os meses de março e setembro, no estado do Rio Grande do Sul, o percevejo encontra-se em diapausa imaginal, hibernando em plantas de capim rabo-de-burro *Andropogon bicornis* L. (Poaceae) às margens das lavouras de arroz. Migram para as lavouras a partir do início de outubro, deixando completamente os sítios de hibernação até o mês de janeiro (Klein *et al.*, 2012).

Quando o ataque ocorre durante o desenvolvimento vegetativo, a folha central morre, sintoma chamado de “coração morto”. Quando ocorre na fase reprodutiva do arroz, o sintoma é a emissão de panícula branca, dada pela esterilidade total (ou em alta

porcentagem) de espiguetas. Se as infestações ocorrem no final da fase reprodutiva e início da fase de maturação, as perdas são maiores em termos qualitativos do que quantitativos, uma vez que há aumento no número de grãos quebrados e gessados (Costa & Link, 1992a).

É difícil constatar a ocorrência do inseto na lavoura, devido ao hábito de ficar abrigado entre os colmos, próximo ao solo, comportamento considerado característico da espécie durante a alimentação (Ferreira *et al.*, 1997). Nas horas mais quentes do dia, os percevejos encontram-se na parte superior das plantas, caindo facilmente com o movimento da vegetação, fato que também dificulta a sua visualização (Link *et al.*, 2005).

Outro aspecto que dificulta a constatação da ocorrência e o monitoramento do inseto é a distribuição espacial, estudada por diversos autores, mas sem consenso. Segundo Costa & Link (1992b), a distribuição espacial na lavoura durante a fase vegetativa é aleatória, mas com a aproximação da fase reprodutiva, passam a apresentar distribuição agregada. Já Silva *et al.* (2011) concluíram que ninfas e adultos têm distribuição agregada tanto na lavoura de arroz, durante o período de cultivo, quanto na resteva ou “soca” da lavoura, durante seu período hibernar. Alves (2012), por sua vez, concluiu que adultos e ninfas não ocupam os mesmos locais e que raramente apresentam padrão agregado. Pazini *et al.* (2015) afirmam que os insetos possuem forte dependência espacial, de forma que os agregados são muito próximos em uma lavoura.

Diversos trabalhos já foram desenvolvidos com o objetivo de controlar e/ou manejar o percevejo-do-colmo na cultura do arroz (Silva *et al.*, 2013; Panato *et al.*, 2013; Quintela *et al.*, 2013). O controle químico ainda é o método mais utilizado, principalmente pela praticidade e baixo custo dos produtos utilizados por via aérea (Martins *et al.*, 2009). Entretanto, frequentemente as pulverizações não matam ninfas e

adultos na base dos colmos, de forma que, muitas vezes, apenas oneram a produção e causam desequilíbrio ambiental (Alves, 2012).

O manejo de pragas requer práticas que possam controlar as populações reduzindo ao mínimo os riscos ao ambiente e à saúde humana. O controle biológico, com o fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* Metchnikoff (Rampelotti-Ferreira *et al.*, 2007; Quintela *et al.*, 2013), parasitoides de ovos (Idalgo *et al.*, 2013; Tognon *et al.*, 2013) e demais inimigos naturais da praga (Farias *et al.*, 2012) são alternativas cada vez mais estudadas. A utilização de variedades resistentes ainda não é uma realidade, existindo apenas estudos incipientes (Souza *et al.*, 2008; 2009).

1.2.3 Percevejo-do-grão na cultura do arroz

Duas espécies de percevejo atacam os grãos na fase leitosa da cultura do arroz. Na América do Sul e América Central, *Oebalus poecilus* Dallas, 1851 (Hemiptera: Pentatomidae) é a de maior importância; já nas lavouras de arroz na região sul dos Estados Unidos, o percevejo-do-grão *O. pugnax* é a que mais se destaca. É uma espécie polífaga, que durante o inverno hiberna na forma adulta em áreas de gramíneas e matas espontâneas. Quando as panículas de arroz são emitidas, procuram as lavouras e passam a se alimentar dos grãos, causando redução de produtividade (McPherson & McPherson, 2000).

A fase de ovo dura de 5 a 6 dias. O período ninfal passa por cinco ínstar e varia de 49, 35, 28 e 23 dias, nas temperaturas de 21, 24, 27 e 30 °C, respectivamente. Machos vivem em média 43 dias e fêmeas, 68 (Naresh & Smith, 1983). Apenas uma geração se desenvolve sobre o arroz durante o cultivo principal, em função do curto tempo entre o florescimento e a maturação de grãos (aproximadamente 30 dias). Entretanto, uma ou mais podem se desenvolver durante o cultivo da soca, que costuma ser de maturação desuniforme (Way & Bowling, 1991).

Durante a alimentação, o percevejo pode remover completamente o conteúdo dos grãos, tornando-os grãos vazios, ou parcialmente, deixando-os deformados, atrofiados e com menor massa (Swanson & Newsom, 1962). Além disso, devido a introdução de microrganismos durante a alimentação, *O. pugnax* causa a descoloração dos grãos, conhecidos por grãos manchados e picados, podendo também aumentar a porcentagem de quebra durante o beneficiamento (Espino *et al.*, 2007).

É durante as duas primeiras semanas após a antese que o arroz é mais suscetível ao percevejo-do-grão. Em um estudo sobre a avaliação do dano, o número de espiguetas vazias foi maior quando a infestação ocorreu no início do estágio de grão leitoso, até oito dias após a antese; o peso médio de espiguetas foi maior na medida em que o início da infestação foi atrasado e o número médio de grãos manchados e picados foi maior quando a infestação ocorreu entre 13 e 17 dias após a antese (Patel *et al.*, 2006).

Pouco esforço foi destinado ao desenvolvimento de estratégias de controle que não sejam baseadas em inseticidas, por várias razões; o curto período de suscetibilidade do arroz (aproximadamente 30 dias entre o florescimento e a colheita), a alta mobilidade do inseto e o baixo custo do controle químico (Patel *et al.*, 2006).

1.2.4 Comunicação química

Insetos exercem suas relações ecológicas com o ambiente e com outros organismos de várias maneiras, sendo uma das mais importantes a comunicação por meio de compostos químicos (semioquímicos), os quais atuam como gatilhos fisiológicos de reações comportamentais específicas. É através da percepção e emissão destes sinais que os insetos encontram parceiros para acasalamento, alimento, escolhem local de oviposição, se defendem contra predadores e organizam suas comunidades. Os semioquímicos são classificados como feromônios quando mediam a comunicação intraespecífica, e aleloquímicos, quando atuam nas interações interespecíficas (Zarbin *et al.*, 2009).

1.2.4.1 Feromônios - Insetos reconhecem diferentes tipos de feromônios que produzem variadas respostas comportamentais. Os mais estudados são o sexual, de agregação, de alarme e de trilha (Jurenka, 2004). Podem ser utilizados no manejo de insetos de três formas: 1) detecção de insetos e monitoramento da população; 2) coleta massal e 3) confusão sexual ou disrupção do acasalamento (Witzgall *et al.*, 2010). Esta última tem sido a técnica mais comum de uso de semioquímicos para controle de população de insetos (Witzgall *et al.*, 2008).

Tibraca limbativentris teve o feromônio sexual identificado por Borges *et al.* (2006). Os autores constataram a presença de dois isômeros de um sesquiterpeno como compostos específicos de machos, denominados zingiberenol. Como zingiberenol possui três centros quirais, existem oito isômeros, ou seja, quatro pares de diastereoisômeros. A síntese não seletiva desses compostos produziu dois grupos de isômeros, o 1'R, constituído dos diastereoisômeros (3R, 6R, 7R) (3S, 6R, 7R) (3R, 6S, 7R) (3S, 6S, 7R) e o 1'S, constituído dos diastereoisômeros (3R, 6R, 7S) (3R, 6S, 7S) (3S, 6R, 7S) (3S, 6S, 7S) (Figura 1).

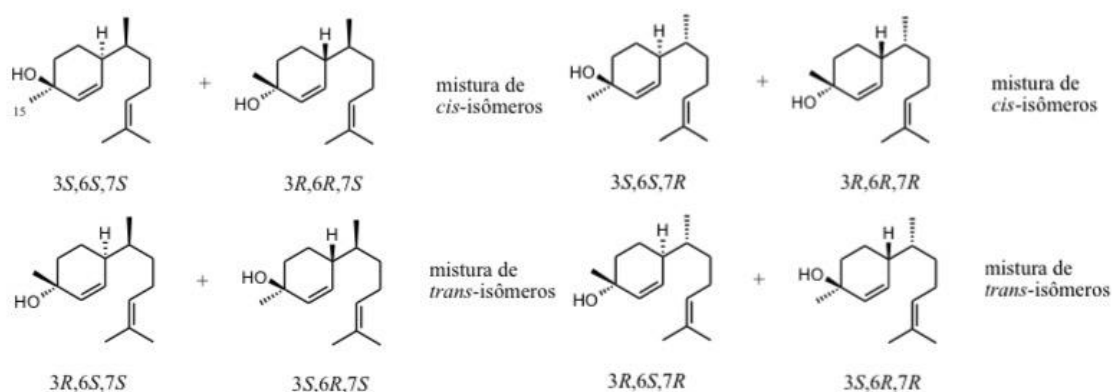


Figura 1. Oito diastereoisômeros possíveis da molécula zingiberenol (Borges *et al.*, 2006)

Bioensaios de olfatométrica realizados em condições controladas evidenciaram que ambos os compostos são atrativos às fêmeas, porém houve uma resposta maior para 1' S

zingiberenol. Contudo, a configuração absoluta dos componentes produzidos pelo inseto ainda não foi elucidada (Borges *et al.*, 2006; Machado, 2015).

Recentemente, (1*R*, 4*R*, 1'*S*)-zingiberenol foi identificado como o feromônio sexual de *O. poecilus*, liberado também pelos machos. Ensaios de olfatométrica confirmaram a atratividade de fêmeas para este isômero e à mistura racêmica (Oliveira *et al.*, 2013). Outras espécies de Pentatomidae que tiveram seu feromônio sexual identificado foram: *Podisus maculiventris* Say, 1832 (Aldrich *et al.*, 1984; Borges & Aldrich, 2001), *Nezara viridula* L., 1758 (Baker *et al.*, 1987; Aldrich, 1987), *Euschistus heros* Fabricius, 1794 (Borges *et al.*, 1998), *Piezodorus guildinii* Westwood, 1837 (Zarbin *et al.*, 2000; Borges *et al.*, 2007), *Acrosternum aseadum* Rolston, 1983 (Aldrich *et al.*, 1984), *Thyanta perditor* Fabricius, 1794 (Moraes *et al.*, 2005a), *Chinavia ubica* Rolston, 1983 e *Chinavia impicticornis* Stål, 1872 (Blassioli-Moraes *et al.*, 2012) e *Edessa meditabunda* Fabricius, 1794 (Zarbin *et al.*, 2012).

1.2.4.2 Aleloquímicos - Semioquímicos que medeiam a comunicação entre indivíduos de espécies diferentes são chamados de aleloquímicos e, segundo Dicke & Sabelis (1988), podem ser classificados em: cairomônios, que beneficiam o receptor do sinal, em detrimento do emissor; alomônios, que beneficiam o emissor, em detrimento do receptor; e sinomônios, que beneficiam os dois organismos. Plantas que sofreram herbivoria sintetizam e emitem aleloquímicos que podem deter a alimentação e oviposição da espécie fitófaga, atrair seus predadores e parasitoides e sinalizar às plantas vizinhas a iminente herbivoria (Arimura *et al.*, 2000; Howe & Jander, 2008).

A atração de parasitoides por voláteis de plantas que sofreram herbivoria é um fenômeno bem estudado em algumas espécies. Os parasitoides associam o odor emitido pelas plantas com a presença de seus hospedeiros, o que promove o efeito de defesa indireta da planta emissora (Kessler & Baldwin, 2001; Dicke & Hilker, 2003; Yuan *et al.*, 2008; Conti *et al.*, 2010).

1.2.5 Defesa das plantas

Durante o processo coevolutivo com os insetos, as plantas desenvolveram uma ampla gama de mecanismos de defesa para conter o ataque dos herbívoros, sendo estas categorizadas como constitutivas (pré-formadas) e induzidas. As defesas constitutivas são barreiras químicas e/ou físicas que as plantas possuem mesmo sem estarem expostas ao ataque de herbívoros, enquanto as induzidas são ativadas após o ataque de insetos (Karban & Baldwin, 1997). Tanto as defesas constitutivas como as induzidas podem ter ação direta ou indireta sobre herbívoro (Karban & Chen, 2007).

Defesa direta das plantas é o conjunto de características que afeta negativamente a fisiologia ou o comportamento de insetos herbívoros (Dicke & Baldwin, 2010). É manifestada através da proteção mecânica, por ceras, pêlos, tricomas e espessamento das folhas, ou química, pelas substâncias produzidas pelo metabolismo secundário vegetal, que impedem ou retardam o desenvolvimento dos insetos (como terpenoides, alcaloides, antocianinas, fenóis e quinonas) (War *et al.*, 2012). Atua sobre a preferência, sobrevivência ou sucesso reprodutivo do inseto na planta (Smith & Boyka, 2006; War *et al.*, 2012).

Defesas indiretas são definidas por Dicke & Baldwin (2010) como o conjunto de características que aumenta a eficiência de inimigos naturais de insetos, como a emissão de voláteis induzidos pelo ataque de herbívoros. Em algumas espécies, a produção de maior volume de néctar floral é uma estratégia para aumentar a atração de parasitoides e predadores (War *et al.*, 2012). A maioria das estratégias, entretanto, é baseada na emissão de compostos voláteis produzidos pelo metabolismo secundário vegetal (Yuan *et al.*, 2008; War *et al.*, 2012; Chen *et al.*, 2013).

1.2.5.1 Defesas constitutivas - Em arroz, a composição da camada de cera superficial é apontada como uma estratégia de defesa física constitutiva de ação direta contra insetos (Chen *et al.*, 2013). Ao estudar o efeito do silício nesta camada superficial,

Nakata *et al.* (2008) demonstraram que o dano pela lagarta-enroladora-da-folha *Cnaphalocrocis medinalis* Guenée, 1854 (Lepidoptera: Pyralidae) e pela lagarta-verde-do-arroz *Naranga aenescens* Moore, 1881 (Lepidoptera: Noctuidae) foi maior em folhas do mutante *low silicon rice 1* em relação as cultivares selvagens, com acúmulo normal do mineral. Outros componentes da cera também servem como repelentes a insetos; em cultivares asiáticas de arroz, a cigarrinha-marrom *Nilaparvata lugens* Stål, 1854 (Hemiptera: Delphacidae) preferiu alimentar-se da cultivar IR46, que acumula menor quantidade de carbonila na camada superficial (Woodhead & Padgham, 1988).

1.2.5.2 Defesas induzidas - Defesas induzidas das plantas podem ser influenciadas por diversos fatores, tais como a espécie do herbívoro que realiza a injúria, a presença de diferentes espécies fitófagas em uma mesma planta, o hábito alimentar do inseto (mastigador ou sugador) e o estágio fisiológico e espécie de hospedeiro (Dicke & Hilker, 2003; Fatouros *et al.*, 2005; Moraes *et al.*, 2005b; Chen, 2008).

A produção de defesas induzidas consiste de três passos: percepção, transdução e produção (Ferry *et al.*, 2004). Na primeira etapa, as plantas reconhecem o ataque dos insetos através de sinais específicos, como indutores presentes nas glândulas salivares. Esses sinais ativam uma série de rotas químicas que fazem parte do metabolismo secundário de plantas (transdução), levando a produção de compostos que estão relacionados, principalmente, a interações bi e tritróficas. As defesas induzidas são mais vantajosas para as plantas, uma vez que a sua ativação tem um custo energético menor do que o acúmulo de características de defesa constitutivas (Karban *et al.*, 1997; Baldwin, 1998).

Duas rotas metabólicas têm recebido atenção particular. A primeira rota envolve o composto fenólico ácido salicílico, o qual é, geralmente, associado com o ataque de patógenos do tipo biotróficos e de artrópodos fitossuccívoros (Durrant & Dong, 2004; Thatcher *et al.*, 2005). A segunda rota é mediada pelo ácido jasmônico e outras oxilipinas

e tem sido associada ao ataque de herbívoros mastigadores e patógenos necrotróficos (Turner *et al.*, 2002; Gfeller & Farmer, 2004).

Dependendo do hábito alimentar e da quantidade de tecido danificado no local da alimentação, a planta responde com a ativação de uma determinada rota (Walling, 2000). Insetos mastigadores, como lagartas, causam extensiva ruptura celular, o que tem grande importância na percepção da planta. Perfis de transcrição induzidos pela alimentação de lagartas mostram sobreposição nos perfis envolvidos em danos mecânicos (Reymond *et al.*, 2000). De forma contrária, insetos sugadores rompem pequena área de tecido da planta e chegam ao floema de forma intercelular, minimizando a área de dano mecânico (Thompson & Goggin, 2006). Hormônios vegetais desempenham papel fundamental na ativação dos mecanismos de defesa e a maioria das respostas à herbivoria são ativadas por sinais mediados pelo ácido jasmônico e ácido salicílico (Gill *et al.*, 2010; Shivaji *et al.*, 2010).

Uma vez que a defesa das plantas é ativada pelo ataque de insetos, a aptidão desenvolvida permanece beneficiando a planta em ataques subsequentes (Anderson *et al.*, 2005; Agrawal, 2011). Em duas cultivares americanas de arroz, Jackson e Rosemont, a herbivoria por larvas de *Spodoptera frugiperda* Smith, 1797 (Lepidoptera: Noctuidae) no desenvolvimento inicial tornou as plantas mais resistentes ao ataque posterior de *Lissorhoptrus oryzophilus* Kuschel, 1951 (Coleoptera: Curculionidae) (Hamm *et al.*, 2010). O número de larvas de 1º instar de *L. oryzophilus* foi reduzido em mais de 50% para as duas cultivares, e na cultivar Jackson, o número de ovos por planta diminuiu, em média, de quatro para menos de dois.

Stout *et al.* (2009) também comprovaram o efeito sistêmico da indução de defesa direta na planta de arroz. Em experimento conduzido em gaiolas, plantas com três folhas foram submetidas à alimentação de lagartas de *S. frugiperda* até a remoção de 80% da área foliar. Após 11 a 14 dias, a 4ª e 5ª folha das plantas previamente danificadas e do

tratamento controle foram removidas e fornecidas para a alimentação de lagartas. A taxa de crescimento relativo das lagartas alimentadas com as folhas de plantas previamente danificadas foi 0,22 g/dia, menor do que as alimentadas com folhas do tratamento controle, que foi de 0,53 g/dia.

Defesas induzidas indiretas em arroz foram estudadas na interação da planta com a cigarrinha-marrom *N. lugens* e seu inimigo natural *Anagrus nilaparvatae* Pang et Wang, 1985 (Hymenoptera: Mymaridae), um parasitoide de ovos (Lou *et al.*, 2005a; 2006). Em experimentos de olfatometria, as fêmeas do parasitoide foram atraídas por plantas durante a alimentação de fêmeas e ninfas da cigarrinha e também por plantas previamente infestadas, mas sem o inseto. Os voláteis responsáveis pela atração foram liberados não apenas pela folha atacada pelos herbívoros, mas por folhas mais jovens e mais velhas (Lou *et al.*, 2005a). Em um estudo comparando seis cultivares de arroz de importância na Ásia, Lou *et al.* (2006), concluíram que existe diferença na composição dos voláteis, e que algumas cultivares podem ser mais atrativas ao parasitoide.

Posturas tratadas com o extrato de plantas de arroz atacadas por *Scirpophaga incertulas* Walker, 1863 (Lepidoptera: Pyralidae) atraíram mais o parasitoide de ovos *Trichogramma japonicum* Ashmead, 1904 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) do que posturas tratadas com extratos de plantas não injuriadas pelo herbívoro. A análise dos extratos, em cromatografia gasosa, mostrou diferenças quantitativas e qualitativas na composição, evidenciando a presença de um sinônimo que serve como pista química para o parasitoide (Usha Rani & Sandhyarani, 2012).

A atratividade de extratos de plantas de arroz atacadas por lagarta-da-folha *S. frugiperda* sobre o parasitoide *Cotesia marginiventris* Cresson, 1865 (Hymenoptera: Braconidae) foi estudada em olfatômetro de dupla escolha. Os autores observaram que 89,7% das fêmeas do parasitoide escolheram o extrato de plantas atacadas. Essas

emitiram 28 compostos a mais do que as plantas controle, sendo o sesquiterpeno zingibereno foi o mais abundante (Yuan *et al.*, 2008).

1.2.5.3 Metabólitos secundários de vegetais - Metabolismo secundário é o conjunto de rotas metabólicas que produz compostos não ligados aos processos essenciais para crescimento e desenvolvimento da planta, como fotossíntese, respiração, transporte de solutos, etc. Estas rotas metabólicas produzem compostos ligados à defesa das plantas em situações de estresse, tanto biótico quanto abiótico. Temperaturas extremas, excesso de radiação UV, compostos tóxicos no solo e na água são exemplos de estresses abióticos que desencadeiam a produção destas substâncias (Chen *et al.*, 2013).

Entretanto, a principal função dos metabólitos secundários é a produção de compostos para defesa química contra patógenos e herbívoros. Estudos sobre os mecanismos de produção destes compostos mostram que estes podem ser desencadeados por indutores específicos dos herbívoros, que ativam rotas de sinalização e desencadeiam a atividade de genes relacionados à defesa das plantas (Kessler & Baldwin, 2001). Conjugados de ácidos graxos e aminoácidos são os grupos de indutores mais conhecidos na saliva de insetos mastigadores. A volicitina foi o primeiro indutor identificado, em *Spodoptera exigua* Hubner, 1808 (Lepidoptera: Noctuidae) e seu efeito na rota do ácido jasmônico já foi comprovado. Os indutores de insetos sugadores, por sua vez, ainda não foram elucidados (Wu & Baldwin, 2010).

1.2.5.3.1 Ácido jasmônico - A rota de produção do ácido jasmônico foi elucidada nos anos 80 (Vick & Zimmerman, 1983; 1984; 1986). Este é produzido a partir do ácido linolênico, que é oxigenado por uma lipoxigenase (LOX) para produzir o ácido (13) – hidroperóxido-octadecatrienóico (13-HPOT) nos cloroplastos. O 13-HPOT é convertido a uma ciclopentanona, o ácido oxo-fitodienoico, por atividade da aleno óxido sintase. Estas ciclopentanonas deixam o cloroplasto e funcionam como moléculas sinalizadoras no citosol ou se convertem a oxo-pentenil-ciclopentanos (OPC), que também podem agir

como moléculas sinalizadoras no citosol. O OPC é metabolizado nos peroxissomos, nos quais ocorre a redução e β -oxidação com formação de ácido jasmônico. Este deixa o peroxissomo e pode ser metilado no citosol para formar metil jasmonato, podendo agir como moléculas sinalizadoras no citosol, ativar a transcrição de genes relacionados à defesa no núcleo ou serem inativados.

Estudos realizados em campo e em laboratório comprovam a função que jasmonatos têm na defesa de plantas contra herbívoros. (Tao *et al.*, 2003; Demkura *et al.*, 2010; Qiu *et al.*, 2012). Kessler *et al.* (2004) transformaram plantas de fumo (*Nicotiana attenuata* Torr. Ex Watson), silenciando três genes envolvidos na rota de produção de jasmonatos e concluíram que estas linhagens tiveram menor produção de metabólitos secundários e menor resistência ao ataque de larvas de *Manduca sexta* L., 1763 (Lepidoptera: Sphingidae). As larvas alimentadas em linhagens transformadas foram mais pesadas que as alimentadas na planta controle e a desfolha em uma das linhagens modificadas foi de 8%, enquanto que na planta controle foi de 1%. Estudos com microarranjo de DNA mostram que, em várias espécies vegetais, a rota dos jasmonatos tem papel dominante na regulação da expressão de genes em resposta a danos mecânicos ou à herbivoria (Ralph *et al.*, 2006a, 2006b).

Recentemente, a aplicação exógena de jasmonatos vem sendo vista como alternativa para aumentar a defesa induzida de plantas contra insetos herbívoros. Em plantas de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill), a aplicação de jasmonatos aumentou a atividade de enzimas inibidoras de proteases, polifenol oxidases, lipoxigenase oxidativas (LOX) e peroxidases, não apenas nas folhas aspergidas, mas também em folhas adjacentes (Thaler *et al.*, 1996). Segundo os autores, o mesmo foi constatado quando o tomateiro foi exposto à herbivoria por larvas de *Helicoverpa zea* Boddie, 1850 (Lepidoptera: Noctuidae), sendo que larvas alimentadas em plantas tratadas com jasmonato tiveram menor desenvolvimento que as que se alimentaram em tomates

não tratados. Em experimentos em laboratório, plantas de *N. attenuata* com genes da rota de produção de jasmonatos silenciados tiveram a defesa contra herbívoros recuperada quando receberam aplicação exógena do composto (Halitschke *et al.*, 2004).

No arroz, a aplicação exógena de jasmonatos tem se mostrado como alternativa eficiente para aumentar a resistência a insetos. Senthil-Nathan *et al.* (2009) avaliaram a biologia e o desenvolvimento de cigarrinhas *N. lugens* em plantas tratadas com ácido jasmônico e concluíram que seis dias após a aplicação dos tratamentos, a sobrevivência de ninfas em plantas tratadas com 2,5 mM de ácido jasmônico caiu de 85 para 55%, e em plantas tratadas com 5 mM diminuiu para menos de 15%. Em adultos, aos 12 dias após a aplicação dos tratamentos, a sobrevivência foi reduzida de 60 para 20% no tratamento 2,5 mM de ácido jasmônico e para menos de 5% no tratamento 5mM. A eclosão de ninfas da cigarrinha também foi afetada, diminuindo de 80% no controle para 67% no tratamento 5 mM. Segundo os autores, houve deformidades nos insetos que se desenvolveram em plantas tratadas com este indutor.

Stout *et al.* (2009) submeteram cinco cultivares americanas de arroz ao tratamento com uma solução 2mM de ácido jasmônico e expuseram os mesmos a lagartas de *S. frugiperda*. Os resultados deste estudo evidenciaram uma redução média de 19,2% na taxa de crescimento destes insetos em relação aos que se alimentaram nas plantas controle. O estudo desenvolvido por Hamm *et al.* (2010) mostrou que a aplicação de ácido jasmônico, assim como a herbivoria por *S. frugiperda*, induziu a defesa de plantas, diminuindo a oviposição de *L. oryzophilus*.

Ácido jasmônico também é um importante sinalizador na ativação das defesas indiretas da planta (Howe & Jander, 2008; Hare, 2011). Plantas de arroz pulverizadas com solução 1 e 10 mM do fitormônio foram mais atrativas ao parasitoide *A. nilaparvatae* que plantas controle em olfatométria. Em campo e em casa de vegetação, a taxa de parasitismo de ovos de *N. lugens* em plantas tratadas foi superior às de plantas

não tratadas (Lou *et al.*, 2005b). Em cromatografia gasosa, dos 15 compostos identificados, 12 foram liberados em quantidade superior no tratamento 10 mM de ácido jasmônico em relação ao tratamento controle.

1.2.5.3.2 Ácido salicílico - O ácido salicílico é um composto fenólico presente no metabolismo de ampla gama de espécies vegetais. Este hormônio participa em diversos processos no metabolismo vegetal, como germinação, fotossíntese, respiração, crescimento e florescimento (Raskin, 1992). A função mais estudada é seu papel na produção de respostas locais e sistêmicas contra agentes patogênicos mas, recentemente, foi observado que este composto é importante sinal regulatório a estresses abióticos também, como o hídrico, contaminação por metais pesados, calor e estresses osmóticos (Vicente & Plasencia, 2011).

O nível basal de ácido salicílico varia muito entre espécies vegetais. Em *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana* Thale Cress), a concentração de ácido salicílico é menor do que 100 ng g^{-1} , enquanto que em arroz a concentração é de 5.000 a 30.000 ng g^{-1} em peso fresco. Após a infecção por patógeno ou a percepção de algum estresse, o nível de ácido salicílico e seus conjugados aumentam significativamente (Yang *et al.*, 2004).

Segundo Kaloshian & Walling (2005), as respostas das plantas a alimentação de hemípteros são sobrepostas às respostas ao ataque de patógenos, comprovadas por análises de conformação de RNA e emissão de voláteis. A forma mais estudada de resistência a patógenos é a reação de hipersensibilidade, uma forma de morte de células programada (Laloi *et al.*, 2004). Como os hemípteros alimentam-se nos tecidos vasculares e inserem seu aparelho bucal entre as células, causando pequeno dano ao tecido, as plantas não ativam as mesmas respostas que ao dano mecânico, mas reagem com respostas típicas ao ataque por patógenos (Gatehouse, 2002).

Para investigar se insetos sugadores ativam as mesmas defesas que mastigadores na planta de arroz, Zhou *et al.* (2009) silenciaram o gene *OsHi-LOX*, envolvido na rota de

produção de ácido jasmônico. A linhagem silenciada, *as-LOX* e a linhagem selvagem, WT, foram submetidas a alimentação de larvas de *Chilo suppressalis* Walker, 1863 (Lepidoptera: Pyralidae), de *C. medinalis* e de fêmeas grávidas da cigarrinha-marrom *N. lugens*. As larvas de lepidópteros tiveram maior desenvolvimento na linhagem *as-LOX*, mostrando que a inibição da rota do ácido jasmônico diminui a resistência a mastigadores. Entretanto, as plantas *as-LOX* foram mais resistentes ao ataque da cigarrinha; as fêmeas foram observadas alimentando-se com mais frequência e por mais tempo nas plantas selvagens, onde também realizaram mais posturas e produção de *honeydew*, já as ninfas tiveram maior taxa de sobrevivência na linhagem WT. Além dos parâmetros medidos nos insetos, os autores observaram que nas plantas *as-LOX*, sete dias após a alimentação das cigarrinhas, as puncturas haviam evoluído para grandes manchas de tecido morto, enquanto as plantas WT apresentavam pequenas manchas marrons. Esta semelhança à resposta de RH sugere que a infestação da cigarrinha-marrom resulta em morte programada de células pelas plantas *as-LOX*. Estas tiveram maior concentração de ácido salicílico nos tecidos após a infestação do hemíptero. Os possíveis fatores que aumentaram a resistência a insetos sugadores em plantas deficientes em jasmonatos são o aumento da produção de ácido salicílico ou peróxido de hidrogênio (H₂O₂), morte programada de células ou combinação dos dois fatores.

Outro estudo realizado em arroz mostra que infestação prévia por *Sogatella furcifera* Horváth, 1899 (Hemiptera: Delphacidae) induziu a resistência ao fungo causador da brusone, *Magnaporthe oryza* B.Couch (Kanno *et al.*, 2012). Os autores sugerem que o aumento da concentração de ácido salicílico no tecido das plantas pode estar relacionado à herbivoria do hemíptero, induzindo a resistência ao fungo. Em *Arabidopsis*, a senescência da folha, modulada pelo gene regulado pelo ácido salicílico *PHYTOALEXIN DEFICIENT4*, foi correlacionada com o aumento da resistência ao afídeo *Myzus persicae* Sulzer, 1776 (Hemiptera: Aphididae) (Pegadaraju *et al.*, 2005).

Plantas de amendoim tratadas com solução 1mM de ácido salicílico tiveram a atividade de enzimas como a PAL (fenilalanina amonio liase) e APX (ascorbato peroxidase) aumentadas, o que causou maior resistência à herbivoria de larvas de *Helicoverpa armigera* Hubner, 1809 (Lepidoptera: Noctuidae) (War *et al.*, 2015). Já para o tomateiro, o tratamento com solução 100 μ M de ácido salicílico não aumentou a mortalidade de cinco pragas da cultura: *Spodoptera litura* Fabricius, 1775, *Spodoptera exigua* Hübner, 1808 (Lepidoptera: Noctuidae), *Tetranychus urticae* Koch, 1836 (Acari: Tetranychidae), *Frankliniella occidentalis* Pergande, 1895 (Thysanoptera: Thripidae) e *Liriomyza sativae* Blanchard, 1983 (Diptera: Agromyzidae) (Kawazu *et al.*, 2012). Plantas de arroz da cultivar Nipponbare com a rota de produção do ácido salicílico silenciada foram usadas para avaliar a indução de resistência em plantas submetidas à pulverização de ácido jasmônico, através da taxa de crescimento de larvas de *S. frugiperda*. Os autores observaram que o efeito de redução na taxa de crescimento das larvas foi maior nas plantas incapazes de produzir o ácido salicílico, evidenciando a interação que existe entre as rotas metabólicas (Stout *et. al.*, 2009).

1.3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRAWAL, A. A. Current trends in the evolutionary ecology of the plant. **Functional Ecology**, Oxford, v. 25, n. 2, p. 420-432, 2011.
- ALDRICH, J.R.; KOCHANSKY, J.P.; ABRAMS, C.B. Attractant for a beneficial insect and its parasitoids: Pheromone of the predatory spined soldier bug, *Podisus maculiventris* (Hemiptera: Pentatomidae). **Environmental Entomology**, Oxford, v. 13, n. 4, p. 1031-1036, 1984.
- ALDRICH, J.R. Biologically Active Natural Products. In: Chemistry and Biological Activity of Pentatomoid Sex Pheromones. Beltsville, MD: Department of Agriculture, 1987. cap. 28. p. 417-431. (ACS Symposium Series, 380).
- ALVES, T. M. **Distribuição espacial do percevejo-do-colmo (*Tibraca limbativentris* Stal) em arroz irrigado**. 2012. 55 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Programa de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
- ANDERSON, J. P.; THATCHER, L. F.; SINGH, K. B. Plant defense responses: conservation between models and crops. **Functional Plant Biology**, Victoria, Australia, v. 32, n. 1, p. 21-34, 2005.
- ARIMURA, G. *et al.* Herbivory-induced volatiles elicit defence genes in lima bean leaves. **Nature**, London, v. 406, n. 6795, p. 512-515, 2000.
- BAKER, R. *et al.* Identification and synthesis of (Z)-(1'S,3'R,4'S)(-)-2-(3',4'-epoxy-4'-methylcyclohexyl)-6-methylhepta-2,5-diene, the sex pheromone of the southern green stinkbug, *Nezara viridula* (L.). **Chemical Communications**, Cambridge, n. 6, p. 414-416, 1987.
- BALDWIN, I. T. Jasmonate-induced responses are costly but benefit plants under attack in native populations. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 95, n. 14, p. 8113-8118, 1998.
- BLASSIOLI-MORAES, M. C. *et al.* Sex pheromone communication in two sympatric neotropical stink bug species *Chinavia ubica* and *Chinavia impicticornis*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 38, n. 7, p. 836-845, 2012.

BORGES, M. *et al.* Field responses of stink bugs to the natural and synthetic pheromone of the Neotropical brown stink bug, *Euschistus heros*, (Heteroptera: Pentatomidae). **Physiological Entomology**, Oxford. v. 23, n. 3, p. 202-207, 1998.

BORGES, M.; ALDRICH, J. R. Feromônio de Heteroptera: Oportunidades para o manejo de Insetos benéficos, 93-98 p. In: E. F. VILELA, E. F.; DELLA, LÚCIA, T. M. C. (Ed.). **Feromônios de Insetos: Biologia, química e emprego no manejo de pragas**. 2nd. ed. Ribeirão Preto: Holos Editora, 2001. 206 p.

BORGES, M. *et al.* Sex attractant pheromone from the rice stalk stink bug, *Tibraca limbativentris* Stal. **Journal of Chemical Ecology**, New York. v. 32, n. 12, p. 2749-2761, 2006.

BORGES, M. *et al.* A male-produced sex pheromone from the neotropical redbanded stink bug, *Piezodorus guildinii* (W.). **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 33, n. 6, p. 1235-1248, 2007.

CHEN, M. Inducible direct plant defense against insect herbivores: A review. **Insect Science**, Beijing, v. 15, n. 2, p. 101-114. 2008.

CHEN, H. *et al.* Genetic, molecular and genomic basis of rice defense against insects. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Boca Raton, v. 31, n. 1, p. 74-91, 2013.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos, quinto levantamento, fevereiro 2016**. Brasília: CONAB, 2013. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_02_04_11_21_34_bol_etim_graos_fevereiro_2016_ok.pdf>. Acesso em: 25 fev. 2016.

CONTI, E. *et al.* Short-range allelochemicals from a plant-herbivore association: a singular case of oviposition-induced synomone for an egg parasitoid. **The Journal of Experimental Biology**, Cambridge, v. 213, p. 3911-3919, 2010.

COSTA, E. C.; LINK, D. Avaliação de danos de *Tibraca limbativentris* Stal, 1860 (Hemiptera, Pentatomidae) em arroz irrigado. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Porto Alegre, v. 21, n. 1, p. 187-195, 1992a.

COSTA, E. C.; LINK, D. Dispersão de *Tibraca limbativentris* Stal, 1860 (Hemiptera, Pentatomidae) em arroz irrigado. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina. v. 21, n. 1, p. 197-102, 1992b.

DEMKURA, P. *et al.* Jasmonate-dependent and -independent pathways mediate specific effects of solar ultraviolet B radiation on leaf phenolics and antiherbivore defense. **Plant Physiology**, Rockville, v. 152, n. 2, p. 1085-1095, 2010.

DICKE, M.; BALDWIN, I. T. The evolutionary context for herbivory-induced plant volatiles: beyond the 'cry for help'. **Trends in Plant Science**, New York, v. 15, n. 3, p. 167-175, 2010.

DICKE, M.; HILKER, M. Induced plant defences: from molecular biology to evolutionary ecology. **Basic and Applied Ecology**, Berlin, v. 4, n. 1, p. 3-14, 2003.

DICKE, M. SABELIS, M.W. Infochemical terminology: based on cost-benefit analysis rather than origin of compounds. **Functional Ecology**, Oxford, v. 2, n. 2, p. 131-139, 1988.

DURRANT, W. E.; DONG, X. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 42, p. 185-209, 2004.

ESPINO, L.; WAY, M. O.; OLSON, J.K. Most susceptible stage of rice panicle development to *Oebalus pugnax* (Hemiptera: Pentatomidae). **Journal of Economic Entomology**, Oxford, v. 100, n. 4, p. 1282-1290, 2007.

FARIAS, P. M. D. *et al.* Tachinid Flies Associated with *Tibraca limbativentris* (Hemiptera: Pentatomidae). **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 95, n. 1, p. 221-223, 2012.

FATOUROS, N. E. *et al.* Herbivore-induced plant volatiles mediate in-flight host discrimination by parasitoids. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 31, n. 9, p. 2033-2040, 2005.

FERREIRA, E. *et al.* **O percevejo-do-colmo na cultura do arroz**. Goiânia: EMBRAPA-CNPAP, 1997. 43 p. (Documentos, 75).

FERRY, N. *et al.* Plant-insect interactions: Molecular approaches to insect resistance. **Current opinion in Biotechnology**, London, v. 15, n. 2, p. 155-161, 2004.

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

GFELLER, A.; FARMER, E. E. Keeping the leaves green above us. **Science**, Washington, v. 306, n. 5701, p. 1515-1516, 2004.

GILL, R. S. *et al.* Role of oxidative enzymes in plant defenses against herbivory. **Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica**, Budapest, v. 45, n. 2, p. 277-290, 2010.

HALITSCHKE, R. *et al.* Silencing of hydroperoxide lyase and allene oxide synthase reveals substrate and defense signaling crosstalk in *Nicotiana attenuata*. **The Plant Journal**, Oxford, v. 40, n. 1, p. 35-46, 2004.

HAMM, J. C.; STOUT, M. J.; RIGGIO, R. M. Herbivore- and Elicitor-Induced Resistance in Rice to the Rice Water Weevil (*Lissorhoptrus oryzophilus* Kuschel) in the laboratory and field. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 36, n. 2, p. 192-199, 2010.

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

HOWE, G.; JANDER, G. Plant Immunity to Insect Herbivores. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 59, p. 41-66, 2008.

IDALGO, T. D. N. *et al.* Parasitismo de ovos de *Tibraca limbativentris* Stal (Hemiptera: Pentatomidae) em lavouras de arroz irrigado, Eldorado do Sul, RS. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 80, n. 4, p. 453-456, 2013.

JURENKA, R. **Topics in Current Chemistry**. Springer Berlin: Heidelberg, 2004. 332 p.

KALOSHIAN, I.; WALLING, L. L. Hemipterans as plant pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 43, p. 491-521, 2005.

KANNO, H.; HASEGAWA, M.; OSAMU, K. Accumulation of salicylic acid, jasmonic acid and phytoalexins in rice, *Oryza sativa*, infested by the white-backed planthopper, *Sogatella furcifera* (Hemiptera: Delphacidae). **Applied Entomology and Zoology**, Tokyo, v. 47, n. 1, p. 27-34, 2012.

KARBAN, R.; AGRAWAL, A. A.; MANGEL, M. The benefits of induced defenses against herbivores. **Ecology**, Washington, v. 78, n. 5, p. 1351-1355, 1997.

KARBAN, R.; BALDWIN, I. T. **Induced responses to herbivory**. Chicago: University of Chicago Press, 1997. 319 p.

KARBAN, R.; CHEN, Y. Induced resistance in rice against insects. **Bulletin of Entomological Research**, Wallingford, UK, v. 97, n. 4, p. 327-335, 2007.

KAWASU, K. *et al.* Different expression profiles of jasmonic acid and salicylic acid inducible genes in the tomato plant against herbivores with various feeding modes. **Arthropod-Plant Interactions**, Helsinki, v. 6, n. 2, p. 221-230, 2012.

KESSLER, A.; BALDWIN, I. T. Defensive Function of Herbivore-Induced Plant Volatile Emissions in Nature. **Science**, Washington, v. 291, n. 5511, p. 2141-2144, 2001.

KESSLER, A.; HALITSCHKE, R.; BALDWIN, I. Silencing the jasmonate cascade: induced plant defenses and insect populations. **Science**, Washington, v. 305, n. 5684, p. 665-668, 2004.

KLEIN, J.; REDAELLI, L. R.; BARCELLOS, A. Occurrence of diapause and the role of *Andropogon bicornis* (Poaceae) tussocks on the seasonal abundance and mortality of *Tibraca limbativentris* (Hemiptera: Pentatomidae). **Florida Entomologist**, Gainesville, Fla., v. 95, n. 4, p. 813-818, 2012.

LINK, F. M. *et al.* Nível de infestação de *Tibraca limbativentris* na colheita do arroz irrigado. 2- Colheita normal e sadia (Março/ abril 2005). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 25., Santa Maria, 2005. **Anais...** Santa Maria: Orium, 2005. p. 110-111.

LALOI, C.; APEL, K.; DANON, A. Reactive oxygen signalling: the latest news. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 7, n. 3, p. 323-328, 2004.

LOU, Y.; MA, B.; CHENG, J. Attraction of the parasitoid *Anagrus nilaparvatae* to rice volatiles induced by the rice brown planthopper *Nilaparvata lugens*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 31, n. 10, p. 2357-2372, 2005a.

LOU, Y. *et al.* Exogenous application of jasmonic acid induces volatile emissions in rice and enhances parasitism of *Nilaparvata lugens* eggs by the parasitoid *Anagrus nilaparvatae*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 31, n. 9, p. 1985-2002, 2005b.

LOU, Y. *et al.* Differences in induced volatile emissions among rice varieties result in differential attraction and parasitism of *Nilaparvata lugens* eggs by the parasitoid *Anagrus nilaparvatae* in the field. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 32, n. 11, p. 2375-2387, 2006.

MACHADO, R. de C. de M. **Ecologia química de *Tibraca limbativentris* (HEM: PENTATOMIDAE) e *Telenomus podisi* (HYM: PLATYGASTRIDAE): implicações no manejo com feromônio sexual sintético e nas interações tritróficas mediadas por voláteis de *Oryza sativa* (POACEAE).** 2015. 66 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.

MARTINS, J. F. da S.; GRÜTZMACHER, A. D.; CUNHA, U. S. da. Descrição e manejo integrado de insetos-praga em arroz irrigado. In: **Arroz Irrigado no sul do Brasil**. Brasília, D.F.: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. p. 635-675.

MARTINS, J. F. da S. *et al.* **Situação do manejo integrado de insetos-praga na cultura do arroz no Brasil**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009, 40 p. (Documentos, 290).

McPHERSON, J. E.; McPHERSON, R. M. *Oebalus* spp. In: **Stink bugs of Economic Importance in America North of Mexico**. Boca Raton: CRC Press LLC, 2000. p. 141-158.

MORAES, M. C. B. *et al.* Sex attractant pheromone from the neotropical red-shouldered stink bug, *Thyanta perditor* (F.). **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 31, n. 6, p. 1415-1427, 2005a.

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

NAKATA, Y. *et al.* Rice blast disease and susceptibility to pests in a silicon uptake deficient mutant. **Crop Protection**, Guildford, v. 27, n. 3-5, p. 865-868, 2008.

NARESH, J. S.; SMITH, C. M. Development and survival of rice stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae) reared on different host plants at four temperatures. **Environmental Entomology**, College Park, v. 12, n. 5, p. 1496-1499, 1983.

OERKE, E. C. Crop losses to pests. **The Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 144, n. 1, p. 31-43, 2006.

OLIVEIRA, M. W. M. de *et al.* Zingiberenol, (1*S*,4*R*,1'*S*)-4-(1',5'-Dimethylhex-4'-enyl)-1-methylcyclohex-2-en-1-ol, Identified as the Sex Pheromone Produced by Males of the Rice Stink Bug *Oebalus poecilus* (Heteroptera: Pentatomidae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 61, n. 32, p. 7777-7785, 2013.

PANATO, R. D.; FARIAS, P. M.; BIANCHINI, R. F. Prospecção do controle de *Tibraca limbativentris* STAL 1860 (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) com extrato de cinamomo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 8., 2013, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: Orum, 2013. p. 676-679.

PANTOJA, A. *et al.* Relative abundance of stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae) in South-western Colombia rice fields. **Journal of Entomological Science**, Tifton, Ga., v. 30, n. 4, p. 463-467, 1995.

PANTOJA, A. *et al.* Damage by *Tibraca limbativentris* (Hemiptera: Pentatomidae) to rice in southwestern Colombia. **Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico**, Mayagüez, v. 91, n. 1-2, p. 11-18, 2007.

PATEL, D. T.; STOUT, M.J.; FUXA, J. R. Effects of rice panicle age on quantitative and qualitative injury by the rice stink bug (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE). **Florida Entomologist**, Gainesville, Fla, v. 89, n. 3, p. 321-327, 2006.

PAZINI, J. *et al.* Geoestatística aplicada ao estudo da distribuição espacial de *Tibraca limbativentris* em arroz irrigado por inundação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 6, p. 1006-1002, 2015.

PEGADARAJU, V. *et al.* Premature leaf senescence modulated by the Arabidopsis *PHYTOALEXIN DEFICIENT4* gene is associated with defense against the phloem-feeding green peach aphid. **Plant Physiology**, Rockville, v. 139, n. 4, p. 1927-1934, 2005.

QIU, B. *et al.* Root and shoot jasmonic acid induction differently affects the foraging behavior of *Cotesia glomerata* under semi-field conditions. **BioControl**, Dordrecht, v. 57, n. 3, p. 387-395, 2012.

QUINTELA, E. D. *et al.* Enhanced susceptibility of *Tibraca limbativentris* (Heteroptera: Pentatomidae) to *Metarhizium anisopliae* with sublethal doses of chemical insecticides. **Biological Control**, Orlando, v. 66, n. 1, p. 56-64, 2013.

RALPH, S. *et al.* Genomics of hybrid poplar (*Populus trichocarpa* x *deltoides*) interacting with forest tent caterpillars (*Malacosoma disstria*): normalized and full-length cDNA libraries, expressed sequence tags, and a cDNA microarray for the study of insect-induced defenses in poplar. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 15, n. 5, p. 1275-1297, 2006a.

RALPH, S. *et al.* Conifer defense against insects: microarray gene expression profiling of Sitka spruce (*Picea sitchensis*) induced by mechanical wounding or feeding by spruce budworms (*Choristoneura occidentalis*) or white pine weevils (*Pissodes strobi*) reveals large scale changes of the host transcriptome. **Plant, Cell & Environment**, New York, v. 29, n. 8, p. 1545-1570, 2006b.

RAMPELOTTI-FERREIRA, F. T. *et al.* Patogenicidade de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) sorokin sobre as fases do desenvolvimento de *Tibraca limbativentris* Stål (Hemiptera: Pentatomidae) em condições de laboratório. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 74, n. 2, p. 141-148, 2007.

RASKIN, I. Role of salicylic acid in plants. **Annual Review of Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 43, p. 439-463, 1992.

REYMOND, P. *et al.* Differential gene expression in response to mechanical wounding and insect feeding in *Arabidopsis*. **Plant Cell**, Rockville, v. 12, n. 5, p. 707-720, 2000.

SAVARY, S. *et al.* A review of principles for sustainable pest management in rice. **Crop protection**, Guildford, v. 32, p. 54-63, 2012.

SECK, P. *et al.*, Crops that feed the world 7: Rice. **Food Security**, Dordrecht, v. 4, n. 1, p. 7-24, 2012.

SENTHIL-NATHAN, S. *et al.* Effects of jasmonic acid-induced resistance in rice on the plant brownhopper, *Nilaparvata lugens* Stål (Homoptera: Delphacidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 95, n. 2, p. 77-84, 2009.

SHIVAJI, R. *et al.* Plants on constant alert: elevated levels of jasmonic acid and jasmonate-induced transcripts in caterpillar-resistant maize. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 36, n. 2, p. 179-191, 2010.

SILVA, C.C.A. *et al.* **Ciclo de vida e metodologia de criação de *Tibraca limbativentris* Stål, 1860 (Heteroptera: Pentatomidae) para estudos de ecologia química**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2004. 16 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 78).

SILVA, F. F. da. *et al.* Distribuição espacial e dispersão de *Tibraca limbativentris* Stal, 1860 (Hemiptera: Pentatomidae) na cultura do arroz irrigado por inundação no planalto da campanha do Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 7., 2011, Balneário Camboriú. **Anais...** Itajaí: Epagri, 2011. p. 643-646.

SILVA, R. A. *et al.* Compatibility of conventional agrochemicals used in rice crops with the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 70, n. 3, p. 152-160, 2013.

SMITH, C. M.; BOYKA, E. The molecular bases of plant resistance and defense responses to aphid feeding: current status. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 122, n. 1, p. 1-16, 2006.

SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO. SOSBAI. **Arroz irrigado: Recomendações Técnicas da Pesquisa para o Sul do Brasil**. Bento Gonçalves, RS: SOSBAI, 2016. 200 p.

SOUZA, J. R. *et al.* Resistência do tipo antibiose a ninfas de *Tibraca limbativentris* (Stal, 1860) (Heteroptera: Pentatomidae) em variedades de arroz. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 75, n. 3, p. 321-326, 2008.

SOUZA, J. R. *et al.* Divergência genética de cultivares de arroz quanto à resistência a *Tibraca limbativentris* Stal (Hemiptera: Pentatomidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 38, n. 5, p. 671-676, 2009.

STOUT, M. J.; RIGGIO, M. R.; YANG, Y. Direct induced resistance in *Oryza sativa* to *Spodoptera frugiperda*. **Environmental Entomology**, Oxford, v. 38, n. 4, p. 1174-1181, 2009.

SWANSON, M. C.; NEWSOM, L. D. Effect of infestation by the rice stink bug, *Oebalus pugnax*, on yield and quality in rice. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, MD, v. 55, n. 6, p. 877-879, 1962.

TAO, X. *et al.* Involvement of jasmonate –signaling pathway in the herbivore-induced rice plant defence. **Chinese Science Bulletin**, Beijing, v. 48, n. 18, 1982-1987, 2003.

THALER, J. *et al.* Exogenous jasmonates stimulate insect wounding in tomato plants (*Lycopersicon esculentum*) in the laboratory and field. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 22, n. 10, p. 1767-1781, 1996.

THATCHER, L. F.; ANDERSON, J. P.; SINGH, K. B. Plant defense responses: what have we learnt from *Arabidopsis*? **Functional Plant Biology**, Victoria, Australia, v. 32, n.1, p.1-19, 2005.

THOMPSON, G.; GOGGIN, F. Transcriptomics and functional genomics of plant defence induction by phloem-feeding insects. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 57, n. 4, p. 755-766, 2006.

TOGNON, R.; SANT'ANA, J.; JAHNKE, S. M. Aprendizagem e memória de *Telenomus podisi* (Hymenoptera, Platygasteridae). **Iheringia, Série Zoologia**, Porto Alegre, v. 103, n. 3, p. 266-271. 2013.

TURNER, J. G.; ELLIS, C. DEVOTO, A. The jasmonate signal pathway. **Plant Cell**, Rockville, v. 14, p. 153-164, 2002.

USHA RANY, P.; SANDHYARANI, K. Specificity of systemically released rice stem volatiles on egg parasitoid, *Trichogramma japonicum* Ashmead behaviour. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 136, n. 10, p. 749-760, 2012.

VICENTE, M. R.; PLASENCIA, J. Salicylic acid beyond defense: its role in plant growth and development. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 62, n. 10, p. 3321-3338, 2011.

VICK, B. A.; ZIMMERMAN, D. C. The biosynthesis of jasmonic acid: A physiological role for plant lipoxygenase. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, San Diego, v. 111, n. 2, p. 470-477, 1983.

VICK, B. A.; ZIMMERMAN, D. C. Biosynthesis of jasmonic acid by several plant species. **Plant Physiology**, Rockville, v. 75, n. 2, p. 458-461, 1984.

VICK, B. A.; ZIMMERMAN, D. C. Characterization of 12-Oxo-Phytodienoic acid reductase in corn. The jasmonic acid pathway. **Plant Physiology**, Rockville, v. 80, n. 1, p. 202-205, 1986.

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

WAR, A. R. *et al.* Mechanisms of Plant Defense against Insect Herbivores. **Plant Signaling and Behavior**, Austin, 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**, West Sussex, UK, v. 71, n. 1, p. 72-82, 2015.

WAY, M. O.; BOWLING, C. C. Insect pests of rice. In: LUH, B. S. (Ed.). **Rice production**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991. p. 237-268.

WITZGALL, P. *et al.* Codling moth management and chemical ecology. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, n. 53, p. 503-522, 2008.

WITZGALL, P.; KIRSCH, P.; CORK, A. Sex pheromones and their impact on pest management. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 36, n. 1, p. 80-100, 2010.

WOODHEAD, S.; PADGHAM, D. E. The effect of plant surface characteristics on resistance of rice to the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 47, n. 1, p. 15-22, 1988.

WU, J.; BALDWIN, I. New Insights into plant responses to the attack from insect herbivores. **Annual Review of Genetics**, Palo Alto, v. 44, p. 1-24, 2010.

YANG, Y.; QI, M.; MEI, C. Endogenous salicylic acid protects rice plants from oxidative damage caused by aging as well as biotic and abiotic stress. **The Plant Journal**, Oxford, v. 40, n. 6, p. 909-919, 2004.

YUAN, J. *et al.* Molecular and genomic basis of volatile-mediated indirect defense against insects in rice. **The plant journal**, Oxford, v. 55, n. 3, p. 491-503, 2008.

ZARBIN, P.H.G.; *et al.* Alarm pheromone system of stink bug *Piezodorus guildinii* (Heteroptera: Pentatomidae). **Journal of Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 11, n. 4, p. 424-428, 2000.

ZARBIN, P. H. G.; RODRIGUES, M. A. C. M.; LIMA, E. R. Feromônios de insetos: tecnologia e desafios para uma agricultura competitiva no Brasil. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 722-731, 2009.

ZARBIN, P. H. *et al.* Male-produced sex pheromone of the stink bug *Edessa meditabunda*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 38, n. 7, p. 825-835, 2012.

ZHOU, G. *et al.* Silencing *OsHI-LOX* makes rice more susceptible to chewing herbivores, but enhances resistance to a phloem feeder. **The Plant Journal**, Oxford, v. 60, n. 4, p. 638-648, 2009.

**2. CAPÍTULO II: AVALIAÇÃO DO FEROMÔNIO SEXUAL SINTÉTICO
DE *Tibraca limbativentris* (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) EM
LABORATÓRIO E EM LAVOURA DE ARROZ IRRIGADO**

2.1 INTRODUÇÃO

O percevejo-do-colmo *T. limbativentris* é uma das espécies mais prejudiciais à cultura do arroz no Brasil, podendo atacar plantas desde o início da fase vegetativa até o enchimento de grãos (Martins *et al.*, 2004; SOSBAI, 2016). O dano é causado pela necrose da parte central dos colmos em decorrência da injeção de saliva tóxica. Quando o ataque ocorre durante o desenvolvimento vegetativo, a folha central morre; na fase reprodutiva, resulta na esterilidade de espiguetas, podendo também haver perdas qualitativas, como aumento de grãos quebrados e gessados (Costa & Link, 1992; Krinski & Foerster, 2017). O controle biológico, através do fungo entomopatogênico *Metharizium anisopliae* Metchnikoff (Quintela *et al.*, 2013; Kruger *et al.*, 2014) e de parasitoides de ovos (Idalgo *et al.*, 2013; Tognon *et al.* 2013) é uma alternativa promissora. A utilização de variedades resistentes, por sua vez, ainda não é uma realidade, existindo apenas estudos incipientes (Souza *et al.*, 2008; 2009).

O monitoramento populacional de *T. limbativentris* deve ser efetuado em intervalos semanais, do início do perfilhamento à fase de floração, averiguando-se a presença de insetos com rede de varredura, preferencialmente em plantas sobre as taipas, após o meio-dia. A cada inseto adulto, em média/m², é esperada uma redução de 1,2% na produção de grãos (SOSBAI, 2016). Entretanto, a constatação da presença do inseto na lavoura é dificultada pelo fato do percevejo ficar abrigado entre os colmos, próximo ao solo (Ferreira *et al.*, 1997). Além disso, adultos e ninfas não ocupam os mesmos locais e ocasionalmente apresentam padrão agregado (Alves, 2012). O monitoramento de

populações de percevejos através da utilização de armadilhas com iscas feromonais vem sendo estudado e proposto desde a década de 90 para espécies praga de diversas culturas, em especial a soja (Borges *et al.*, 1998; Pires *et al.*, 2006).

O feromônio sexual de *T. limbativentris*, assim como em outros pentatomídeos, é produzido pelo macho (Borges *et al.*, 2006) e constitui-se de dois isômeros do sesquiterpeno 1,10-bisaboladien-3-ol (zingiberenol). Como este composto possui três centros quirais, existem quatro pares de diastereoisômeros. A síntese não estereoseletiva a partir de (*R*)- e (*S*)- citronelal produz duas misturas contendo quatro estereoisômeros cada (Borges *et al.*, 2006), chamadas de *7R* zingiberenol constituído dos diastereoisômeros (*3R*, *6R*, *7R*), (*3S*, *6R*, *7R*), (*3R*, *6S*, *7R*) (*3S*, *6S*, *7R*) e *7S* zingiberenol constituído dos diastereoisômeros (*3R*, *6R*, *7S*), (*3R*, *6S*, *7S*), (*3S*, *6R*, *7S*), (*3S*, *6S*, *7S*). Bioensaios de olfatométrica realizados pelos mesmos autores evidenciaram que ambos os compostos são atrativos às fêmeas, porém houve resposta maior para *7S* zingiberenol apenas em relação ao controle, não havendo diferença significativa quando o mesmo foi contrastado com o *7R* zingiberenol. Resposta semelhante foi constatada por Machado (2015); contudo, a campo, foram registradas capturas apenas com septos contendo *7S* zingiberenol. Apesar dos resultados positivos para este grupo (*7S*), é necessário a avaliação de outras misturas de isômeros que potencializem as capturas, uma vez que a configuração absoluta dos isômeros produzidos pelo inseto ainda não foi elucidada. Assim, este trabalho objetivou avaliar as respostas de fêmeas de *T. limbativentris* a septos de borracha impregnados com quatro misturas de diastereoisômeros do zingiberenol, combinados 2 a 2, em testes de laboratório e campo.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Obtenção e criação de *T. limbativentris*

Percevejos foram coletados em lavouras de arroz irrigado do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. A criação ocorreu em sala climatizada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; $60 \pm 10\%$ U. R.; fotofase de 14 horas), adaptando a metodologia proposta por Silva *et al.* (2004). Os adultos foram colocados em gaiolas confeccionadas com potes plásticos (5 L) cobertas com tecido do tipo voile com touceiras de arroz (BR-IRGA 409), que serviram de substrato de alimentação e oviposição. As posturas foram recolhidas a cada dois dias, desinfestadas com solução de hipoclorito de sódio a 15% (2% de cloro ativo) e colocadas em placas de Petri (9 cm de diâmetro). As ninfas foram alimentadas com plantas jovens de arroz, cultivadas em vasos de 300 mL, além de vagens verdes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), amendoim (*Arachis hypogaea* L.) e frutos de ligustro (*Ligustrum lucidum* Ait.) até atingirem a fase adulta.

2.2.2 Feromônio

Os septos de borracha impregnados com as misturas foram fornecidos pelo Dr. Ashot Khimian, do Invasive Insect Biocontrol and Behavior Laboratory do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (Maryland-USDA). Os septos foram impregnados com 4 mg de dois dos isômeros do zingiberenol ou hexano (controle) totalizando cinco tratamentos: a) zingiberenol 1 (3*S*,6*S*,7*R* + 3*R*,6*R*,7*R*); b) zingiberenol 2 (3*R*,6*S*,7*R* + 3*S*,6*R*,7*R*); c) zingiberenol 3 (3*S*,6*S*,7*S* + 3*R*,6*R*,7*S*); d) zingiberenol 4 (3*R*,6*S*,7*S* + 3*S*,6*R*,7*S*) e e) controle (hexano).

2.2.3 Olfatometria

Os bioensaios foram conduzidos com fêmeas virgens de *T. limbativentris* com idade entre 15 e 30 dias. O comportamento quimiotáxico foi observado em olfatômetro “Y” de vidro de dupla escolha, com diâmetro de 6,5 cm, arena inicial de 22 cm, bifurcada em dois braços de 8 cm cada. Os testes foram conduzidos em sala climatizada, nas mesmas condições da criação, durante a fotofase, sob luz fluorescente (60W, luminância igual a 290 lux). O fluxo de ar foi injetado para dentro do sistema com o auxílio de um propulsor conectado a um fluxímetro, a uma taxa de 0,8 L/min. Os insetos testados foram individualizados por 24 horas antes do início dos experimentos e aclimatados por 1 h na sala de testes.

Uma fêmea foi colocada na extremidade inicial do olfatômetro com o auxílio de um pincel número 10. Os septos de borracha foram colocados no final dos braços do olfatômetro, sendo as fêmeas submetidas à escolha entre o controle (hexano) e um dos tratamentos contendo os isômeros do zingiberenol, além do contraste entre todos os diastereoisômeros. As respostas foram consideradas positivas quando os insetos percorreram, pelo menos, 4 cm dentro dos braços contendo os tratamentos e permaneceram nesta área por, no mínimo, um minuto. Foram considerados não responsivos os que não se movimentaram nos primeiros 5 minutos ou quando não percorreram pelo menos 4 cm em nenhum dos dois braços do olfatômetro, em 10 minutos. Foram realizados testes até que se obtivessem 40 repetições com insetos responsáveis de por tratamento.

2.2.4 Testes de campo

O trabalho foi conduzido nas safras 2013/2014 e 2014/2015 em uma área comercial (cultivar Epagri 108) de aproximadamente 2 ha, em Eldorado do Sul, RS (30°02'28.4"S; 51°20'29.3"O). O arroz foi cultivado no sistema pré-germinado e as áreas amostrais eram delimitadas por lavouras arroz com o mesmo cultivar, ao norte, sul e leste

e com pastagem de espécies nativas a oeste. Os experimentos, nas duas safras, foram instalados cerca de 20 dias após a semeadura, no dia 23 de dezembro de 2013 e 04 de dezembro de 2014.

Armadilhas de garrafas de polietileno tereftalato (PET) de 2 L foram confeccionadas conforme sugerido por Pires *et al.* (2006) e utilizadas nos bioensaios de campo. Foram removidos quatro discos de 2 cm de diâmetro das laterais da garrafa e funis feitos de malha de alumínio galvanizado (0,5 mm) foram colados nas aberturas de entrada. O fundo foi cortado, invertido e preso no mesmo local com arame, para facilitar a coleta dos insetos capturados. Foi inserido um funil dentro da garrafa, logo abaixo das aberturas de entrada na parte superior, a 9 cm a partir do topo. Um septo de borracha contendo um dos tratamentos foi suspenso por um arame através da tampa do frasco, ficando na altura dos orifícios de entrada dos insetos.

As amostragens foram realizadas semanalmente, no turno da manhã. Os percevejos capturados nas armadilhas foram levados ao laboratório de entomologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, onde foram contabilizados, identificados e separados por sexo. Nas mesmas ocasiões das amostragens, também foi estimado o nível populacional de *T. limbativentris* da área, utilizando uma armação de PVC de 1 m², em 4 pontos em cada bloco, previamente sorteados, distantes aproximadamente 10 m das armadilhas. As plantas presentes no quadrado foram examinadas por 5 minutos na fase vegetativa e por 10 na reprodutiva, observando o número de fêmeas, machos e ninfas. As avaliações da população de insetos no campo iniciaram no momento de instalação do experimento e foram realizadas até a colheita, resultando em 17 semanas de amostragens no primeiro ano e em 18 no segundo. A área experimental não recebeu tratamentos fitossanitários.

O delineamento experimental foi de blocos casualizados, com quatro repetições. Blocos e tratamentos ficaram equidistantes (30 m) (Figura 2). As armadilhas foram

rotacionadas dentro de cada bloco a cada 14 dias e os septos foram substituídos a cada 28 dias.

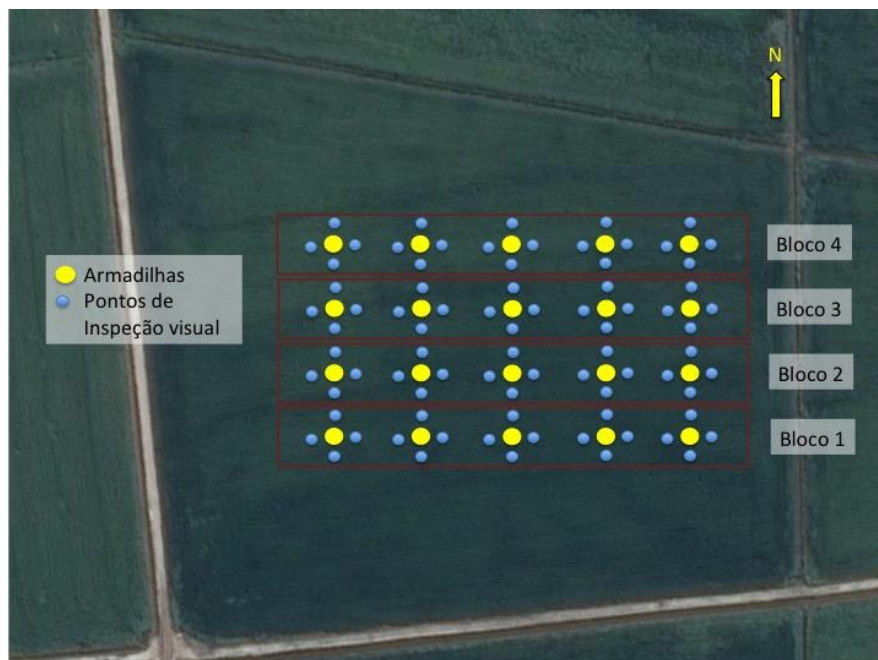


Figura 2. Croqui da área experimental

2.2.5 Análise estatística

Os resultados da olfatométrica foram comparados pelo teste de Qui-quadrado de aderência ($\alpha = 0,05$) utilizando o software Bioestat[®] 5.0. Para o teste de campo, o efeito de ano foi avaliado para o número de fêmeas capturadas em cada tratamento e para a população de insetos (apenas número de fêmeas e o somatório de fêmeas, machos e ninfas) observada nas inspeções visuais, utilizando modelo linear generalizado (GLM) com distribuição de Poisson e função de ligação logarítmica. Como não houve diferença entre anos, foi avaliada a média de fêmeas capturadas por tratamento e a média de insetos observada durante as 35 semanas de experimento, utilizando o mesmo modelo estatístico, conforme Pires *et al.* (2006) e Borges *et al.* (2011). O número de fêmeas capturadas em cada tratamento foi comparado com a população total (considerando fêmeas, machos e ninfas de *T. limbativentris*) e com o número de fêmeas que estava nos pontos de amostragem próximos, utilizando o mesmo modelo. Quando houve diferença entre

tratamentos, as médias foram contrastadas utilizando a diferença mínima significativa.

Todas as análises do teste de campo foram feitas com o software SPSS® 17.0.

2.3 RESULTADOS

2.3.1 Olfatometria

Fêmeas de *T. limbativentris* foram mais atraídas pelo tratamento Z1 em comparação ao hexano ($\chi^2 = 4,9$; gl= 1; P= 0,023). Não houve diferença nos demais contrastes dos diastereoisômeros com hexano ($\chi^2 = 0,4$; gl= 1; P = 0,53) (Figura 3)

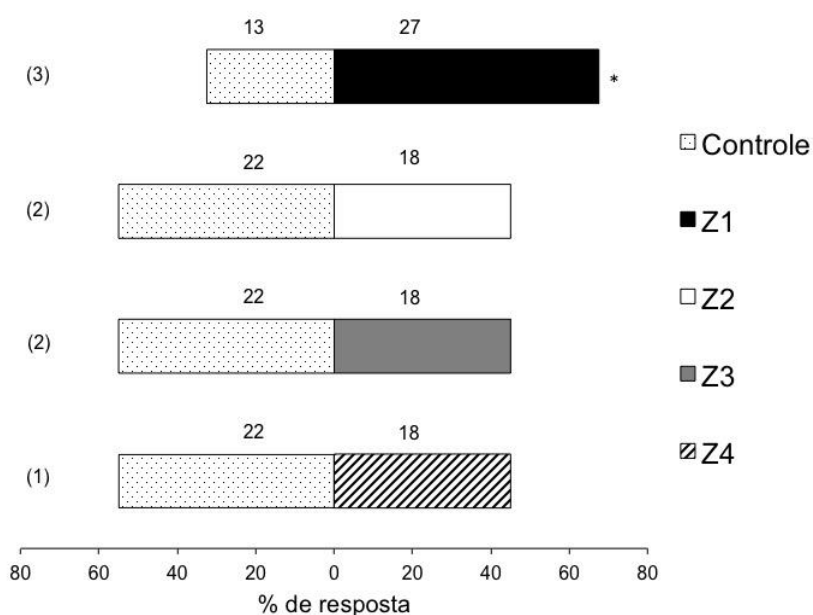


Figura 3. Respostas quimiotáticas (%) de fêmeas de *Tibraca limbativentris* testadas em Y a septos de borracha impregnados com quatro misturas de diastereoisômeros do zingiberenol, combinados 2 a 2, em contraste com o controle (hexano). a) Z1 (3*S*,6*S*,7*R* + 3*R*,6*R*,7*R*); b) Z2 (3*R*,6*S*,7*R* + 3*S*,6*R*,7*R*); c) Z3 (3*S*,6*S*,7*S* + 3*R*,6*R*,7*S*); d) Z4 (3*R*,6*S*,7*S* + 3*S*,6*R*,7*S*). Valores sobre as barras indicam o número de insetos responsivos e, entre parênteses, os não responsivos. Asterisco indica diferença significativa pelo teste de Qui-quadrado (P < 0,05).

Quando as fêmeas foram expostas a escolha entre isômeros, foram mais atraídas pelo Z1 apenas quando contrastadas com Z4 ($\chi^2=4,9$; gl=1; P=0,023). Nos demais testes, não houve diferença entre tratamentos (P > 0,05) (Figura 4).

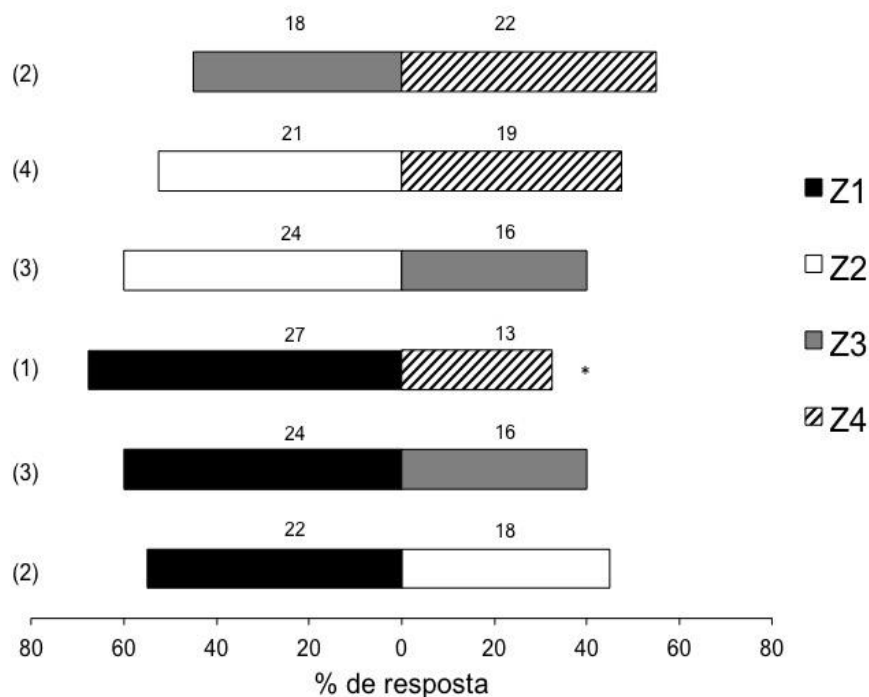


Figura 4. Respostas quimiotáticas (%) de fêmeas de *Tibraca limbativentris* testadas em olfatômetro em Y a septos de borracha impregnados com quatro misturas de diastereoisômeros do zingiberenol, combinados 2 a 2: a) Z1 (3*S*,6*S*,7*R* + 3*R*,6*R*,7*R*); b) Z2 (3*R*,6*S*,7*R* + 3*S*,6*R*,7*R*); c) Z3 (3*S*,6*S*,7*S* + 3*R*,6*R*,7*S*) e d) Z4 (3*R*,6*S*,7*S* + 3*S*,6*R*,7*S*). Valores sobre as barras indicam o número de insetos responsivos e, entre parênteses, os não responsivos. Asterisco indica diferença significativa pelo teste de Qui-quadrado (P < 0,05).

2.3.2 Testes de campo

Não houve diferença entre as safras 2013/2014 e 2014/2015 para o número de fêmeas coletadas nas armadilhas ($\chi^2 = 0,995$; gl = 1; P = 0,319), para as observadas nas inspeções visuais ($\chi^2 = 0,076$; gl = 1; P = 0,782) e para a população total amostrada nas inspeções visuais ($\chi^2 = 0,258$; gl = 1; P = 0,612). O número de fêmeas coletadas nas armadilhas variou entre tratamentos ($\chi^2 = 32,92$; gl = 4; P < 0,001), sendo maior nas iscadas com o tratamento Z1, que teve média de captura de 5,75 fêmeas (Figura 4). O

número de fêmeas/m² observadas nas inspeções visuais também variou de acordo com os tratamentos dos quais estavam próximas ($\chi^2 = 17,099$; gl = 4; P = 0,002), mas não entre blocos ($\chi^2 = 2,870$; gl = 3; P = 0,412). Nas inspeções próximas às armadilhas iscadas com o tratamento Z1, a média foi de 3,25 fêmeas/m² ($\chi^2 = 6,07$; P = 0,014), superior aos das armadilhas iscadas com os demais (Figura 5).

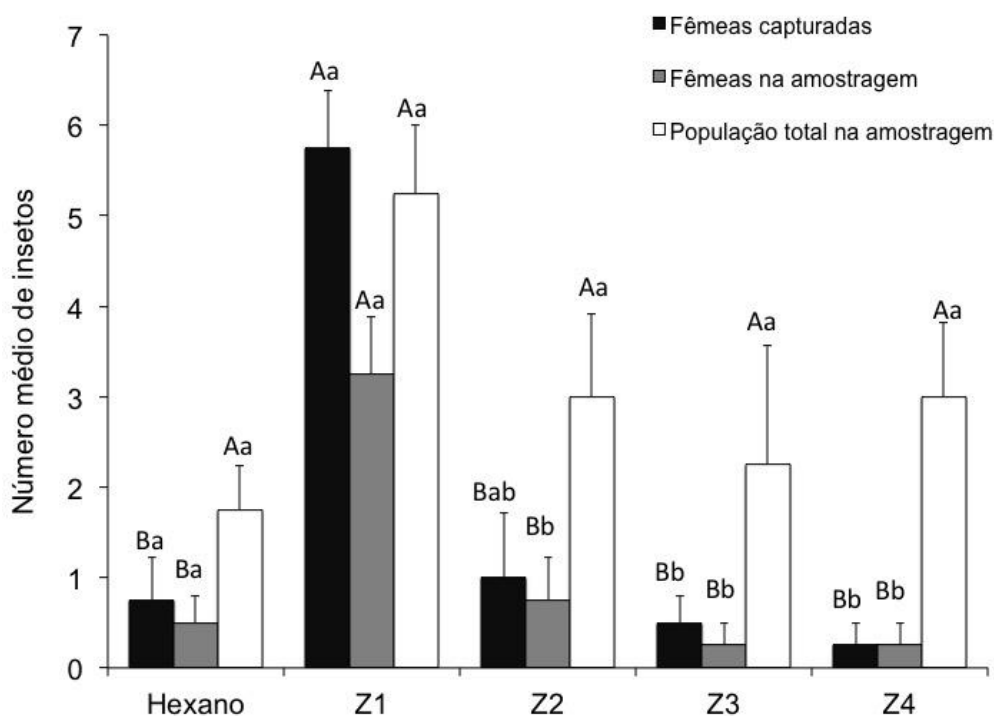


Figura 5. Número médio (\pm EP) de fêmeas de *Tibraca limbativentris* capturadas por armadilha do tipo PET, de fêmeas observadas e da população total (fêmeas + machos + ninfas) observada nos pontos de amostragem próximos às armadilhas iscadas com septos de borracha impregnados com quatro misturas de diastereoisômeros do zingiberenol, combinados 2 a 2 a) Z1 (3*S*,6*S*,7*R* + 3*R*,6*R*,7*R*); b) Z2 (3*R*,6*S*,7*R* + 3*S*,6*R*,7*R*); c) Z3 (3*S*,6*S*,7*S* + 3*R*,6*R*,7*S*) e d) Z4 (3*R*,6*S*,7*S* + 3*S*,6*R*,7*S*). Eldorado do Sul, RS, safras 2013/2014 e 2014/2015. Letras maiúsculas indicam a comparação de uma variável entre os tratamentos e minúsculas o efeito de tratamento para diferentes variáveis pelo método de diferença mínima significativa (P < 0,05).

Em todos os tratamentos, o número de fêmeas capturadas pelas armadilhas foi semelhante ao de fêmeas observadas nas amostragens visuais nos pontos de inspeção próximos a estas (Figura 4). Entretanto, apenas para os tratamentos Z1 e hexano estas duas variáveis foram semelhantes também ao da população total observada nos pontos de

amostragem (Z1 $\chi^2 = 2,88$; gl = 2; P = 0,24; hexano $\chi^2 = 3,17$; gl= 2; P= 0,205). A semelhança entre o número de fêmeas capturadas e a população total nos pontos próximos tratamento Z1 é mais uma evidência da atratividade desta mistura.

Na safra 2013/2014, a população de insetos começou a ser detectada nas amostragens visuais na 7ª semana (Figura 6), quando as plantas estavam no final do período vegetativo. A média de 0,25 insetos adultos/m² manteve-se até o final do período reprodutivo e oscilou entre 0,25 e 0,5 adultos/m² do final do período reprodutivo até o final da maturação de grãos. Houve um pico da população ninfal no início da infestação da lavoura, na 8ª semana de avaliação, e outro na fase maturação de grãos, na 12ª semana.

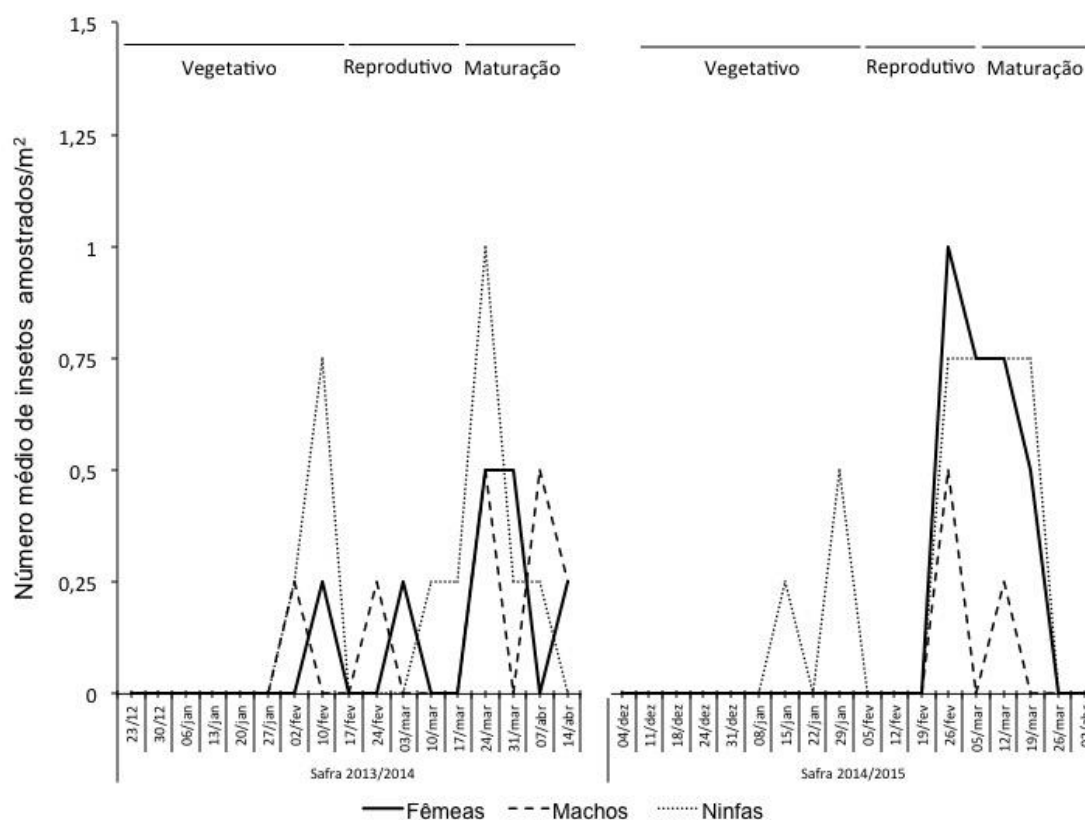


Figura 6. Número médio de fêmeas, machos e ninfas de *Tibraca limbativentris* observados nas inspeções visuais em lavoura de arroz em Eldorado do Sul, RS, durante as safras de 2013/2014 e 2014/2015.

Fêmeas adultas foram observadas nas amostragens desde a 8ª semana; no entanto, foi apenas a partir da 14ª semana que foram capturadas pelas armadilhas (Figura 7). Nas iscasadas com o tratamento Z1, a média semanal de quatro repetições flutuou entre 0,25 e

1,75 fêmeas/armadilha, ao passo que nos demais tratamentos manteve-se entre 0 e 0,25 fêmeas/armadilha, mesmo número observado nas inspeções visuais. Na safra 2014/2015, a colonização da lavoura ocorreu a partir da 7^a semana, novamente representada apenas por ninfas. Foi a partir da 13^a semana que a população de adultos começou a ser observada, mesma semana em que iniciaram a maioria das capturas de fêmeas nas armadilhas iscadas com o tratamento Z1.

Durante as duas safras, nenhum inseto macho foi coletado no tratamento Z1, apenas um foi observado nas armadilhas com tratamento hexano e dois em cada uma das armadilhas contento os demais isômeros. O número de machos não foi incluído na análise estatística, por ser considerado um acaso, já que estes não são atraídos pelo feromônio sexual (Borges *et al.*, 2006). Não houve registro de outras espécies dentro das armadilhas.

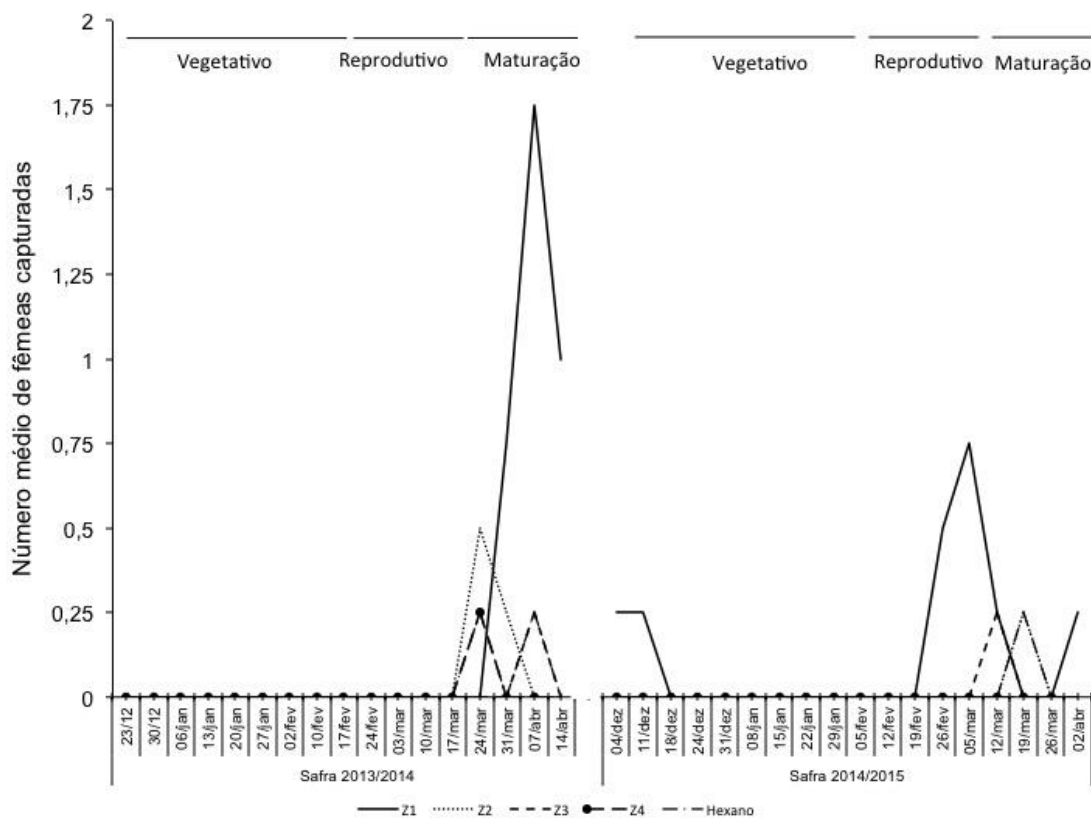


Figura 7. Número médio de fêmeas de *Tibraca limbativentris* capturadas por semana em armadilhas do tipo PET, iscadas com septos de borracha impregnados com quatro misturas de diastereoisômeros do zingiberenol, combinados 2 a 2: a) Z1 (3S,6S,7R + 3R,6R,7R); b) Z2 (3R,6S,7R + 3S,6R,7R); c) Z3 (3S,6S,7S + 3R,6R,7S); d) Z4 (3R,6S,7S + 3S,6R,7S) e e) hexano em lavoura de arroz em Eldorado do Sul, RS, durante as safras de 2013/2014 e 2014/2015.

2.4 DISCUSSÃO

Os resultados indicam que o tratamento Z1 contém uma mistura feromonal mais atrativa para as fêmeas de *T. limbativentris* que os demais tratamentos. No teste de olfatometria, a preferência pela mistura Z1 apenas em relação a mistura Z4 evidencia que esta última é a menos atrativa para as fêmeas, e que as demais misturas não são diferenciadas quando comparadas à mistura Z1. A não diferenciação destas misturas ocorreu, provavelmente, porque os insetos perceberam de forma diferente os compostos isolados ou em mistura, assim como diferentes misturas com uma mesma substância (Renou, 2014). Isto também explica o fato de que os isômeros que compunham a mistura 7'S, mais atrativa do que a 7'R nos testes de Borges *et al.* (2006) e Machado (2015), continham a mistura de isômeros que no presente estudo estão nos tratamentos Z3 [(3S, 6S, 7S) + (3R, 6R, 7S)] e no Z4 [(3R, 6S, 7S) + (3S, 6R, 7S)]. A mistura Z1 [(3S, 6S, 7R) + (3R, 6R, 7R)] deste estudo estava junto com a Z2 [(3R, 6S, 7R) + (3S, 6R, 7R)] no tratamento 7'R.

Para o percevejo-marrom-da-soja *E. heros*, oito estereoisômeros do 2,6,10-trimetiltridecanoato de metila, principal componente do feromônio, foram avaliados em ensaio de olfatometria. A presença do estereoisômero (2R, 6R, 10S) na mistura com os demais foi imprescindível para desencadear a atratividade das fêmeas deste inseto. Contudo, em combinações binárias com outros estereoisômeros, apresentou menor atratividade (Costa *et al.*, 2000).

Além do tipo de substâncias presentes na mistura, a proporção delas é importante para a percepção química de um inseto. Um número maior de indivíduos foi capturado em armadilhas iscadas com o feromônio de *E. heros* 2,6,10-trimetiltridecanoato de metila puro e em armadilhas com a mistura de 2,6,10-trimetiltridecanoato de metila (44%) + 2,6,10-trimetildodecanoato de metila (3%) + 2,4-decadienoato de metila (53%) em relação à mistura 3:1 de 2,6,10-trimetiltridecanoato de metila e 2,6,10-trimetildodecanoato de metila (Pires *et al.*, 2006). Assim, ainda que o principal componente esteja presente em uma mistura, se não estiver combinado com determinados compostos e na proporção correta, pode desencadear uma resposta comportamental menor. Nos tratamentos utilizados, a proporção de cada diastereoisômero na mistura é de 50%. Quando Borges *et al.* (2006) e Machado (2015) encontraram maior atratividade para a mistura 1'S, a proporção de cada diastereoisômero era de 25%, essa diferença de proporção dos mesmos diastereoisômeros pode ter reduzido a resposta aos tratamentos derivados da mistura 1'S e aumentado a atração pelos compostos do tratamento Z1, derivados do tratamento 1'R.

Tal complexidade no processo de percepção da mistura feromonal é esperada, já que, no ambiente natural, os insetos estão expostos a incontáveis estímulos químicos. O feromônio sexual do percevejo-do-grão do arroz *O. poecilus* também é um isômero do zingiberenol, o isômero 3R,6R,7S-1,10-bisaboladine-3-ol (Oliveira *et al.*, 2013). A especificidade é garantida pelos diferentes números de componentes na mistura feromonal e pela diferente configuração absoluta dos compostos. A diferença no arranjo espacial dos átomos dos feromônios pode interferir na formação do complexo Proteína ligante de odor-odorante informando ao inseto se é ou não o parceiro correto (Moraes *et al.*, 2008).

No campo, o maior número de capturas de fêmeas nas armadilhas iscadas com o tratamento Z1 corrobora os resultados de laboratório. Em conformidade, houve maior

número de fêmeas nos pontos de amostragem próximos às armadilhas iscadas com a mistura Z1 do que nos pontos próximos às demais. Além disso, apenas nas amostragens próximas às armadilhas iscadas com o hexano e a mistura Z1, o número de fêmeas foi semelhante ao de insetos na população total (fêmeas + machos + ninfas), evidenciando a maior proporção de fêmeas na população amostrada. Tais resultados também evidenciam a maior atratividade da mistura Z1 às fêmeas de *T. limbativentris*.

Além da atratividade dos compostos químicos, deve-se considerar também o efeito de atração visual que as armadilhas exercem sobre os insetos. Diversos autores observaram coletas de insetos em armadilhas com os tratamentos controle, como Borges *et al.* (1998), que encontraram em média duas fêmeas de *E. heros* por armadilha controle, ou Pires *et al.* (2006), que obtiveram um número próximo a 19 adultos, de diferentes espécies, coletados em armadilhas contendo septos impregnados apenas com hexano em uma lavoura de soja. A atratividade pode estar relacionada à visibilidade e ao brilho do plástico, uma vez que diversos trabalhos demonstram que o hexano não é atrativo aos insetos (Pires *et al.*, 2006)

Segundo Klein *et al.* (2012), o percevejo-do-colmo migra dos sítios de hibernação para as lavouras a partir do final do mês de outubro, abandonando completamente esses refúgios no mês de janeiro. É comum em insetos hibernantes que a cópula ocorra logo após o final desta fase. Sendo assim, é possível as fêmeas pós-hibernantes de *T. limbativentris* tenham copulado antes de entrar na lavoura, ovipositado e morrido logo após, razão pela qual tenha sido observado somente ninfas no início da infestação da segunda safra. A captura de fêmeas algumas semanas após o registro destas nas inspeções visuais pode estar relacionada a maturação sexual destes insetos. De acordo com Silva *et al.* (2004), são necessários entre 6 e 28 dias para que as fêmeas atinjam a maturação sexual (condição fisiológica necessária para que as mesmas sejam atraídas por iscas feromonais).

Deve-se considerar ainda que o feromônio formulado dificilmente reproduz o exato chamamento do macho no campo e isso pode interferir na percepção de fêmeas. Os insetos liberam feromônio de forma intermitente e em determinada taxa de liberação, que não é fácil de reproduzir em liberadores sintéticos (Eisner & Meinwald, 1995). Quando a liberação é contínua, esta informação pode ser interpretada de forma diferente pelo inseto, desencadeando uma menor resposta quimiotáxica. Além da informação química, os insetos utilizam outros canais de comunicação durante o comportamento de chamamento e acasalamento no campo, como a comunicação vibracional dos percevejos (Colk & Virant-Doberlet, 2003, Moraes *et al.*, 2005). Millar *et al.* (2002) propuseram que a baixa captura de pentatomídeos nas armadilhas feromonais no campo é devido à ausência dos sinais vibracionais que são emitidos durante a comunicação de acasalamento a curta distância por estes insetos (Moraes *et al.*, 2005, 2014).

Os resultados obtidos mostraram que um dos isômeros presentes em Z1 é essencial para atração das fêmeas de *T. limbativentris*, tanto no campo como no laboratório. Estudos futuros poderiam incluir bioensaios com diferentes combinações dos isômeros do zingiberenol para chegar na melhor composição para atração das fêmeas e abordar o uso da comunicação vibracional nas armadilhas feromonais para avaliar se este sinal de comunicação pode melhorar a eficiência de captura de fêmeas na armadilhas.

2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, T. M. **Distribuição espacial do percevejo-do-colmo (*Tibraca limbativentris* Stal) em arroz irrigado**. 2012. 55 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Programa de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
- BORGES, M. *et al.* Field responses of stink bugs to the natural and synthetic pheromone of the Neotropical brown stink bug, *Euschistus heros*, (Heteroptera: Pentatomidae). **Physiological Entomology**, Oxford. v. 23, n. 3, p. 202-207, 1998.
- BORGES, M. *et al.* Sex attractant pheromone from the rice stalk stink bug, *Tibraca limbativentris* Stal. **Journal of Chemical Ecology**, New York. v. 32, n. 12, p. 2749-2761, 2006.
- BORGES, M. *et al.* Monitoring the Neotropical brown stink bug *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) with pheromone-baited traps in soybean fields. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 135, n. 1-2, p. 68-80, 2011.
- COLK, A.; VIRANT-DOBERLET, M. Communication with Substrate-Borne Signals in Small Plant-Dwelling Insects. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 48, p. 29-50, 2003.
- COSTA, E. C.; LINK, D. Avaliação de danos de *Tibraca limbativentris* Stal, 1860 (Hemiptera, Pentatomidae) em arroz irrigado. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Porto Alegre, v. 21, n. 1, p. 187-195, 1992.
- COSTA, M. L. M da *et al.* Effect of Stereoisomers of the Main Component of the Sex Pheromone of *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) in the Attractiveness of Females. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 29, n. 3, p. 413-422, 2000.
- EISNER, T.; MEINWALD, J. The chemistry of sexual selection. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 92, n. 1, p. 50-55, 1995.
- FERREIRA, E. *et al.* **O percevejo-do-colmo na cultura do arroz**. Goiânia: EMBRAPA-CNPAP, 1997. 43 p. (Documentos, 75).
- IDALGO, T. D. N. *et al.* Parasitismo de ovos de *Tibraca limbativentris* Stal (Hemiptera: Pentatomidae) em lavouras de arroz irrigado, Eldorado do Sul, RS. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 80, n. 4, p. 453-456, 2013.

KLEIN, J.; REDAELLI, L. R.; BARCELLOS, A. Occurrence of diapause and the role of *Andropogon bicornis* (Poaceae) tussocks on the seasonal abundance and mortality of *Tibraca limbativentris* (Hemiptera: Pentatomidae). **Florida Entomologist**, Gainesville, Fla., v. 95, n. 4, p. 813-818, 2012.

KRINSKI, D.; FOERSTER, L.A. Damage by *Tibraca limbativentris* Stål (Pentatomidae) to Upland Rice Cultivated in Amazon Rainforest Region (Brazil) at Different Growth Stages. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 46, n. 1, p.107-114, 2017.

KRUGER, R. D. *et al.* Solid Substrate Production and Formulation of an Isolate of *Metarhizium anisopliae* for Biological Control of Stem Bug *Tibraca limbativentris*. **World Applied Sciences Journal**, Faisalabad, v. 32, n. 7, p. 1242–1251, 2014.

MACHADO, R. de C. de M. **Ecologia química de *Tibraca limbativentris* (HEM: PENTATOMIDAE) e *Telenomus podisi* (HYM: PLATYGASTRIDAE):** implicações no manejo com feromônio sexual sintético e nas interações tritróficas mediadas por voláteis de *Oryza sativa* (POACEAE). 2015. 66 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.

MARTINS, J. F. da S.; GRÜTZMACHER, A. D.; CUNHA, U. S. da. Descrição e manejo integrado de insetos-praga em arroz irrigado. In: **Arroz Irrigado no sul do Brasil**. Brasília, D.F.: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. p. 635-675.

MILLAR, J. G. *et al.* Pentatomid bug pheromones in IPM: possible applications and limitations. **IOBC wprs Bulletin**, Gent, v. 25, p. 1-11, 2002.

MORAES, M. C. B. *et al.* Sex attractant pheromone from the neotropical red-shouldered stink bug, *Thyanta perditor* (F.). **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 31, n. 6, p. 1415-1427, 2005.

MORAES, M.C.B. *et al.* The chemical volatiles (Semiocemicals) produced by neotropical stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 37, n. 5, p. 489-505, 2008.

MORAES, M. C. B. *et al.* Vibrational communication and mating behavior of *Dichelops melacanthus* (Hemiptera: Pentatomidae) recorded from loudspeaker membranes and plants. **Physiological Entomology**, Oxford, v. 39, n. 1, p. 1-11, 2014.

OLIVEIRA, M. W. M. de *et al.* Zingiberenol, (1S,4R,1'S)-4-(1',5'-Dimethylhex-4'-enyl)-1-methylcyclohex-2-en-1-ol, Identified as the Sex Pheromone Produced by Males of the Rice Stink Bug *Oebalus poecilus* (Heteroptera: Pentatomidae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 61, n. 32, p. 7777-7785, 2013.

PIRES, S.S.P. *et al.* Potencial de uso de armadilhas iscadas com o feromônio sexual do percevejo marrom, *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae), para o monitoramento populacional de percevejos praga da soja. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecología**, Turrialba, Costa Rica, n. 77, p. 70-77, 2006.

QUINTELA, E. D. *et al.* Enhanced susceptibility of *Tibraca limbativentris* (Heteroptera: Pentatomidae) to *Metarhizium anisopliae* with sublethal doses of chemical insecticides. **Biological Control**, Orlando, v. 66, n. 1, p. 56-64, 2013.

RENOU, M. Pheromones and General Odor Perception in Insects. In: MUCIGNAT-CARETTA, C. (Ed.). **Neurobiology of Chemical Communication**. Boca Raton (FL): CRC Press, 2014.

SILVA, C.C.A. *et al.* **Ciclo de vida e metodologia de criação de *Tibraca limbativentris* Stål, 1860 (Heteroptera: Pentatomidae) para estudos de ecologia química**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2004. 16 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 78).

SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO. SOSBAI. **Arroz irrigado: Recomendações Técnicas da Pesquisa para o Sul do Brasil**. Bento Gonçalves, RS: SOSBAI, 2016. 200 p.

SOUZA, J. R. *et al.* Resistência do tipo antibiose a ninfas de *Tibraca limbativentris* (Stal, 1860) (Heteroptera: Pentatomidae) em variedades de arroz. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 75, n. 3, p. 321-326, 2008.

SOUZA, J. R. *et al.* Divergência genética de cultivares de arroz quanto à resistência a *Tibraca limbativentris* Stal (Hemiptera: Pentatomidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 38, n. 5, p. 671-676, 2009.

TOGNON, R.; SANT'ANA, J.; JAHNKE, S. M. Aprendizagem e memória de *Telenomus podisi* (Hymenoptera, Platygastridae). **Iheringia, Série Zoologia**, Porto Alegre, v. 103, n. 3, p. 266-271. 2013.

**3. CAPÍTULO III. IMPACTO DE FITORMÔNIOS NO PERFIL QUÍMICO
DE PLANTAS DE ARROZ E NO COMPORTAMENTO QUIMIOTÁXICO
DE *Tibraca limbativentris* (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) E *Telenomus
podisi* (HYMENOPTERA: SCELIONIDAE)**

3.1 INTRODUÇÃO

Durante o processo coevolutivo com os insetos, as plantas desenvolveram mecanismos de defesa para conter o ataque dos herbívoros, categorizadas como constitutivas ou induzidas. As constitutivas são barreiras que as plantas possuem mesmo sem estarem expostas a herbivoria e as induzidas são ativadas após o ataque de insetos (Karban & Baldwin, 1997). Estas últimas, geralmente, são de ação mais específica (Chen, 2008) e podem atuar de forma direta sobre herbívoro, afetando negativamente sua fisiologia e/ou comportamento (Smith & Boyka, 2006; Dicke & Baldwin, 2010; War *et al.*, 2012) ou indireta, recrutando inimigos naturais.

Em plantas de arroz, defesas indiretas foram registradas por Lou *et al.* (2005), os quais constataram que o parasitoide *A. nilaparvatae* foi mais atraído por plantas previamente infestadas pela cigarrinha marrom *N. lugens* do que por plantas sem a presença deste inseto. De forma semelhante, o ataque da lagarta-da-folha *S. frugiperda* modificou o perfil cromatográfico de plantas de arroz, aumentando principalmente a emissão de linalol, o que resultou em maior atração do parasitoide *Cotesia marginiventris* Cresson, 1865 (Hymenoptera: Braconidae) (Yuan *et al.*, 2008). Machado *et al.* (2014) também constataram que plantas de arroz submetidas ao dano do percevejo-do-colmo *T. limbativentris* apresentaram mudança no perfil químico, o que refletiu negativamente na atratividade de fêmeas coespecíficas e positivamente na atração de seu inimigo natural, *T. podisi*. Recentemente foi registrado na cultura do milho (*Zea mays* L.) e do girassol

(*Helianthus annuus* L.) que plantas atacadas pelo percevejo *E. heros* também foram mais atrativas para *T. podisi* do que as não infestadas (Dias *et al.*, 2016).

Tais defesas compreendem, entre outros mecanismos, a produção de compostos orgânicos voláteis derivados do metabolismo secundário das plantas (Dicke & Baldwin 2010). A emissão destes compostos ocorre, principalmente, após a herbivoria e é desencadeada pela ativação de rotas metabólicas como a octadecanoide e do ácido mevalônico, coordenadas principalmente pelos hormônios ácido jasmônico, ácido salicílico e etileno (Arimura *et al.*, 2009; Wu & Baldwin, 2009). O uso destes e outros fitormônios na indução de defesas tem sido estudado em diversas espécies de importância agrícola como milho (Engelberth *et al.*, 2011), alface (Tierranegra-García *et al.*, 2011), soja (Accamando & Cronin, 2012), sorgo (Hussain *et al.*, 2014), tomate (Grinberg-Yaari *et al.*, 2015) e amendoim (War *et al.*, 2015). Em arroz, a ativação dos mecanismos de defesa com a utilização de ácido jasmônico foi constatada nas interações com *N. lugens* (Senthil-Nathan *et al.*, 2009), *S. frugiperda* (Stout *et al.*, 2009) e *L. oryzaophilus* (Hamm *et al.*, 2010), nas quais os autores observaram menores índices de sobrevivência e desenvolvimento destes insetos em plantas tratadas com ácido jasmônico.

Tibraca limbativentris é um inseto de difícil controle, pois o hábito de sugar o colmo das plantas o mantém protegido pelas folhas da ação direta de inseticidas, representando um desafio à produção de arroz. Seus danos estão relacionados à necrose parcial ou total da parte central dos colmos, em decorrência da injeção de saliva tóxica, podendo acarretar no retardamento do crescimento da mesma (Ferreira *et al.*, 1997). O microhimenóptero *T. podisi* é um importante agente que atua no controle biológico natural de *T. limbativentris*, com índices de parasitismo, em lavouras de arroz no Brasil, entre 75 e 89% (Maciel *et al.*, 2007; Farias, 2012; Idalgo *et al.*, 2013).

Não há na literatura registros de trabalhos que tenham verificado a influência da aplicação exógena de fitormônios na emissão de voláteis da planta e no comportamento

quimiotático de *T. limbativentris* e *T. podisi*. Este trabalho objetivou avaliar o efeito dos compostos voláteis emitidos por plantas que sofreram herbivoria pelo percevejo do colmo ou receberam aplicações exógenas de ácido jasmônico ou salicílico, em diferentes concentrações, bem como, observar as respostas quimiotáticas de *T. limbativentris* e *T. podisi* frente a plantas de arroz submetidas a estes tratamentos.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

As criações e bioensaios foram realizados no Laboratório de Etologia e Ecologia Química de Insetos (LEEQI) da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, sob condições controladas (25 ± 1 °C; $60 \pm 10\%$ U. R.; fotofase de 14 horas).

3.2.1 Obtenção e criação de *T. limbativentris*

Percevejos provenientes de lavouras de arroz irrigado do Rio Grande do Sul dos municípios de Eldorado do Sul ($30^{\circ}02'30''\text{S}$; $51^{\circ} 20'45''\text{O}$), Mostardas ($30^{\circ}51'16''\text{S}$; $50^{\circ}36'06''\text{O}$), Capivari do Sul ($30^{\circ} 08'42''\text{S}$; $50^{\circ}30'53''\text{O}$), Cachoeirinha ($29^{\circ}55'08''\text{S}$; $51^{\circ}17'82''\text{O}$), Guaíba ($30^{\circ}06'28''\text{S}$; $51^{\circ}20'2''\text{O}$) e Viamão ($30^{\circ}04'18''\text{S}$; $51^{\circ}05'47''\text{O}$) foram coletados para criação, adaptando a metodologia proposta por Silva *et al.* (2004). Os adultos foram colocados em gaiolas confeccionadas com potes plásticos (5 L) cobertas com tecido do tipo voile com touceiras de arroz (IRGA-409), que serviram de substrato de alimentação e oviposição. As posturas foram recolhidas a cada dois dias, desinfestadas com solução de hipoclorito de sódio a 15% (2 % de cloro ativo) e colocadas em placas de Petri de 9 cm de diâmetro. As ninfas foram alimentadas com plantas jovens de arroz, cultivadas em vasos de 200 mL, vagens verdes de feijão, grãos de soja amendoim e frutos de ligustro até atingirem a fase adulta.

3.2.2 Obtenção e criação de *E. heros* e *T. podisi*

Foi estabelecida uma criação do percevejo-marrom-da-soja *E. heros* a partir de ovos fornecidos pelo Laboratório de Ecologia e Semioquímicos da Embrapa Recursos

Genéticos e Biotecnologia (EMBRAPA-CENARGEN). Os adultos foram criados em caixas de plástico (20 x 20 x 24 cm) e alimentados com sementes de amendoim, grãos secos de soja, vagens verdes de feijão, e frutos de ligustro. Os ovos foram coletados a cada dois dias, desinfestados com solução de hipoclorito de sódio a 15% (2% de cloro ativo) e transferidos para placas de Petri (9 cm de diâmetro). Ninfas de 1º e 2º instares foram criadas em placas de Petri e alimentadas com vagens verdes de feijão. Ao atingir o 3º instar foram transferidas para caixas Gerbox (11 x 11 x 3 cm) e alimentadas com a mesma dieta dos adultos. No 5º instar, estas foram transferidas para as caixas de plástico descritas anteriormente.

O parasitoide *T. podisi* foi obtido da EMBRAPA-CENARGEN a partir de ovos de *E. heros*, sendo posteriormente estabelecida uma criação no LEEQI em ovos da mesma espécie. Posturas de *E. heros*, com até um dia de idade, foram oferecidas diariamente a parasitoides previamente pareados e mantidas com estes por 24 horas. Após esse período, foram transferidas para tubos de vidro (9 x 2 cm), com a abertura coberta por parafilme impregnado com uma gota de mel (~ 3 µL), até a emergência das vespas, as quais permaneceram nas mesmas condições controladas descritas para o percevejo até a realização dos bioensaios. Posteriormente, os espécimes foram encaminhados ao Dr. Valmir Antônio Costa do Instituto Biológico de São Paulo para a confirmação da identificação.

3.2.3 Semeadura e cultivo das plantas

Sementes da cultivar BR-IRGA 409 foram desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio 1% por 5 min e pré-germinadas. Quando atingiram o estágio S3 da escala proposta por Counce *et al.* (2000), foram transplantadas para vasos plásticos de 300 mL, contendo um substrato preparado solo, areia e vermiculita na proporção de 2:1:1, adubados com 1,5 g de adubo de formulação N-P-K 5-20-20. Os vasos permaneceram na casa de vegetação do Departamento de Fitossanidade da Faculdade de

Agronomia até o momento de receber os tratamentos. Todos os vasos foram irrigados diariamente e cobertos com tecido voile sobre uma armação de arame de 40 cm de altura e 20 cm de diâmetro.

3.2.4 Preparo das soluções

Para o preparo das soluções de ácido jasmônico (Sigma-Aldrich), 0,21 g de reagente foi diluído em 1 mL de etanol e dissolvido em 200 mL de água destilada, obtendo-se a solução 5 mM. Desta, foi retirada uma alíquota de 100 mL para diluição e preparo da solução 2 mM de ácido jasmônico. A solução 16 mM de ácido salicílico (Sigma-Aldrich) foi preparada pela diluição de 0,44 g em 1 mL de etanol e em seguida em 200 mL de água destilada. Desta, foi retirada uma alíquota de 100 mL para a obtenção da solução 8 mM de ácido salicílico. A solução 1 mL de etanol em 200 mL de água destilada foi utilizada como controle.

3.2.5 Tratamento das plantas

As plantas de arroz receberam o tratamento com os fitormônios quando estavam no estágio V4 da escala de Counce *et al.*, (2000), 24 horas antes da realização dos testes. A pulverização das soluções foi feita com um borrifador de pressão manual de plástico, com capacidade de 10 mL, em todas as folhas e no colmo, até que a solução escorresse por toda a planta, utilizando um volume aproximado de 5 mL/planta. Estas também foram submetidas à herbivoria do percevejo-do-colmo. Neste caso, duas fêmeas pareadas, com idade entre 15 e 30 dias, passaram por um período de jejum de 24 horas e foram liberadas nas plantas de arroz por 48 horas, em vasos plásticos de 300 mL cobertos com um saco plástico microperfurado. As gaiolas eram vistoriadas duas vezes por dia para confirmação da herbivoria, observando-se o comportamento alimentar, caracterizado pelo contato do aparelho bucal com a planta.

Em todos os tratamentos, os vasos com plantas que sofreram a intervenção com os tratamentos, foram mantidos sob condições controladas, em diferentes câmaras B.O.D. (25 ± 1 °C; $60 \pm 10\%$ U. R.; fotofase de 14 horas), até a realização dos testes.

3.2.6 Coleta e identificação de voláteis

Este bioensaio foi realizado no laboratório de análises de semioquímicos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia em Brasília, DF. Sementes da cultivar BR-IRGA 409 foram desinfestadas, pré-germinadas e semeadas conforme descrito no item 3.2.3. Quando as plantas tinham quatro folhas, foram tratadas com as soluções de AJ 2 mM, AJ 5 mM, AS 8 mM, AS 16 mM e etanol, preparadas conforme descrito no item 3.2.4, além de receber um tratamento apenas com água destilada (controle). Estes tratamentos ocorreram duas horas antes do início das coletas de voláteis e, durante este período, as plantas ficaram sob condições ambiente em diferentes salas das dependências do laboratório. O tratamento herbivoria ocorreu conforme descrito no item 3.2.5, 48 horas antes do início das coletas. Ao todo, foram sete tratamentos com dez repetições. Cada vaso de planta foi envolto em papel alumínio, a fim de evitar contaminação pelos voláteis do solo, e alocado individualmente em uma câmara de aeração confeccionada com um cilindro de vidro de volume interno de 10 L. Foram realizadas, simultaneamente, duas repetições de cada um dos sete tratamentos.

No sistema de aeração o ar (purificado em filtros de carvão ativado) era impulsionado para dentro das câmaras através de compressor de ar com fluxo de 1,2 L/min/câmara. Uma bomba de vácuo com um fluxo de 0,8 L/min forçava o ar a passar por um tubo de vidro com 8 cm de comprimento e 0,7 cm de diâmetro contendo 100 mg do polímero adsorvente Tenax[®] GR (Sigma Aldrich, 80-100 mesh). Os adsorventes orgânicos foram pré-condicionados por dessorção química através da adição de diclorometano (2 mL) e dessorção térmica a 135 °C sobre fluxo de N₂ por 24 horas. Todo

o sistema era conectado com o auxílio de tubos de politetrafluoretileno (PTFE, marca comercial Teflon[®])

As plantas foram aeradas por 48 horas e as coletas realizadas a cada 24, obtendo-se, dessa forma, extratos com 24 e 48 horas de aeração. Estes foram eluídos dos tubos adsorventes com 500 μL de hexano destilado (pureza 99%) e concentrados a 100 μL por um fluxo suave de N_2 , armazenados em *vials* com capacidade de 2mL e mantidos sob refrigeração a $-20\text{ }^\circ\text{C}$.

Para as análises de cromatografia gasosa acoplada a detector de ionização de chamas (CG-DIC) e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), uma alíquota de 20 μL de cada extrato foi separada e nesta foi adicionado 1 μL do padrão interno Tetracosano (1 mg/mL) ($\text{C}_{24}\text{H}_{50}$) (Fluka Analytical, Steinheim, 98% de pureza) para posterior quantificação dos compostos.

Os extratos (1 μL) foram injetados em CG (Agilent 7890, coluna DB-5, 60 m comprimento \times 0,32 mm diâmetro, filme 1 μm ; Supelco, Bellefonte, PA, USA) com detector de ionização por chama (DIC) a $250\text{ }^\circ\text{C}$, usando modo *splitless* e tendo hélio como gás de arraste. A temperatura inicial da rampa foi de $50\text{ }^\circ\text{C}$ por 2 min, aumentando gradualmente $5\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ até $180\text{ }^\circ\text{C}$ 0,1 min, seguida de um segundo aumento gradual de $10\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ até $250\text{ }^\circ\text{C}$ por 20 min. A temperatura do detector foi de $270\text{ }^\circ\text{C}$ e a do injetor $250\text{ }^\circ\text{C}$. A quantificação dos compostos foi feita por comparação das áreas de cada composto em relação a do padrão interno utilizado.

Para análise qualitativa dos compostos, amostras selecionadas foram injetadas em um cromatógrafo gasoso acoplado a espectrometria de massas (Agilent 5975 MSD) com ionização por impacto de elétrons (energia de ionização de 70 eV) com analisador quadrupolar. Os extratos foram injetados no modo *splitless* e o hélio foi usado como gás de arraste. O programa de temperatura e a coluna foram idênticos aos usados na análise por CG-DIC. A identificação dos compostos foi realizada por comparação do padrão de

fragmentação dos compostos da amostra com o de dados catalogados em bibliotecas espectrais (NIST 2008) e também pelo cálculo do índice de retenção IR. Para o cálculo do IR, uma mistura de padrões de alcanos (C₇-C₂₁) foi injetada, nas mesmas condições descritas anteriormente. As identificações, quando possível foram confirmadas por comparação dos tempos de retenção e espectros de massas com padrões autênticos e cálculo dos índices de Kovats.

A quantidade de compostos emitida pelas plantas foi analisada pelo teste de Sahpiro-Wilk, para verificação da normalidade, e em seguida por Kruskal-Wallis e contraste de Dunn, com 95% de confiabilidade, utilizando software Bioestat[®] 5.0.

3.2.7 Olfatometria

Os ensaios com *T. limbativentris* foram conduzidos com fêmeas virgens com idade entre 15 e 30 dias, em olfatômetro “Y” de vidro de dupla escolha, com diâmetro de 4 cm, arena inicial de 22 cm, bifurcada em dois braços de 8 cm cada. Os ensaios com *T. podisi* foram realizados com fêmeas de até 5 dias de idade, também em olfatômetro “Y” de vidro de dupla escolha, com diâmetro de 2 cm, braço principal de 11 cm e braços laterais com 8 cm. Para ambas as espécies, os insetos testados foram individualizados por 24 horas antes do início dos experimentos e aclimatados por 1 h na sala de testes. Estes foram conduzidos em sala climatizada durante a fotofase, sob luz fluorescente (60W, luminância igual a 290 lux). O fluxo de ar foi conduzido para dentro do sistema com o auxílio de um propulsor conectado a um fluxímetro, a uma taxa de 0,8 L/min. Ao final de cada braço do olfatômetro, foi acoplada uma câmara de vidro, de 29,5 cm altura e 12,5 cm diâmetro, onde foi alocada a planta a ser avaliada.

As respostas foram consideradas positivas quando os insetos percorreram, pelo menos, 4 cm dentro dos braços contendo os tratamentos e permaneceram nesta área por, no mínimo, um minuto. Foram considerados não responsivos os que não se movimentaram nos primeiros 5 minutos ou quando não percorreram pelo menos 4 cm em

nenhum dos dois braços do olfatômetro, em 10 minutos. A arena foi invertida (rotação de 180°), a cada três repetições e a cada seis, foi lavada com sabão neutro e hexano, e posteriormente seca em estufa de esterilização a 150 °C.

Os tratamentos utilizados foram: plantas aspergidas com AJ 2mM; AJ 5mM; AS 8mM; AS 16mM; etanol (controle) e infestadas com o percevejo-do-colmo. No bioensaio com fêmeas de *T. limbativentris* foi avaliada a primeira escolha do contraste entre os tratamentos com os fitormônios e planta infestada em relação ao etanol (controle). Nos testes com fêmeas de *T. podisi*, todos os tratamentos foram contrastados entre si. Foram registradas a primeira escolha, quando os parasitoides percorreram pelo menos 4 cm dentro dos braços e o tempo total de permanência do parasitoide em cada braço (tempo de residência em segundos).

Foram realizadas 40 repetições por tratamento. Os resultados da primeira escolha foram comparados pelo teste de Qui-quadrado ($\alpha = 0,05$) e os do tempo de residência, pelo Teste de Wilcoxon ($\alpha = 0,05$). O software utilizado foi BioEstat[®] 5.0.

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Coleta e identificação dos voláteis

Foram identificados e quantificados 20 compostos liberados pelas plantas (Figuras 8 e 9, Tabelas 1 e 2). Nas primeiras 24 horas de aeração, a emissão total de monoterpenos e álcoois não variou entre tratamentos ($P < 0,05$), mas houve maior emissão de sesquiterpenos ($H = 15,00$; $gl = 6$; $P = 0,02$) pelas plantas que sofreram herbivoria em relação às tratadas com AS 8mM e o controle com água (Tabela 1). As plantas tratadas com AS 16mM emitiram maior quantidade total de aldeídos que no tratamento AJ 5mM ($H = 19,35$; $gl = 6$; $P = 0,03$) e de salicilato de metila ($H = 25,33$; $gl = 6$; $P = 0,04$) que todos os demais, exceto o controle com etanol. Na segunda coleta, entre 24 e 48 horas de aeração, apenas o éster salicilato de metila variou entre os tratamentos, sendo maior a emissão no tratamento controle (água) ($H = 23,11$; $gl = 6$; $P < 0,04$) (Tabela 2).

Na comparação das quantidades de compostos liberados pelas plantas entre 0 - 24 e 24 - 48 horas, constatou-se que as tratadas com AJ 5mM aumentaram a emissão de sesquiterpenos ($H = 5,47$; $gl = 1$; $P < 0,01$), enquanto as tratadas com AS 16 mM reduziram a de monoterpenos ($H = 4,3$; $gl = 1$; $P < 0,03$), aldeídos ($H = 4,68$; $gl = 1$; $P < 0,03$) e do éster salicilato de metila ($H = 4,4$; $gl = 1$; $P < 0,04$). Plantas que sofreram herbivoria também reduziram a emissão de aldeídos no segundo dia ($H = 5,07$; $gl = 1$; $P < 0,02$). Para os demais tratamentos não foram constatadas diferenças nas liberações de compostos relacionadas a estes grupos químicos (Tabela 3).

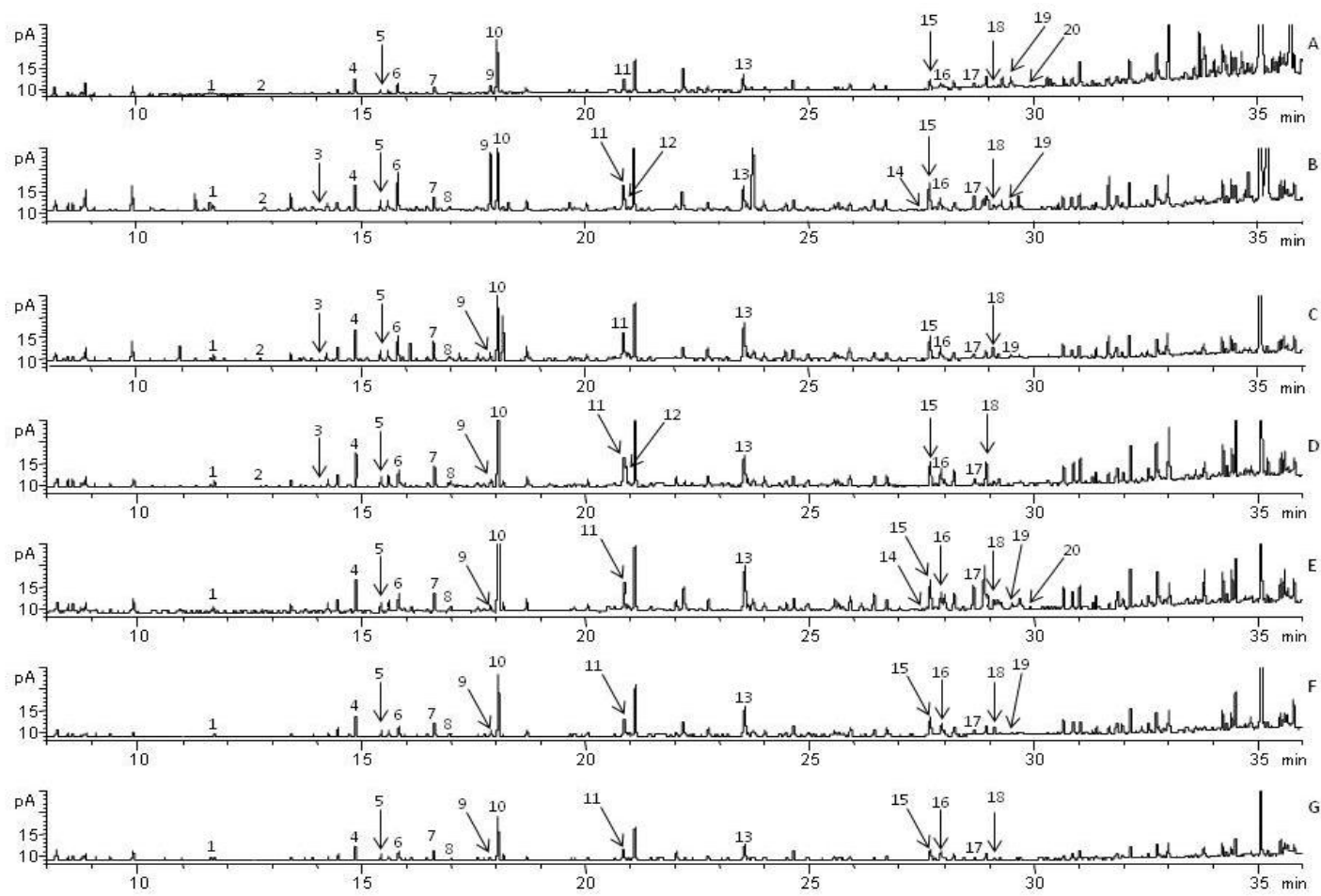


Figura 8. Cromatogramas dos extratos de aeração de plantas de arroz submetidas a diferentes tratamentos entre 0 - 24 horas de aeração. Tratamentos AJ: ácido jasmônico nas concentrações 2 mM (A) e 5 mM (B); AS: ácido salicílico nas concentrações 8 mM (C) e 16 mM (D); Herbivoria: plantas submetidas à herbivoria de *Tibraca limbativentris* (E). Etanol: 1 mL etanol + 200 mL água destilada (F); controle: água destilada (G). Os números indicam os compostos: 1) Heptanal; 2) α -pineno; 3) 1-octen-3-ol; 4) Octanal; 5) 1-hexanol-2-etil; 6) Limoneno; 7) γ -terpineno; 8) Octanol; 9) Linalol; 10) Nonanal; 11) Salicilato de metila; 12) α -terpineol; 13) Indol; 14) α -bergamoteno; 15) Geranyl acetona; 16) β -farneseno; 17) α -curcumeno; 18) β -bisaboleno; 19) β -sesquifelandreno; 20) α -zingibereno.

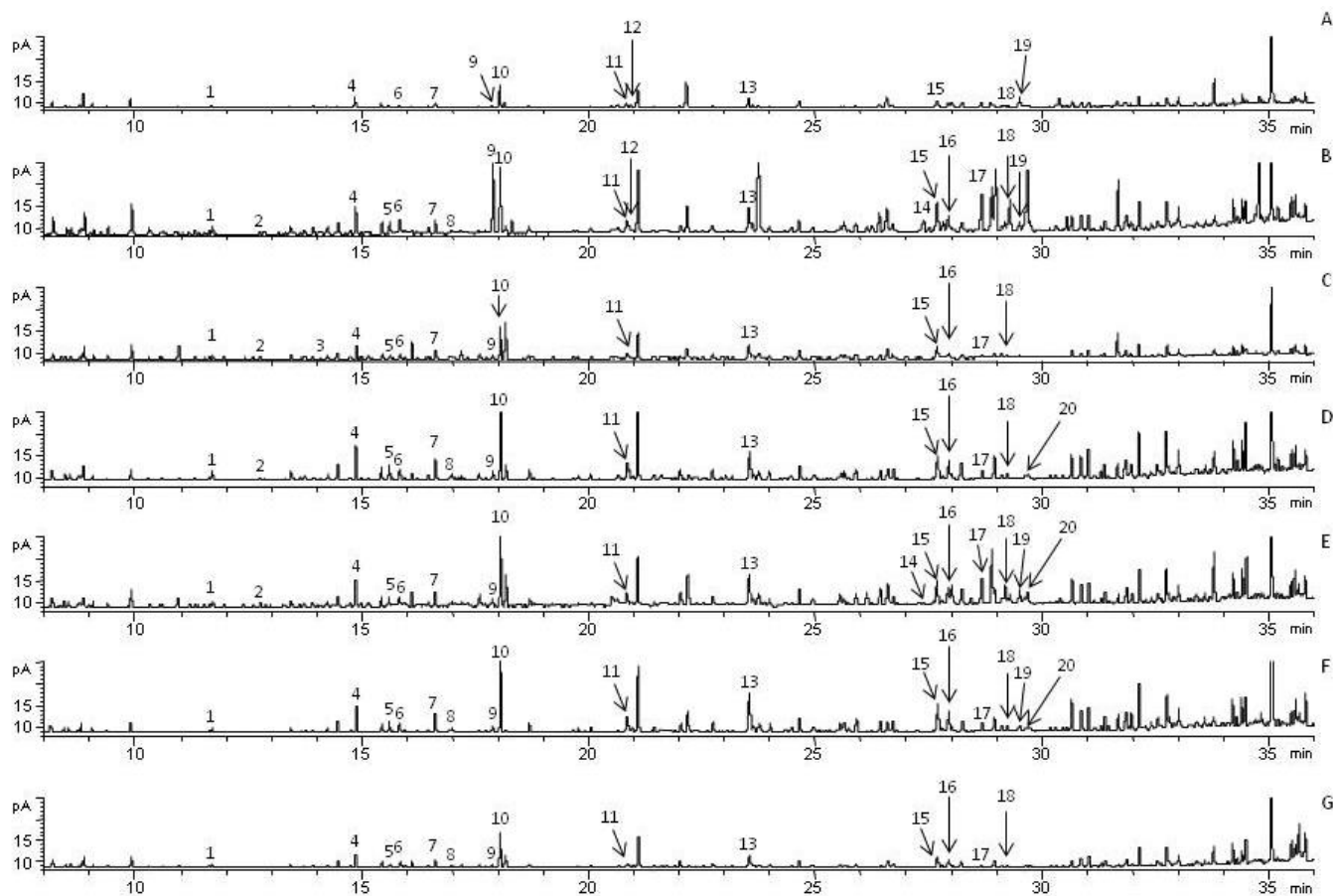


Figura 9. Cromatogramas dos extratos de aeração de plantas de arroz submetidas a diferentes tratamentos entre 24 - 48 horas de aeração. Tratamentos AJ: ácido jasmônico nas concentrações 2 mM (A) e 5 mM (B); AS: ácido salicílico nas concentrações 8 mM (C) e 16 mM (D); Herbivoria: plantas submetidas à herbivoria de *Tibraca limbativentris* (E). Etanol: 1 mL etanol + 200 mL água destilada (F); controle: água destilada (G). Os números indicam os compostos 1) Heptanal; 2) α -pineno; 3) 1-octen-3-ol; 4) Octanal; 5) 1-hexanol-2-etil; 6) Limoneno; 7) γ terpineno; 8) Octanol; 9) Linalol; 10) Nonanal; 11) Salicilato de metila; 12) α -terpineol; 13) indol; 14) α -bergamoteno; 15) Geranyl acetona; 16) β -farneseno; 17) α -curcumeno; 18) β -bisaboleno; 19) β -sesquifelandreno; 20) α -zingibereno.

Tabela 1. Quantidade média (μg) \pm EP dos compostos liberados por plantas de arroz submetidas a diferentes tratamentos entre 0 - 24 horas de aeração. Tratamentos AJ: ácido jasmônico nas concentrações 2 mM e 5 mM; AS ácido salicílico nas concentrações 8 mM e 16 mM; Herbivoria: plantas previamente submetidas à herbivoria de duas fêmeas de *Tibraca limbativentris*; Etanol: 1mL de etanol + 200 mL de água destilada; Controle: água destilada. (n=10)

Composto	Tempo de retenção (min)	AJ 2 mM	AJ 5 mM	AS 8 mM	AS 16 mM	Herbivoria	Controle (etanol)	Controle (água)
Monoterpenos								
α -pineno	12,87	7,1 \pm 2,13* b	3,0 \pm 0,53 b	13,7 \pm 6,21 b	53,9 \pm 28,08 a	49,9 \pm 23,85 a	24,5 \pm 9,21 ab	6,8 \pm 1,96 b
Limoneno	15,84	26,0 \pm 8,02 ns	16,8 \pm 3,14	40,2 \pm 16,43	68,2 \pm 12,47	58,6 \pm 19,02	62,3 \pm 13,18	51,9 \pm 19,19
γ -terpineno	16,64	26,01 \pm 10,03 ns	13,2 \pm 4,13	28,8 \pm 9,68	48,0 \pm 12,12	40,2 \pm 11,24	48,2 \pm 18,85	29,8 \pm 11,13
Linalol	17,9	51,2 \pm 12,67 a	32,9 \pm 4,52 a	13,8 \pm 2,87 b	26,9 \pm 8,09 ab	35,7 \pm 12,34 a	29,03 \pm 6,48 ab	13,51 \pm 3,77 b
α -terpineol	20,97	9,6 \pm 3,15 b	2,9 \pm 0,98 b	12,5 \pm 3,60 ab	18,6 \pm 6,78 a	18,9 \pm 6,32 a	19,0 \pm 5,14 a	19,8 \pm 7,89 a
Total		98,8 \pm 22,07 ns	68,8 \pm 10,22	108,6 \pm 28,24	215,4 \pm 51,79	184,1 \pm 46,61	180,0 \pm 21,75	110,7 \pm 46,26
Sesquiterpenos								
α -bergamoteno	27,51	1,5 \pm 0,66 ns	3,0 \pm 0,73	0,4 \pm 0,12	1,4 \pm 0,7	5 \pm 1,21	0,2 \pm 0,01	0,4 \pm 0,14
Geranyl acetona	27,7	47,8 \pm 11,72 b	32,9 \pm 7,68 b	35,2 \pm 9,72 b	117,7 \pm 40,89 a	107,4 \pm 26,87 a	94,6 \pm 19,89 a	48,9 \pm 12,67 b
β -farneseno	27,83	12,2 \pm 3,46 ns	8,8 \pm 2,12	7,4 \pm 1,83	21,5 \pm 6,25	17,8 \pm 6,15	12,4 \pm 2,91	10,32 \pm 4,77
α -curcumeno	28,68	28,9 \pm 9,73 b	25,5 \pm 7,73 b	13,0 \pm 3,49 b	37,6 \pm 13,26 b	87,2 \pm 30,29 a	22,9 \pm 7,63 b	14,8 \pm 3,70 b
β -bisaboleno	29,19	7,4 \pm 1,71 b	2,7 \pm 0,79 c	12,4 \pm 4,77 b	2,4 \pm 1,18 c	31,9 \pm 9,43 a	1,5 \pm 0,42 c	1,6 \pm 0,41 c
β -sesquifelandreno	29,5	29,7 \pm 7,82 b	26,3 \pm 8,44 b	16,2 \pm 4,23 b	13,3 \pm 4,31 b	55,8 \pm 9,30 a	26,2 \pm 8,23 b	11,6 \pm 4,63 b
α -zingibereno	29,96	28,8 \pm 5,43 ns	22,9 \pm 7,85	15,8 \pm 3,88	61,4 \pm 21,90	54,9 \pm 13,21	35,0 \pm 7,97	19,7 \pm 5,02
Total		151,6 \pm 37,94 ab	122,3 \pm 29,15 ab	100,5 \pm 21,00 b	255,4 \pm 73,58 ab	360,2 \pm 72,4 a	193,1 \pm 39,65 ab	107,3 \pm 26,22 b
Aldeídos								
Heptanal	11,70	11,8 \pm 3,12 ns	7,11 \pm 1,74	10,6 \pm 2,23	24,5 \pm 6,56	27,2 \pm 11,93	23,9 \pm 10,76	12,7 \pm 4,41
Octanal	14,87	39,5 \pm 17,92 b	27,9 \pm 6,31 b	46,5 \pm 9,19 b	320,15 \pm 119,32 a	150,4 \pm 75,13 b	100,3 \pm 35,32 b	57,5 \pm 19,98 b
Nonanal	18,05	180,3 \pm 41,23 b	96,1 \pm 17,67 b	140,4 \pm 28,18 b	347,0 \pm 99,21 b	485,8 \pm 151,33 a	308,8 \pm 71,73 b	170,8 \pm 51,88 b
Indol	23,63	14,1 \pm 3,61 b	8,3 \pm 1,92 b	13,3 \pm 3,07 b	41,7 \pm 14,48 a	26,9 \pm 5,14 ab	22,5 \pm 4,16 ab	15,9 \pm 4,14 b
Total		251,6 \pm 92,28 ab	139,4 \pm 22,08 b	210,8 \pm 31,17 ab	733,4 \pm 225,71 a	690,4 \pm 195,48 a	446,4 \pm 94,25 ab	258,0 \pm 85,45 ab
Álcoois								
1-octen-3-ol	14,09	4,9 \pm 1,05 ns	4,7 \pm 1,09	3,3 \pm 0,99	6,3 \pm 1,65	13,67 \pm 4,25	4,95 \pm 2,13	3,48 \pm 1,71
1-hexanol-2-etil	15,61	27,7 \pm 9,91 b	13,5 \pm 3,95 b	24,0 \pm 4,96 b	63,2 \pm 18,41 a	45,1 \pm 13,57 ab	46,0 \pm 16,63 ab	25,5 \pm 5,82 b
Octanol	16,94	19,1 \pm 6,14 b	9,8 \pm 3,18 b	17,8 \pm 3,23 b	39,8 \pm 11,78 ab	51,9 \pm 16,71 a	31,8 \pm 8,12 ab	18,9 \pm 5,15 b
Total		52,1 \pm 18,05 ns	28,2 \pm 7,04	45,2 \pm 15,07	104,7 \pm 36,57	110,7 \pm 30,80	82,8 \pm 24,27	48,0 \pm 11,51
Éster								
Salicilato de metila	20,88	52,2 \pm 13,04 b	26,7 \pm 7,12 b	39,0 \pm 10,08 b	137,1 \pm 51,67 a	103,2 \pm 33,86 a	82,7 \pm 21,59 ab	42,0 \pm 11,32 b

*Médias seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem pelo teste de Dunn ao nível de significância de 5%.

ns = não significativo

Tabela 2. Quantidade média (μg) \pm EP de compostos liberados por plantas de arroz submetidas a diferentes tratamentos entre 24 - 48 horas após o início da aeração. Tratamentos AJ: ácido jasmônico nas concentrações 2 mM e 5 mM; AS ácido salicílico nas concentrações 8 mM e 16 mM; Herbivoria: plantas previamente submetidas à herbivoria de duas fêmeas de *Tibraca limbativentris*; Etanol: 1mL de etanol + 200 mL de água destilada; Controle: água destilada. (n=10)

Composto	Tempo de retenção (min)	AJ 2 mM	AJ 5 mM	AS 8 mM	AS 16 mM	Herbivoria	Controle (etanol)	Controle (água)
Monoterpenos								
α -pineno	12,87	9,0 \pm 4,03* b	3,63 \pm 1,13 b	23,1 \pm 10,15 ab	17,39 \pm 7,16 b	36,0 \pm 18,76 a	25,6 \pm 10,54 ab	39,9 \pm 23,77 a
Limoneno	15,84	23,7 \pm 7,19 ns	17,4 \pm 4,60	45,2 \pm 18,85	31,5 \pm 9,69	43,5 \pm 18,77	37,3 \pm 8,32	54,9 \pm 19,13
γ -terpineno	16,64	22,2 \pm 6,48 ns	5,8 \pm 2,39	19,3 \pm 7,19	20,4 \pm 5,46	18,2 \pm 6,51	33,3 \pm 13,02	35,6 \pm 11,23
Linalol	17,9	11,3 \pm 3,11 b	59,7 \pm 12,60 a	11,4 \pm 2,96 b	12,7 \pm 2,61 b	9,6 \pm 3,11 b	23,5 \pm 7,01 b	40,33 \pm 16,65 a
α -terpineol	20,97	6,9 \pm 1,75 ns	3,2 \pm 0,78	7,1 \pm 2,74	10,3 \pm 2,81	7,6 \pm 3,98	14,9 \pm 4,65	22,4 \pm 9,39
Total		73,1 \pm 18,90 ns	89,8 \pm 17,70	106,0 \pm 43,44	92,3 \pm 21,05	115,0 \pm 37,44	134,8 \pm 31,67	193,6 \pm 47,9
Sesquiterpenos								
α -bergamoteno	27,51	2,1 \pm 0,71 ns	3,7 \pm 1,1	0,5 \pm 0,11	0,2 \pm 0,01	3,2 \pm 1,11	0,3 \pm 0,12	0,5 \pm 0,32
Geranyl acetona	27,7	32,5 \pm 8,32 b	30,2 \pm 8,31 b	31,4 \pm 12,28 b	27,3 \pm 5,62 b	50,2 \pm 18,4 a	57,1 \pm 23,10 a	68,8 \pm 15,71 a
β -farneseno	27,83	8,7 \pm 3,08 ns	21,2 \pm 7,79	6,2 \pm 2,12	7,37 \pm 1,26	9,9 \pm 3,67	10,4 \pm 4,41	17,3 \pm 3,18
α -curcumeno	28,68	34,9 \pm 17,71 b	54,4 \pm 12,22 a	10,3 \pm 5,12 b	15,4 \pm 7,04 b	73,4 \pm 29,9 a	18,3 \pm 6,67 b	26,4 \pm 11,33 b
β -bisaboleno	29,19	11,1 \pm 5,31 b	23,8 \pm 8,05 ab	6,0 \pm 3,53 b	1,6 \pm 0,59 b	35,8 \pm 16,61 a	7,8 \pm 3,4 b	5,6 \pm 2,26 b
β -sesquifelandreno	29,5	18,2 \pm 4,51 b	55,3 \pm 12,68 a	25,9 \pm 9,02 b	66,2 \pm 21,23 a	49,2 \pm 13,4 a	26,1 \pm 9,45 b	22,8 \pm 10,11 b
α -zingibereno	29,96	13,3 \pm 6,64 ns	34,9 \pm 11,49	16,4 \pm 6,19	24,1 \pm 14,85	46,2 \pm 16,19	20,6 \pm 9,91	30,8 \pm 9,03
Total		120,1 \pm 33,51 ns	223,7 \pm 29,54	93,9 \pm 22,42	141,9 \pm 62,36	267,9 \pm 90,28	140,6 \pm 44,57	177,1 \pm 27,47
Aldeídos								
Heptanal	11,70	9,0 \pm 4,03 ns	3,6 \pm 1,26	23,1 \pm 10,73	17,3 \pm 8,95	13,9 \pm 6,65	20,4 \pm 9,43	27,6 \pm 12,18
Octanal	14,87	28,0 \pm 9,13 b	25,2 \pm 8,1 b	33,1 \pm 6,99 b	34,6 \pm 9,66 b	62,1 \pm 33,4 a	65,9 \pm 12,86 a	53,0 \pm 10,41 ab
Nonanal	18,05	86,4 \pm 38,76 b	62,6 \pm 24,31 b	91,4 \pm 31,89 b	93,7 \pm 40,11 b	190,0 \pm 79,33 a	185,3 \pm 71,86 a	315,4 \pm 131,30 a
Indol	23,63	11,7 \pm 2,22 ns	8,9 \pm 4,47	12,3 \pm 5,37	13,2 \pm 2,19	17,2 \pm 8,21	18,6 \pm 4,66	28,8 \pm 5,12
Total		135,2 \pm 35,37 ns	103,1 \pm 25,88	147,8 \pm 40,38	151,8 \pm 33,44	283,3 \pm 91,05	290,4 \pm 75,21	521,9 \pm 207,39
Álcoois								
1-octen-3-ol	14,09	1,24 \pm 0,42 ns	5,3 \pm 1,88	2,2 \pm 0,67	1,68 \pm 0,44	3,4 \pm 1,68	4,4 \pm 1,2	11,3 \pm 5,6
1-hexanol-2-etil	15,61	12,9 \pm 4,01 b	11,6 \pm 5,12 b	14,0 \pm 6,3 b	16,3 \pm 5,65 b	31,2 \pm 13,902 ab	29,2 \pm 11,33 ab	45,0 \pm 22,88 a
Octanol	16,94	9,7 \pm 4,74 ns	8,5 \pm 3,41	11,9 \pm 4,46	9,2 \pm 3,7	25,8 \pm 8,11	24,4 \pm 9,32	36,5 \pm 16,41
Total		23,8 \pm 5,06 ns	25,4 \pm 6,64	28,1 \pm 7,36	27,1 \pm 5,65	60,1 \pm 22,33	57,5 \pm 13,20	93,0 \pm 27,26
Éster								
Salicilato de metila	20,88	28,4 \pm 8,04 b	20,3 \pm 9,58 b	27,8 \pm 9,16 b	28,8 \pm 13,17 b	46,9 \pm 19,4 b	63,4 \pm 28,77 b	137,4 \pm 69,71 a

*Médias seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem pelo teste de Dunn ao nível de significância de 5%.

ns = não significativo

Tabela 3. Quantidade média (μg) \pm EP dos compostos liberados por plantas de arroz submetidas a diferentes tratamentos entre 0 - 24 e 24 - 48 horas após o início da aeração. Tratamentos AJ: ácido jasmônico nas concentrações 2 mM e 5 mM; AS ácido salicílico nas concentrações 8 mM e 16 mM; Herbivoria: plantas previamente submetidas à herbivoria de duas fêmeas de *Tibraca limbativentris*; Etanol: 1mL de etanol + de 200 mL água destilada; Controle: água destilada. (n=10)

Tratamentos	Composto	0-24 horas	24-48 horas
AJ 2mM	Monoterpenos	98,8 \pm 22,07	73,1 \pm 18,90
	Sesquiterpenos	151,6 \pm 37,94	120,3 \pm 33,51
	Aldeídos	251,6 \pm 92,28	135,2 \pm 35,37
	Álcoois	52,1 \pm 18,05	23,8 \pm 5,06
	Éster	52,2 \pm 13,04	28,4 \pm 8,04
AJ 5 mM	Monoterpenos	68,8 \pm 10,22	89,8 \pm 17,70
	Sesquiterpenos	122,3 \pm 29,15	223,7 \pm 29,54 *
	Aldeídos	139,4 \pm 22,08	103,1 \pm 25,88
	Álcoois	28,8 \pm 7,04	25,4 \pm 6,64
	Éster	26,7 \pm 7,12	20,3 \pm 9,58
AS 8 mM	Monoterpenos	108,6 \pm 28,24	106,0 \pm 43,33
	Sesquiterpenos	100,5 \pm 21,00	93,9 \pm 22,42
	Aldeídos	210,8 \pm 31,17	147,8 \pm 40,38
	Álcoois	45,2 \pm 15,07	28,1 \pm 7,36
	Éster	39,0 \pm 10,08	27,8 \pm 9,16
AS 16 mM	Monoterpenos	215,4 \pm 51,79	92,3 \pm 21,05 *
	Sesquiterpenos	255,7 \pm 73,58	141,9 \pm 62,36
	Aldeídos	733,4 \pm 255,71	151,8 \pm 33,44*
	Álcoois	104,7 \pm 36,57	27,1 \pm 5,56
	Éster	137,1 \pm 51,67	28,8 \pm 13,17*
Herbivoria	Monoterpenos	184,1 \pm 46,6	115,0 \pm 37,44
	Sesquiterpenos	360,2 \pm 72,4	267,9 \pm 90,28
	Aldeídos	690,4 \pm 195,48	283,3 \pm 91,05*
	Álcoois	110,7 \pm 30,80	60,1 \pm 22,33
	Éster	103,2 \pm 33,86	46,9 \pm 19,4
Controle (etanol)	Monoterpenos	180,0 \pm 21,75	134,8 \pm 31,67
	Sesquiterpenos	193,1 \pm 39,65	140,6 \pm 44,57
	Aldeídos	446,4 \pm 94,25	290,4 \pm 75,21
	Álcoois	82,8 \pm 24,27	57,5 \pm 13,20
	Éster	82,7 \pm 21,59	63,4 \pm 28,77
Controle (água)	Monoterpenos	110,7 \pm 46,26	193,6 \pm 47,9
	Sesquiterpenos	107,3 \pm 62,22	177,1 \pm 27,47
	Aldeídos	258,0 \pm 85,45	521,9 \pm 207,39
	Álcoois	48,0 \pm 11,51	93,0 \pm 27,26
	Éster	42,0 \pm 11,32	137,4 \pm 69,71

*Médias seguidas por asterisco, na linha, diferem pelo teste de Dunn ao nível de significância de 5%.

3.3.2. Olfatometrias

A primeira escolha de fêmeas de *T. limbativentris* foi significativamente maior para o controle (etanol) quando este foi contrastado com o AS 16 mM ($\chi^2 = 6,4$; gl = 1; $P = 0,0114$). Não houve diferença nas respostas quimiotáticas do percevejo para os demais contrastes de fitormônios ou herbivoria com o controle ($P > 0,05$) (Figura 10).

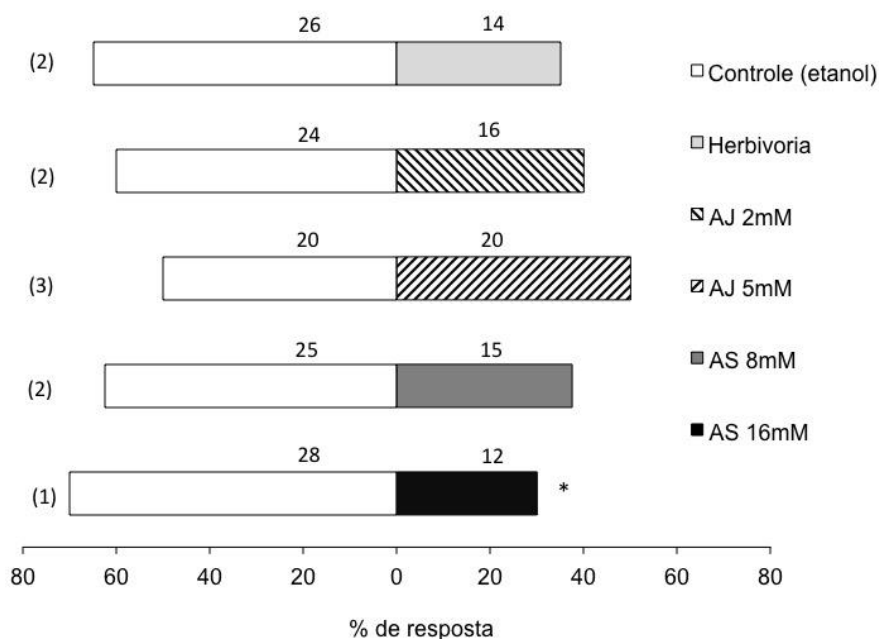


Figura 10. Primeira escolha (%) de fêmeas de *Tibraca limbativentris* em olfatômetro em Y a plantas de arroz previamente infestadas por fêmeas coespecíficas (herbivoria) ou tratadas com ácido jasmônico (AJ), ácido salicílico (AS), em diferentes concentrações e controle (etanol). Valores sobre as barras indicam o número de insetos responsivos e, entre parênteses, de não responsivos. Asterisco indica diferença significativa pelo teste de Qui-quadrado ($P < 0,05$).

Quando submetidas à opção entre plantas tratadas com os fitormônios e plantas controle, a primeira escolha de fêmeas de *T. podisi* foi mais frequente para as que receberam o tratamento AS 16mM ($\chi^2 = 10$; gl = 1; $P = 0,0016$) (Figura 11). O tempo de residência também foi maior para o AS 16mM, neste contraste ($T = 246$; $P = 0,027$) (Figura 12).

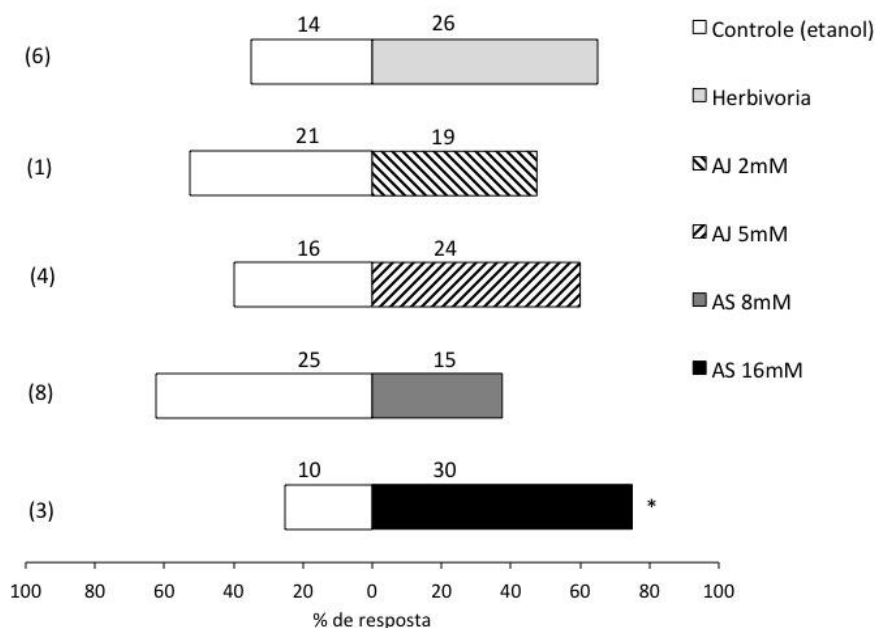


Figura 11. Primeira escolha (%) de fêmeas de *Telenomus podisi* testadas em olfatômetro em Y a plantas de arroz previamente infestadas por fêmeas de *Tibraca limbativentris* (herbivoria) ou tratadas com ácido jasmônico (AJ), ácido salicílico (AS) em diferentes concentrações ou controle (etanol). Valores sobre as barras indicam o número de insetos responsivos e, entre parênteses, de não responsivos. Asterisco indica diferença significativa pelo teste de Qui-quadrado ($P < 0,05$).

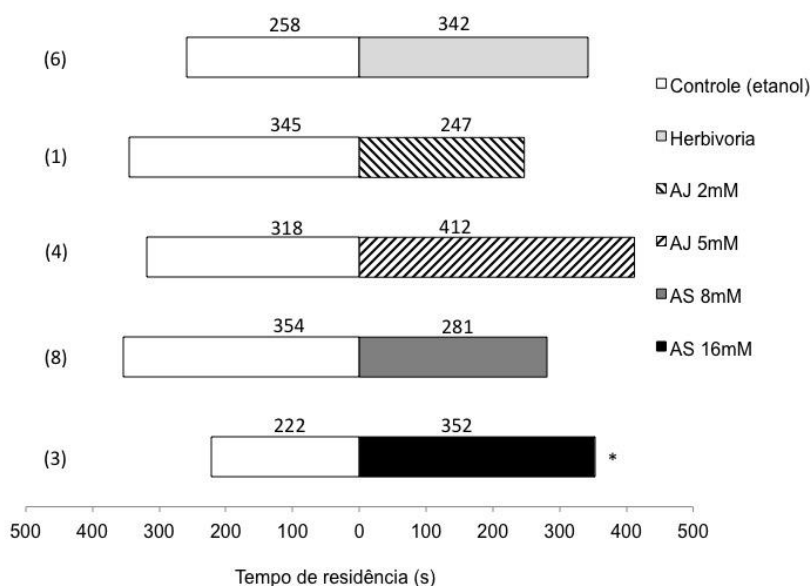


Figura 12. Tempo médio de residência (s) de fêmeas de *Telenomus podisi* testadas em olfatômetro em Y em plantas de arroz previamente infestadas por fêmeas de *Tibraca limbativentris* (herbivoria) ou tratadas com ácido jasmônico (AJ), ácido salicílico (AS) em diferentes concentrações ou controle (etanol). Valores sobre as barras indicam o número de insetos responsivos e, entre parênteses, de não responsivos. Asterisco indica diferença significativa pelo teste de Wilcoxon ($P < 0,05$).

Quando os parasitoides foram submetidos à escolha entre plantas tratadas com os indutores, houve diferença na primeira escolha para o contraste entre AS 16 mM e AS 8 mM, sendo a primeira escolha maior para o tratamento AS 16mM ($\chi^2 = 14,4$; gl = 1; P = 0,0001) (Figura 13). O tempo de residência de *T. podisi* também foi maior para o AS 16 mM quando comparado ao AS 8 mM (T = 187; P = 0,0046) e para o AJ 5 mM em relação ao AJ 2 mM (T = 241; P = 0,0231) (Figura 14).

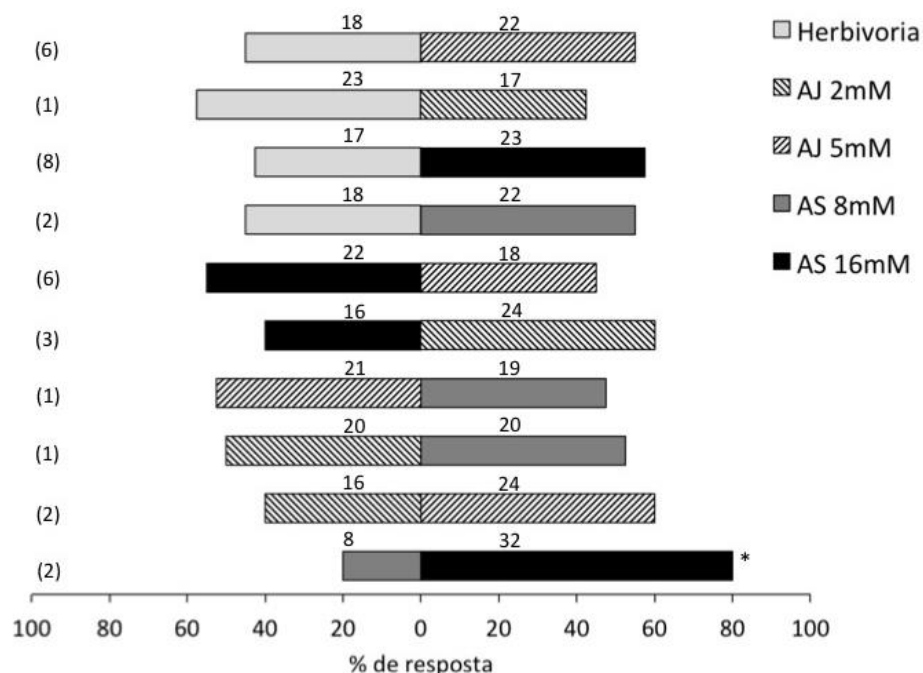


Figura 13. Primeira escolha (%) de fêmeas de *Telenomus podisi* testadas em olfatômetro em Y a plantas de arroz previamente infestadas por fêmeas de *Tibraca limbativentris* (herbivoria) ou tratadas com ácido jasmônico (AJ) e ácido salicílico (AS) em diferentes concentrações. Valores dentro das barras indicam o número de insetos responsivos e, entre parênteses, o de insetos não responsivos. Asterisco indica diferença significativa pelo teste de Qui-quadrado (P<0,05).

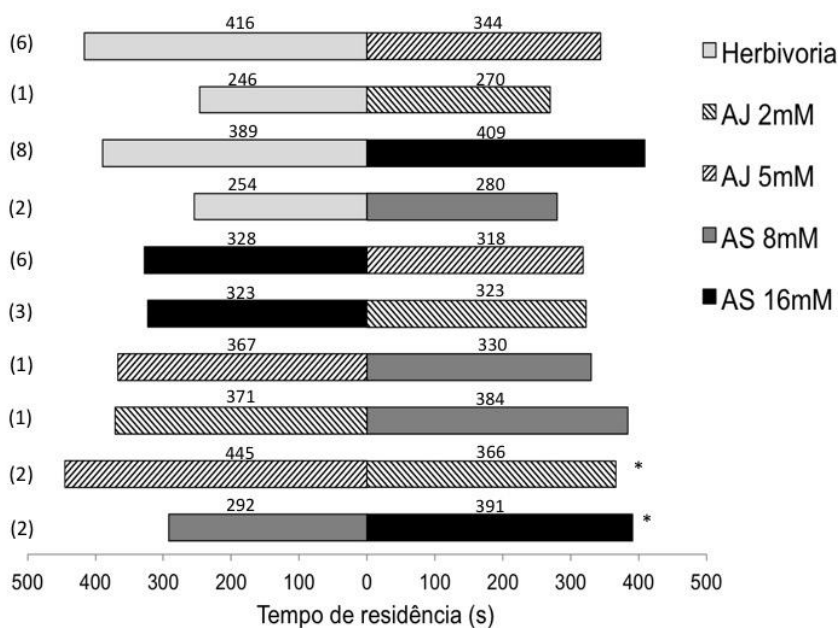


Figura 14. Tempo médio de residência (s) de fêmeas de *Telenomus podisi* testadas em olfatômetro em Y a plantas de arroz previamente infestadas por fêmeas de *Tibraca limbativentris* (herbivoria) ou tratadas com ácido jasmônico (AJ) e ácido salicílico (AS) em diferentes concentrações. Valores sobre as barras indicam o tempo (s) de residência e, entre parênteses, o número de insetos não responsivos. Asterisco indica diferença significativa pelo teste de Wilcoxon ($P < 0,05$).

3.4 DISCUSSÃO

Nas primeiras 24 horas após a aplicação dos tratamentos, as plantas que sofreram herbivoria emitiram maior quantidade de sesquiterpenos em relação as plantas controle (água) e as tratadas com AS 8mM. A herbivoria também induziu o aumento de salicilato de metila, assim como o tratamento AS 16 mM, o único entre os fitormônios que resultou no aumento de emissão desse composto. No estudo de Machado *et al.* (2014), plantas que sofreram herbivoria por *T. limbativentris* também aumentaram a emissão destes compostos, o que as tornou menos atraentes às fêmeas coespecíficas e mais às fêmeas de *T. podisi*. Em nossas avaliações, fêmeas de *T. limbativentris* não diferenciaram os voláteis de plantas que sofreram herbivoria, mas tiveram menor preferência por plantas que receberam o tratamento AS 16 mM. Fêmeas de *T. podisi* também diferenciaram os voláteis de plantas tratadas com este fitormônio, uma vez que foram mais atraídas e dispenderam mais tempo nestas plantas do que as plantas controle (etanol).

O salicilato de metila é um derivado do ácido salicílico, metilado pela enzima ácido carboxílico metil transferase, que é induzida pela presença de patógenos, herbívoros ou danos mecânicos (Sendon *et al.*, 2011). Este éster é comum entre os compostos emitidos após herbivoria e está associado a atração de inimigos naturais (Mallinger *et al.*, 2011) e repelência de herbívoros (Groux *et al.*, 2014). Em diversas plantas cultivadas, a aplicação deste ácido aumenta a atividade de enzimas como polifenol oxidase, peroxidase e fenilalanina amônio liase, além da produção de compostos secundários como fenóis, flavonoides e taninos, o que reduz o

desenvolvimento e a sobrevivência de insetos (Shahabinejad *et al.*, 2014; War *et al.*, 2015).

Em arroz, este hormônio foi pouco estudado na interação de inseto-planta, mas há trabalhos que comprovam que a aplicação aumenta a produção de compostos alelopáticos (Fang *et al.*, 2009), relacionados a defesa contra doenças (Ganesan & Thomas, 2001; Iwai *et al.*, 2007) e a tolerância a estresses abióticos (Chen *et al.*, 2007). Os autores relacionam o efeito positivo da aplicação deste hormônio à produção de compostos antioxidantes e consequente redução no estresse oxidativo. Em relação ao comportamento de insetos, Hori & Enya (2013) constataram que a mistura desta substância com o sesquiterpeno β -cariofileno em plantas de arroz repeliram o percevejo-das-panículas do arroz *Trigonotylus caelestialium* Kirkaldy, 1902 (Heteroptera: Miridae). Já em combinação com o sesquiterpeno, α -farneseno, foi atrativo ao parasitoide *T. podisi* (Michereff *et al.*, 2013).

O tratamento com AS 8mM não induziu resposta na produção de voláteis pela planta nem no comportamento do percevejo e do parasitoide. No contraste entre AS 8 mM e AS 16 mM, fêmeas de *T. podisi* permaneceram mais tempo no braço do olfatômetro que continha as plantas tratadas com a maior dose. As duas concentrações utilizadas neste estudo podem ser consideradas altas em comparação ao trabalhos com outras plantas cultivadas (Ganesan & Thomas, 2001; Iwai *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2007; Fang *et al.* 2009). Mesmo em arroz, nos exemplos supracitados, os autores utilizaram doses menores, mas com plantas mais jovens. Iwai *et al.* (2007) aplicaram a dose de 3 mM em plantas com 18 dias após a germinação; Chen *et al.* (2007) e Fang *et al.* (2009) trabalharam com concentrações entre 0,1 e 0,3 mM em tratamento de sementes. Ganesan & Thomas (2001) utilizaram 2 e 5 mM em plantas com 12 dias e relataram que para a indução de determinados genes relacionados a patogênese em plantas dicotiledôneas, o tratamento com AS 1mM foi suficiente, mas para a indução dos mesmos genes em arroz

é necessário o tratamento com AS 10 mM. Esta dificuldade de indução decorre da alta quantidade de ácido salicílico presente em arroz, maior do que nas outras plantas já estudadas (Yang *et al.*, 2004). Por ser o primeiro trabalho a avaliar a indução de resistência a pentatomídeos e utilizar plantas em V4, mais desenvolvidas que as já avaliadas com este indutor, foram escolhidas doses relativamente altas deste hormônio. Contudo observamos que mesmo contendo alta quantidade de ácido salicílico nos tecidos, o arroz respondeu à aplicação deste fitormônio, com diferença entre as doses utilizadas.

Nossos tratamentos com AJ não induziram defesa direta nem indireta na variedade de arroz BR-IRGA 409, ou seja, não houve diferença na emissão dos principais grupos de compostos nem na quimiotaxia dos insetos submetidos a este hormônio. Estes resultados diferem dos demais encontrados na bibliografia. A emissão de voláteis em plantas de arroz já foi induzida por doses menores de ácido jasmônico, como 0,1 mM (Taniguchi *et al.*, 2014) e 1 mM (Lou *et al.*, 2006). Entretanto, Lou *et al.* (2006) afirmaram que a resposta ao tratamento com AJ varia quali e quantitativamente em função de cultivar, o que pode justificar, em parte, os resultados deste trabalho

Outros estudos constataram que doses de AJ inferiores às nossas (1mM) aplicadas de forma exógena em plantas de arroz atraíram o parasitoide *A. nilaparvatae* (Lou *et al.*, 2006). Plantas de soja tratadas com 1,4 mM de *cis*-jasmone, um derivado do ácido jasmônico, também foram atrativas ao parasitoide de ovos *T. podisi* (Moraes *et al.*, 2009). Nos nossos resultados, a emissão total dos principais grupos de compostos não variou entre as duas doses de AJ e nem entre estas e os dois tratamentos utilizados como controle (plantas tratadas com água ou etanol).

Um aspecto intrigante em nossos resultados foi a ausência de resposta significativa do percevejo e do parasitoide ao contraste entre plantas previamente infestadas e plantas saudas. Estes resultados diferem dos observados por Machado *et al.* (2014). Os fatores que explicam as divergências de resultados destes estudos podem

estar relacionados às diferenças metodológicas entre os trabalhos, pois os referidos autores utilizaram outra cultivar (IRGA 417), maior número de fêmeas de *T. limbativentris* na infestação (cinco) e plantas com 30 dias, sem precisar o estágio fenológico.

Houve menor emissão de monoterpenos, aldeídos e do éster salicilato de metila em plantas tratadas com AS 16 mM entre os períodos de 24 - 48 horas de aeração em relação as primeiras 24 horas. Aldeídos compõem o grupo dos voláteis de folhas verdes (VFV), emitidos imediatamente após a alimentação do inseto pois não dependem da síntese desencadeada pelos sinais da herbivoria (Pichersky & Gershenson, 2002). A menor emissão de salicilato de metila e monoterpenos pode ser em decorrência da escassez de substratos, já que alguns compostos foram emitidos em maior quantidade nas primeiras 24 horas. Pelo mesmo motivo, no período de 24 - 48 horas, todos os tratamentos emitiram menor quantidade de salicilato de metila que o controle (água), que havia emitido em quantidade inferior aos demais entre 0 - 24 horas.

Nosso trabalho indica que o ácido salicílico, na concentração 16 mM, induz a emissão de voláteis semelhantes às de herbivoria por *T. limbativentris* em arroz. Este fitormônio pode ser uma ferramenta auxiliar no manejo integrado de pragas, incrementando a repelência de percevejos e atraindo parasitoides. No entanto, estudos a campo devem ser conduzidos para validar esta hipótese.

3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACCAMANDO, A.; CRONIN, J. Costs and Benefits of Jasmonic Acid Induced Responses in Soybean. **Environmental Entomology**, Oxford, v. 41, n. 3, p. 551-561, 2012.
- ARIMURA, G.I.; MATSUI, K.; TAKABAYASHI, J. Chemical and molecular ecology of herbivore-induced plant volatiles: proximate factors and their ultimate functions. **Plant Cell Physiology**, Tokyo, v. 50, n. 5, p. 911-923, 2009.
- CHEN, J. *et al.* Effects of exogenous salicylic acid on growth and H₂O₂-metabolizing enzymes in rice seedlings under lead stress. **Journal of Environmental Sciences**, Beijing, v. 19, n. 1, p. 44-49, 2007.
- CHEN, M. Inducible direct plant defense against insect herbivores: A review. **Insect Science**, Beijing, v. 15, n. 2, p. 101-114. 2008.
- COUNCE, P. A.; KEISLING, T.C.; MITCHELL, A.J. A uniform, objective, and adaptative system for expressing rice development. **Crop Science**, Madison, v. 40, n. 2, p. 436-443, 2000.
- DIAS, A. M. *et al.* Attraction of *Telenomus podisi* to volatiles induced by *Euschistos heros* in three different plant species. **Arthropod-Plant Interactions**, Helsinki, v. 10, n. 5, p. 419-428, 2016.
- DICKE, M.; BALDWIN, I. T. The evolutionary context for herbivory-induced plant volatiles: beyond the 'cry for help'. **Trends in Plant Science**, New York, v. 15, n. 3, p. 167-175, 2010.
- ENGELBERTH, J.; VISWANATHAN, S.; ENGELBERTH, M. Low Concentrations of Salicylic Acid Stimulate Insect Elicitor Responses in *Zea mays* Seedlings. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 37, n. 3, p. 263-266, 2011.
- FANG, C. *et al.* Analysis of gene expressions associated with increased allelopathy in rice (*Oryza sativa* L.) induced by exogenous salicylic acid. **Plant Growth Regulation**, New York, v. 57, n. 2, p. 163-172, 2009.
- FARIAS, P. M. *et al.* First record of *Glypheapomis adroguensis* (Hemiptera, Pentatomidae) and its parasitoid, *Telenomus podisi* (Hymenoptera, Platygasteridae), on irrigated rice fields in Rio Grande do Sul, Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba, v. 56, n. 3, p. 383-384, 2012.

FERREIRA, E. *et al.* **O percevejo-do-colmo na cultura do arroz.** Goiânia: EMBRAPA-CNPAP, 1997. 43 p. (Documentos, 75).

GANESAN, V.; THOMAS, G. Salicylic acid response in rice: influence of salicylic acid on H₂O₂ accumulation and oxidative stress. **Plant Science**, Limerick, Irlanda, v. 160, n. 6, p. 1095-1106, 2001.

GRINBERG-YAARI, *et al.* Role of jasmonic acid signaling in tomato defense against broad mite, *Polyphagotarsonemus latus* (Acari Tarsonemidae). **Arthropod-Plant Interactions**, Helsinki, v. 9, n. 4, p. 361-372, 2015.

GROUX, R. *et al.* Role of Methyl Salicylate on Oviposition Deterrence in *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 40, n. 7, p. 754-759, 2014.

HAMM, J. C.; STOUT, M. J.; RIGGIO, R. M. Herbivore- and Elicitor-Induced Resistance in Rice to the Rice Water Weevil (*Lissorhoptus oryzophilus* Kuschel) in the laboratory and field. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 36, n. 2, p. 192-199, 2010.

HORI, M.; ENYA, S. Attractiveness of synthetic volatile blends of flowering rice panicles to *Trigonotylus caelestialium* (Kirkaldy) (Heteroptera: Miridae). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 137, n. 1-2, p. 97-103, 2013.

HUSSAIN, B.; WAR, A.; SHARMA, H. Jasmonic and salicylic acid-induced resistance in sorghum against the stem borer *Chilo partellus*. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, Israel, v. 42, n. 1, p. 99-108, 2014.

IDALGO, T. D. N. *et al.* Parasitismo de ovos de *Tibraca limbativentris* Stal (Hemiptera: Pentatomidae) em lavouras de arroz irrigado, Eldorado do Sul, RS. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 80, n. 4, p. 453-456, 2013.

IWAI, T. *et al.* Probenazole-Induced Accumulation of Salicylic Acid Confers Resistance to *Magnaporthe grisea* in Adult Rice Plants. **Plant Cell Physiology**, Tokyo, v. 48, n. 7, p. 915-924, 2007.

KARBAN, R.; BALDWIN, I. T. **Induced responses to herbivory.** Chicago: University of Chicago Press, 1997. 319 p.

LOU, Y.; MA, B.; CHENG, J. Attraction of the parasitoid *Anagrus nilaparvatae* to rice volatiles induced by the rice brown planthopper *Nilaparvata lugens*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 31, n. 10, p. 2357-2372, 2005.

LOU, Y. *et al.* Differences in induced volatile emissions among rice varieties result in differential attraction and parasitism of *Nilaparvata lugens* eggs by the parasitoid *Anagrus nilaparvatae* in the field. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 32, n. 11, p. 2375-2387, 2006.

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

MACIEL, A. A. S. *et al.* Parasitismo de ovos de *Tibraca limbativentris* Stål (Hemiptera: Pentatomidae) na cultura do arroz no Maranhão. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 36, n. 4, p. 616-618, 2007.

MALLINGER, R. E.; HOGG, D. B.; GRATTON, C. Methyl Salicylate Attracts Natural Enemies and Reduces Populations of Soybean Aphids (Hemiptera: Aphididae) in Soybean Agroecosystems. **Journal of Economic Entomology**, Oxford, v. 104, n. 1, p. 115-124, 2011.

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

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

PICHERSKY, E.; GERSHENZON, J. The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 5, n. 3, p. 237-243, 2002.

SENDON, P. M.; SEO, H.S.; SONG, J.T. Salicylic Acid Signaling: Biosynthesis, Metabolism, and Crosstalk with Jasmonic Acid. **Journal of Korean Society of Applied Biological Chemistry**, Seoul, v. 54, n. 4, p. 501-506, 2011.

SENTHIL-NATHAN, S. *et al.* Effects of jasmonic acid-induced resistance in rice on the plant brownhopper, *Nilaparvata lugens* Stål (Homoptera: Delphacidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 95, n. 2, p. 77-84, 2009.

SHAHABINEJAD, M. *et al.* Exogenous application of methyl jasmonate and salicylic acid increases antioxidant activity in the leaves of pistachio (*Pistacia vera* L. cv. Fandoughi) trees and reduces the performance of the phloem-feeding psyllid *Agonoscena pistaciae*. **Arthropod-Plant Interaction**, Helsinki, v. 8, n. 6, p. 525-530, 2014.

SILVA, C.C.A. *et al.* **Ciclo de vida e metodologia de criação de *Tibraca limbativentris* Stål, 1860 (Heteroptera: Pentatomidae) para estudos de ecologia química.** Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2004. 16 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 78).

SMITH, C. M.; BOYKA, E. The molecular bases of plant resistance and defense responses to aphid feeding: current status. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 122, n. 1, p. 1-16, 2006.

STOUT, M. J.; RIGGIO, M. R.; YANG, Y. Direct induced resistance in *Oryza sativa* to *Spodoptera frugiperda*. **Environmental Entomology**, Oxford, v. 38, n. 4, p. 1174-1181, 2009.

TANIGUCHI, S. *et al.* Jasmonate induction of the monoterpene linalool confers resistance to rice bacterial blight and its biosynthesis is regulated by JAZ protein in rice. **Plant, Cell & Environment**, New York, v. 37, n. 2, p. 451-461, 2014.

TIERRANEGRA-GARCÍA *et al.* Effect of foliar salicylic acid and methyl jasmonate applications on protection against pill-bugs in lettuce plants. **Phytoparasitica**, Dordrecht, v. 39, n. 2, p. 137-144, 2011.

WAR, A. R. *et al.* Mechanisms of Plant Defense against Insect Herbivores. **Plant Signaling and Behavior**, Austin, 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**, West Sussex, UK, v. 71, n. 1, p. 72-82, 2015.

WU, J.; BALDWIN, I. T. Herbivory-induced signaling in plants: perception and action. **Plant, Cell & Environment**, New York, v. 32, n. 9, p. 1161-1174, 2009.

YANG, Y.; QI, M.; MEI, C. Endogenous salicylic acid protects rice plants from oxidative damage caused by aging as well as biotic and abiotic stress. **The Plant Journal**, Oxford, v. 40, n. 6, p. 909-919, 2004.

YUAN, J. *et al.* Molecular and genomic basis of volatile-mediated indirect defense against insects in rice. **The plant journal**, Oxford, v. 55, n. 3, p. 491-503, 2008.

**4. CAPÍTULO IV. EFEITO DO METIL JASMONATO E ÁCIDO
SALICÍLICO NA DEFESA DE PLANTAS DE ARROZ (*Oryza sativa*) À
Oebalus pugnax (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) E EM
COMPONENTES DE RENDIMENTO DE GRÃOS**

4.1 INTRODUÇÃO

Defesa direta das plantas é o conjunto de características que afeta negativamente a fisiologia ou o comportamento de insetos herbívoros (Dicke & Baldwin, 2010). Pode ser uma proteção mecânica na superfície das plantas, caracterizada principalmente pela presença de ceras, pêlos, tricomas e espessamento das folhas, ou química, pelas substâncias oriundas do metabolismo secundário vegetal, que impedem ou retardam o desenvolvimento dos insetos (War *et al.*, 2012). Estas defesas também podem atuar na preferência, sobrevivência ou sucesso reprodutivo destes herbívoros (Smith & Boyka, 2006; War *et al.*, 2012).

A maioria dos mecanismos de defesa à herbivoria é ativada por hormônios vegetais, como ácido jasmônico e salicílico (Gill *et al.*, 2010; Shivaji *et al.*, 2010). O ácido jasmônico e o éster metil jasmonato são derivados da oxigenação de ácidos graxos poliinsaturados durante a rota octadecanoide, que desempenham papel importante na defesa de plantas contra patógenos necrotróficos e insetos mastigadores (Santino *et al.*, 2013). O ácido salicílico, um derivado do ácido benzoico, é um regulador de crescimento e florescimento com conhecida importância na indução de defesas de plantas a doenças (Vallad & Goodman, 2004; Hayat *et al.*, 2012). A quantidade destes hormônios aumenta rapidamente em plantas atacadas por herbívoros e patógenos, resultando na ativação de genes que codificam a produção de proteínas de defesas e demais metabólitos secundários (Hasegawa *et al.*, 2010; Kanno *et al.*, 2012).

Em diversas plantas cultivadas a aplicação de fitormônios vem sendo estudada como alternativa ao manejo de insetos-praga, uma vez que induz respostas similares a de estresses bióticos. Em trigo *Triticum aestivum* L., o ácido jasmônico e salicílico não afetaram o desenvolvimento do pulgão *Sitobion avenae* Fabricius, 1775 (Hemiptera: Aphididae), mas ambos tornaram as plantas menos atrativas ao inseto (Cao *et al.*, 2014). No entanto, em bioensaios com amendoim (*Arachis hypogea* L.), estes hormônios induziram a atividade de enzimas antioxidativas, afetando o crescimento e desenvolvimento de larvas de *H. armigera*, com destaque para o tratamento com o jasmônico (War *et al.*, 2015).

No arroz, o tratamento com ácido jasmônico reduziu a alimentação, o desenvolvimento e a sobrevivência da cigarrinha marrom *N. lugens* (Senthil-Nathan *et al.*, 2009) e o desenvolvimento larvas de *S. frugiperda* (Stout *et al.*, 2009). O ácido salicílico, por estar presente em altas quantidades em arroz, variando entre 5.000 e 30.000 ng/g de massa verde, é menos estudado em aplicação exógena na indução de defesas (Yang *et al.*, 2004). No entanto, sua atividade foi evidente em plantas tratadas com 5 mM, o que induziu a atividade de enzimas antioxidativas de maneira similar a infecção pelo fungo *Magnaporthe oryzae* B.Couch (Ganesan & Thomas, 2001).

O percevejo-do-grão *O. pugnax* é uma espécie polífaga presente em matas espontâneas e gramíneas cultivadas, sendo uma praga importante nas lavouras de arroz na região sul dos Estados Unidos (Awuni *et al.*, 2015). Estes insetos sugam os grãos, podendo causar redução na produtividade (McPherson & McPherson, 2000), além disso são vetores de microrganismos que ocasionam a descoloração dos grãos e o aumento da porcentagem de quebra durante o beneficiamento (Espino *et al.*, 2007). Apesar da importância econômica, poucos esforços foram destinados ao desenvolvimento de estratégias de controle deste percevejo (Patel *et al.*, 2006).

Este trabalho teve como objetivos: a) identificar as substâncias envolvidas na indução de defesa de plantas de arroz com a utilização do metil jasmonato e do ácido salicílico; b) avaliar o efeito da aplicação exógena destes fitormônios sobre plantas de arroz, em diferentes concentrações, no desenvolvimento de *O. pugnax* e nos componentes de rendimento de grãos de arroz em casa de vegetação e c) registrar, em lavoura de arroz, o efeito da aplicação de metil jasmonato e ácido salicílico, na presença de *O. pugnax* e nos componentes de rendimento de grãos.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Obtenção e criação de *O. pugnax*

Ninfas e adultos de *O. pugnax* foram coletados na Estação Experimental do Arroz da Universidade do Estado da Louisiana (92° 20'46"O; 30° 14'10"N) em Crowley, LA levados para o Laboratório de Interação Planta-Inseto da mesma Universidade e mantidos em condições controladas (25 ± 1 °C; 60 ± 10% U R .; fotofase de 14 horas). Os adultos foram colocados em gaiolas de vidro (0,3 x 0,6 x 0,4 m) cobertas com tela de alumínio galvanizado, onde eram fornecidas plantas de arroz com grãos leitosos, outras gramíneas (*Paspalum* spp., *Echinochloa* spp., *Avena* spp.), vagens verdes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) e amendoim. A cada dois dias, as posturas eram recolhidas e desinfestadas com solução de hipoclorito de sódio a 15% (2% de cloro ativo) e colocadas em placas de Petri (9 cm de diâmetro). As ninfas eram alimentadas com vagens verdes e grãos leitosos de arroz até atingirem o 3º instar, quando eram transferidas para as gaiolas dos adultos.

4.2.2 Semeadura e cultivo das plantas

Sementes da cultivar Cocodrie foram desinfestadas, pré germinadas e semeadas em vasos de 3,5 L contendo uma mistura de solo autoclavado, areia e composto orgânico, na proporção de 2:1:1. Cada vaso foi adubado com 1 g de adubo mineral de fórmula N-P-K (5-20-20), na ocasião da semeadura. Nos estádios V4 e V7 da escala de Counce (Counce *et al.*, 2000), cada vaso recebeu 0,5 g de ureia (46-00-00). As plantas foram irrigadas diariamente e permaneceram na casa de vegetação do Departamento de Entomologia da Universidade até o momento de receber os tratamentos.

4.2.3 Preparo das soluções

Foi utilizado 0,22 g de metil-jasmonato (Sigma-Aldrich), diluído em 1 mL de etanol e dissolvido em 200 mL de água destilada para preparo da solução 5 mM (MeJa 5 mM) e desta foi retirada uma alíquota de 100 mL para diluição e preparo da de 2 mM (MeJa 2 mM). A solução de ácido salicílico 16 mM (AS 16 mM) foi preparada pela diluição de 0,44 g deste ácido (Sigma-Aldrich) em 1mL de etanol e dissolução em 200 mL de água destilada. Desta, foi retirada uma alíquota de 100 mL para preparo da solução 8 mM (AS 8 mM). O tratamento controle foi pulverizado com uma solução de 200 mL de água destilada com 1 mL de etanol.

4.2.4 Tratamento das plantas

As plantas foram aspergidas no estágio R5 da escala de Counce *et al.* (2000), correspondente ao início do enchimento de grãos. As pulverizações foram feitas com um borrifador manual pressurizado (marca comercial Preval[®]) até que escorresse por toda a planta, utilizando um volume aproximado de 30 mL/planta, 24 horas antes da instalação dos bioensaios. Também foram avaliadas plantas que sofreram herbivoria pelo percevejo-do-grão. Neste tratamento, cada planta ficou confinada com cinco fêmeas virgens, com até cinco dias de idade, em uma gaiola de tela de alumínio galvanizado (0,15 diâmetro x 0,8 m) por 48 horas antes da realização dos testes. As gaiolas eram vistoriadas duas vezes por dia para confirmação da herbivoria, observando-se o comportamento alimentar, caracterizado pelo contato do aparelho bucal com a planta. Os vasos de cada tratamento foram separados em diferentes salas casas de vegetação, a fim de evitar a interferência entre eles. Todas as salas tinham as mesmas condições (27 ± 5 °C e $60 \pm 5\%$ U.R.).

4.2.5 Coleta e identificação dos voláteis

Foram utilizadas somente as panículas das plantas, conforme Fuji *et al.* (2010a; 2010b), no estágio R5, submetidas a aplicação exógena com os cinco tratamentos descritos anteriormente e também de plantas que sofreram herbivoria por cinco fêmeas virgens de *O.*

pugnax, com até cinco dias de idade. Estas foram cultivadas em casa de vegetação, de acordo a metodologia descrita. As panículas foram cortadas com tesoura, 2 cm abaixo da base, imediatamente envolvidas em papel toalha umedecido, acondicionadas em saco plástico, identificadas e levadas ao laboratório. O material foi pesado e uma amostra de 5 g colocada em um balão de Erlenmeyer de 50 mL com 20 mL de água destilada. Aproximadamente 20 min. após o corte, as panículas foram acondicionadas em uma câmara de vidro (0,15 diâmetro x 0,40 m) sobre uma placa de politetrafluoretileno (PTFE, marca comercial Teflon®) para coleta dos voláteis. O fluxo de ar, previamente filtrado com carvão ativado, foi conduzido para dentro do sistema com o auxílio de um propulsor conectado a um fluxímetro, a uma taxa de 1,2 L/min. Na saída do sistema, os voláteis eram adsorvidos em cartucho de vidro contendo, cada, 30 mg do polímero Porapak Q (Sigma-Aldrich®). As aerações foram conduzidas por 6 horas em sala climatizada (24 ± 1 °C; $50 \pm 5\%$ U R). A eluição foi realizada com 100 µL de hexano destilado em *vials* com capacidade para 2 mL com auxílio de gás nitrogênio comprimido, num fluxo entre 10 e 20 psi e as soluções diluídas em 100 µL, sendo mantidas sob refrigeração a -20 °C. Foram realizadas cinco repetições por tratamento.

As análises qualitativas e quantitativas dos extratos obtidos das aerações foram realizadas por cromatografia gasosa e espectrometria de massas (CG-EM). Os extratos foram injetados (1 µL) manualmente em modo *splitless* num cromatógrafo Varian CP - 3800 conectado ao espectrômetro de massa com captura de íons Varian Saturn 2200 da marca Agilent (coluna DB5-MS J&W, comprimento 30m x 0,25mm ID, filme de 0,25 µm). A temperatura inicial do programa foi de 40 °C por 4 minutos, aumentando gradualmente 5 °C por minuto até atingir 180 °C por dois minutos, seguida de um segundo aumento gradual de 20 °C por minuto até 280 °C, permanecendo por 5 minutos, totalizando 44 minutos de análise. Foi utilizado hélio como gás de arraste num fluxo constante de 1 mL/minuto e multiplicador de elétrons de 1900v. Os picos foram identificados pelo tempo

de retenção e por comparação dos seus espectros de massas com a biblioteca do equipamento (NIST). Os seis compostos presentes em todas as amostras foram quantificados, conforme feito por Taniguchi *et al.* (2014), através de curva de calibração. Foram preparadas soluções a partir de padrões autênticos dos compostos identificados (Sigma-Aldrich), nas concentrações de 50, 100, 150 e 200 ppm. Cada solução foi injetada três vezes no CG-EM com o mesmo programa de temperatura utilizado para as amostras das plantas.

A quantidade (ng) de cada composto emitida por planta foi submetida ao teste de Kruskal-Wallis e comparada pelo teste de Dunn ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o software Biostat[®] 5.0.

4.2.6 Avaliação do metil jasmonato e ácido salicílico no desenvolvimento de *O. pugnax* e em componentes de rendimento de grãos

Foram avaliados em casa de vegetação, conforme condições já descritas, parâmetros de desenvolvimento dos insetos e de componentes de rendimento de grãos, a partir de ninfas do percevejo-do-grão, em plantas de arroz submetidas aos seguintes tratamentos: a) etanol (controle); b) herbivoria por cinco fêmeas de *O. pugnax*; c) MeJa 2 mM; d) MeJa 5 mM; e) AS 8 mM; e f) AS 16 mM, conforme descrito no item 4.2.4.

Ninfas de terceiro instar com no máximo 24 horas após a ecdise permaneceram por uma hora sem alimentação e foram individualmente pesadas e agrupadas em conjuntos de dez. Cada conjunto foi alocado em um vaso com uma única planta de arroz no estágio R5 submetida a um dos tratamentos descritos. Cada vaso foi isolado com uma gaiola de alumínio (0,15 diâmetro x 0,8 m) envolta com uma malha de 1,6 mm. As avaliações foram feitas diariamente durante a manhã até que os insetos atingissem a fase adulta. As variáveis observadas foram: a) porcentagem de sobrevivência de insetos, obtida pela fórmula $[(\text{número de insetos que atingiram a fase adulta} / \text{número inicial de ninfas}) \times 100]$; b) tempo para atingir a fase adulta, em dias; c) peso individual de machos e fêmeas no dia em

que atingiram a fase adulta; d) número de grãos por panícula, calculado pela razão entre o número de grãos formados e o número de panículas por planta; e) esterilidade de espiguetas, obtida pela contagem de espiguetas estéreis e expressa em porcentagem em relação ao número total de espiguetas por panícula e f) grãos picados, pela contagem do número de grãos picados e expresso em porcentagem em relação ao número total de grãos cheios por panícula. As três últimas variáveis foram obtidas pela colheita das panículas de cada vaso, seguidas de trilha e separação manual de grãos cheios, picados e espiguetas estéreis. Foram realizadas sete repetições com 10 insetos por tratamento, os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$), utilizando o software SPSS[®] versão 18.0.

4.2.7 Efeito da aplicação de metil jasmonato e ácido salicílico em plantas de arroz na ocorrência de *O. pugnax* e qualidade de grãos a campo

O ensaio foi realizado na Estação Experimental do Arroz em Crowley, LA, EUA. Parcelas de arroz da cultivar Cocodrie, com 7,14 m², espaçadas em 1 m, foram pulverizadas com as soluções controle (etanol), MeJa 2mM, MeJa 5mM, AS 8mM ou AS 16mM. As plantas estavam entre os estádios R4 e R5 da escala de Counce *et al.* (2000) e foram aspergidas com um pulverizador costal pressurizado a CO₂ com um volume de aproximadamente 60 litros de calda/ha. Foram avaliados o número de percevejos-do-grão no momento imediatamente anterior a aplicação dos tratamentos e 1, 4, 6, 9, 12, 15, 19 e 22 dias após a pulverização, com dez golpes com rede entomológica (0,4 m diâmetro x 0,7 m de profundidade) por parcela. O material coletado foi transferido para um saco plástico, levado ao laboratório de entomologia e triado. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, com três repetições. O número de percevejos encontrado foi submetido à análise de medias repetidas utilizando modelos mistos lineares, considerando o tempo como medida repetida.

Quando as plantas atingiram o estágio R9, 15 panículas foram colhidas manualmente nas parcelas, sem critérios de escolha (apenas evitando-se as linhas da bordadura), identificadas e colocadas em um trilhador de panículas. Os grãos cheios, picados e as espiguetas estéreis foram manualmente separados após a trilha e contados. O número de grãos por panícula foi obtido pela razão do número de grãos cheios de cada amostra por 15 panículas. A esterilidade de espiguetas foi obtida pela contagem de espiguetas estéreis e expressa em porcentagem em relação ao número total de espiguetas por panícula. A proporção de grãos picados foi registrada pela contagem do número de grãos picados e expresso em porcentagem em relação ao número total de grãos cheios. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

4.3 RESULTADOS

4.3.1 Coleta e identificação dos voláteis

Dos compostos identificados nas panículas do arroz em GC-EM, foram quantificados apenas seis (α -pineno, (+)-3-careno, β -pineno, 1-hexanol-2-etil, azuleno e salicilato de metila), considerados os mais frequentes entre os tratamentos e as repetições (Figuras 15 e 16).

Houve diferença na quantidade de substâncias emitidas em função de tratamento (Tabela 4). O sesquiterpeno α -pineno foi o único que não variou ($H = 3,45$; $gl = 5$; $P > 0,05$). No entanto, a emissão de β -pineno, também sesquiterpeno, aumentou com a aplicação de todos os fitormônios ($H = 26,902$; $gl = 5$; $P = 0,0001$), mas não foi induzida pela herbivoria. O monoterpene (+)-3-careno foi emitido em maior quantidade apenas por plantas submetidas à herbivoria e ao AS 8 mM ($H = 24,95$; $gl = 5$; $P < 0,001$). Para o 1-hexanol-2-etil, um volátil de folha verde, também foi registrada maior quantidade liberada após a indução com estes dois tratamentos, além do AS 16 mM ($H = 28,17$; $gl = 5$; $P < 0,03$). As respostas registradas para o azuleno e salicilato de metila foram semelhantes, ou seja, em todos os tratamentos, com exceção do MeJa 2mM para o primeiro, observou-se um incremento na quantidade liberada (azuleno: $H = 26,27$; $gl = 5$; $P < 0,01$; salicilato de metila: $H = 28,22$; $gl = 5$; $P < 0,001$).

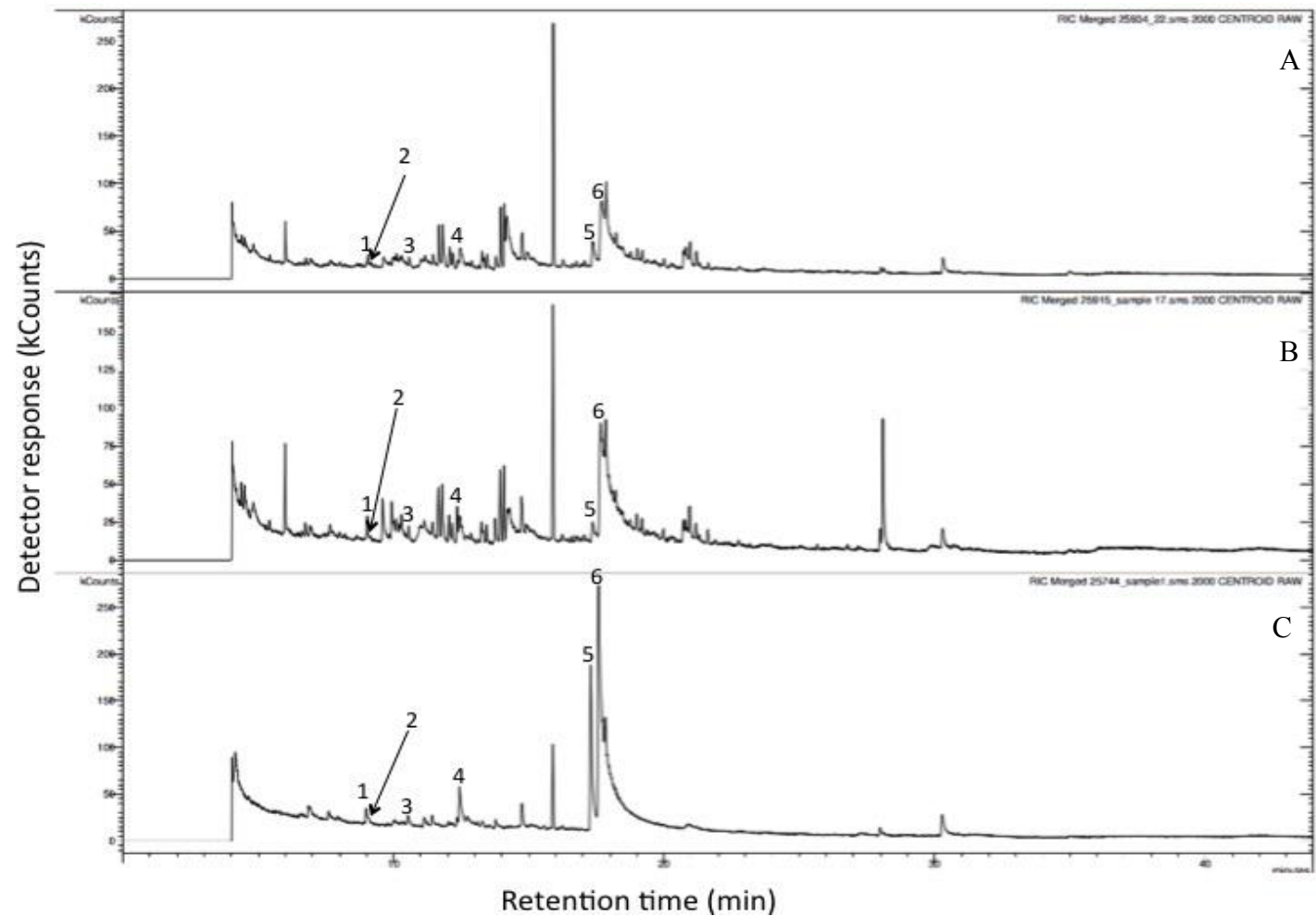


Figura 15. Cromatogramas dos extratos de aeração de panículas de arroz de plantas aspergidas com etanol (controle) (A), herbivoria por cinco fêmeas de *Oebalus pugnax* (B), metil jasmonato 2 mM (C). Os números indicam os principais compostos identificados a partir de padrões autênticos 1) α -pineno; 2) (+)-3-careno; 3) β -pineno; 4) 1-hexanol-2-etil; 5) azuleno; 6) salicilato de metila.

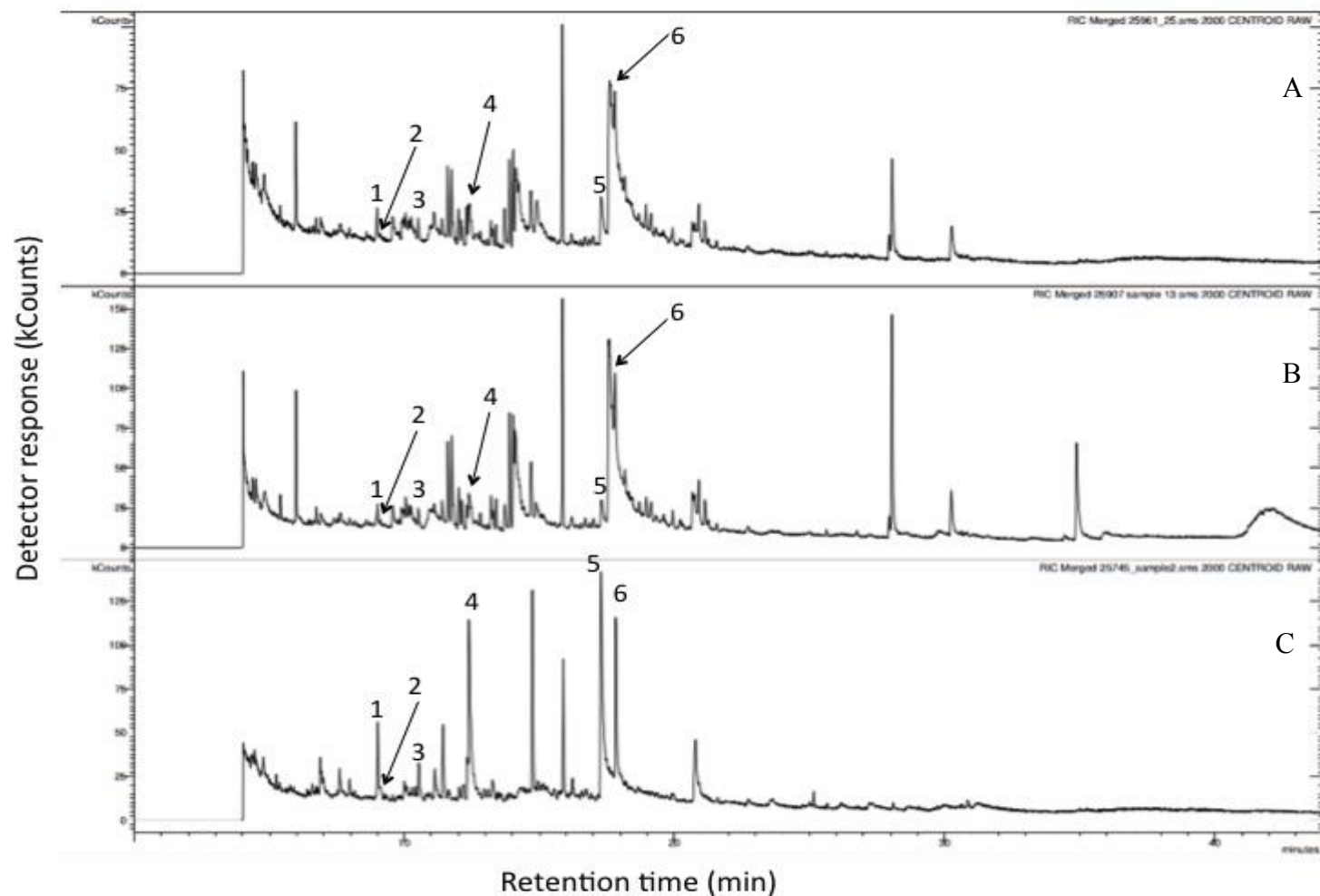


Figura 16. Cromatogramas dos extratos de aeração de panículas de arroz de plantas aspergidas com metil jasmonato 5 mM (A), ácido salicílico 8 mM (B) e ácido salicílico 16 mM (C). Os números indicam os principais compostos identificados a partir de padrões autênticos 1) α -pineno; 2) (+)-3-careno; 3) β -pineno; 4) 1-hexanol-2-etil; 5) azuleno; 6) salicilato de metila.

Tabela 4. Quantidade média (μg) \pm EP dos compostos mais frequentes emitidos (6 horas de extração) por panículas de arroz de submetidas a diferentes tratamentos. Tratamentos MeJa: metil jasmonato nas concentrações 2 mM e 5 mM; AS ácido salicílico nas concentrações 8 mM e 16 mM; Herbivoria: plantas previamente submetidas à herbivoria de cinco fêmeas de *Oebalus pugnax*; Etanol: 1mL etanol + 200 mL água destilada; Controle: água destilada.

Composto	Tempo de retenção (min)	Etanol (controle)	Herbivoria	MeJa 2mM	MeJa 5mM	AS 8mM	AS 16mM
α -pineno	9,01	0,978 \pm 0,3310 a	1,141 \pm 0,0601 a	1,088 \pm 0,0012 a	1,084 \pm 0,0001 a	1,085 \pm 0,0100 a	1,076 \pm 0,0001 a
(+)-3-careno	9,09	0,001 \pm 0,0010 b	1,041 \pm 0,0324 a	0,003 \pm 0,0019 b	0,001 \pm 0,0176 b	1,055 \pm 0,0010 a	0,988 \pm 0,0001 ab
β -pineno	10,53	0,001 \pm 0,0011 c	0,072 \pm 0,0412 c	0,628 \pm 0,0473 b	1,020 \pm 0,0144 a	0,618 \pm 0,0366 b	1,077 \pm 0,0001 a
1-hexanol-2-etil	12,42	0,001 \pm 0,0010 d	1,595 \pm 0,0394 b	0,031 \pm 0,0166 d	0,007 \pm 0,0001 d	1,037 \pm 0,0176 c	2,081 \pm 0,0536 a
Azuleno	17,33	1,238 \pm 0,2701b	2,416 \pm 0,0355 a	0,692 \pm 0,2384 b	2,058 \pm 0,0093 a	1,961 \pm 0,0034 a	2,345 \pm 0,0426 a
Salicilato de metila	17,7	2,940 \pm 0,2601 c	4,104 \pm 0,2941b	4,587 \pm 0,1155 b	3,041 \pm 0,4454 b	4,588 \pm 0,6901 b	6,397 \pm 0,9789 a

Médias seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem pelo teste de Dunn ao nível de significância de 5%

4.3.2 Avaliação do metil jasmonato e ácido salicílico no desenvolvimento de *O. pugnax* e em componentes de rendimento de grãos

Não houve diferença entre os tratamentos para as variáveis sobrevivência ($F = 1,911$; $gl = 5$; $P = 0,122$), peso de machos ($F = 0,624$; $gl = 5$; $P = 0,683$) e de fêmeas ($F = 1,22$; $gl = 5$; $P = 0,329$). O tempo de desenvolvimento, por sua vez, foi maior para os percevejos que se alimentaram em plantas aspergidas com AS 16 mM do que plantas controle ($F = 5,536$; $gl = 5$; $P = 0,001$), mas foi igual ao de insetos que se alimentaram de plantas tratadas com AS 8mM e MeJa 5mM (Tabela 5).

Tabela 5. Sobrevivência (%), peso (mg) de machos e fêmeas e tempo de desenvolvimento (dias) (\pm EP) de ninfas de terceiro instar de *Oebalus pugnax* até a fase adulta em plantas de arroz mantidas em casa de vegetação e submetidas aos seguintes tratamentos: plantas aspergidas com solução etanol (controle), herbivoria por cinco fêmeas de *O. pugnax*, metil jasmonato 2mM, metil jasmonato 5mM, ácido salicílico 8mM, ácido salicílico 16mM e ($n = 10$).

Tratamento	Sobrevivência (%)	Peso de machos (mg)	Peso de fêmeas (mg)	Tempo de desenvolvimento (dias)
Controle (etanol)	51,4 \pm 4,36 ^{ns}	26,5 \pm 1,94 ^{ns}	35,7 \pm 3,02 ^{ns}	16,2 \pm 0,5 a
Herbivoria	44,2 \pm 5,19	26,9 \pm 1,41	31,4 \pm 1,78	16,8 \pm 0,3a
MeJA 2mM	41,4 \pm 7,23	25,8 \pm 2,47	33,0 \pm 1,48	16,3 \pm 0,5 a
MeJA 5mM	35,6 \pm 5,19	26,9 \pm 3,18	37,3 \pm 1,66	17,0 \pm 0,4 ab
AS 8mM	35,7 \pm 6,60	29,9 \pm 2,47	34,7 \pm 2,91	17,3 \pm 0,4 ab
AS 16mM	35,6 \pm 4,29	28,4 \pm 0,94	32,9 \pm 1,36	18,4 \pm 0,4 b
CV (%)	34,9	18,3	15,9	6,9

*Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, diferem pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

O número de grãos por panícula, em casa de vegetação, variou entre tratamentos, sendo superior nas plantas tratadas com AS 16 mM, MeJa 5 mM e MeJa 2 mM em relação ao controle ($F = 2,22$; $gl = 5$; $P = 0,05$) (Tabela 6).

Tabela 6. Número médio (\pm EP) de grãos por panícula, esterilidade de espiguetas (%) e de grãos picados (%) de plantas de arroz mantidas em casa de vegetação e submetidas aos seguintes tratamentos: etanol (controle), herbivoria por cinco fêmeas de *Oebalus pugnax*, metil jasmonato 2mM, metil jasmonato 5mM, ácido salicílico 8mM e ácido salicílico 16 mM ($n = 10$).

Tratamento	Número de grãos por panícula	Esterilidade de espiguetas (%)	Grãos picados (%)
Controle (etanol)	35,7 \pm 16,0 b	57,7 \pm 11,9 ^{ns}	34,1 \pm 6,86 ^{ns}
Herbivoria	48,2 \pm 10,7 ab	40,2 \pm 8,8	21,5 \pm 2,67
MeJa 2mM	67,3 \pm 12,8 a	37,7 \pm 9,9	22,8 \pm 2,60
MeJa 5mM	80,4 \pm 21,9 a	37,9 \pm 10,9	21,9 \pm 5,31
AS 8mM	63,4 \pm 12,7 ab	31,4 \pm 8,0	32,6 \pm 9,63
AS 16mM	79,6 \pm 14,8 a	28,4 \pm 3,5	23,6 \pm 2,12
CV (%)	61,7	61,1	53,4

*Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, diferem pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

4.3.3 Efeito da aplicação de metil jasmonato e salicílico em plantas de arroz na ocorrência de *O. pugnax* e qualidade de grãos a campo

O número de espécimes de percevejo-do-grão variou ao longo do tempo ($F = 5,47$; $gl = 8$; $P = 0,001$) (Figura 17) e entre blocos ($F = 5,46$; $gl = 2$; $P = 0,008$), mas não entre tratamentos ($F = 0,26$; $gl = 4$; $P = 0,902$) e nem para a interação entre tratamento e tempo ($F = 0,364$; $gl = 32$; $P = 0,996$).

A esterilidade de espiguetas foi menor nas plantas tratadas com AS 16 mM em relação às da parcela controle ($F = 7,005$; $gl = 14$, $P = 0,03$), mas não diferiu dos demais tratamentos. O número de grãos por panícula e a porcentagem de grãos picados pelo percevejo-do-grão não variaram entre tratamentos (Tabela 7).

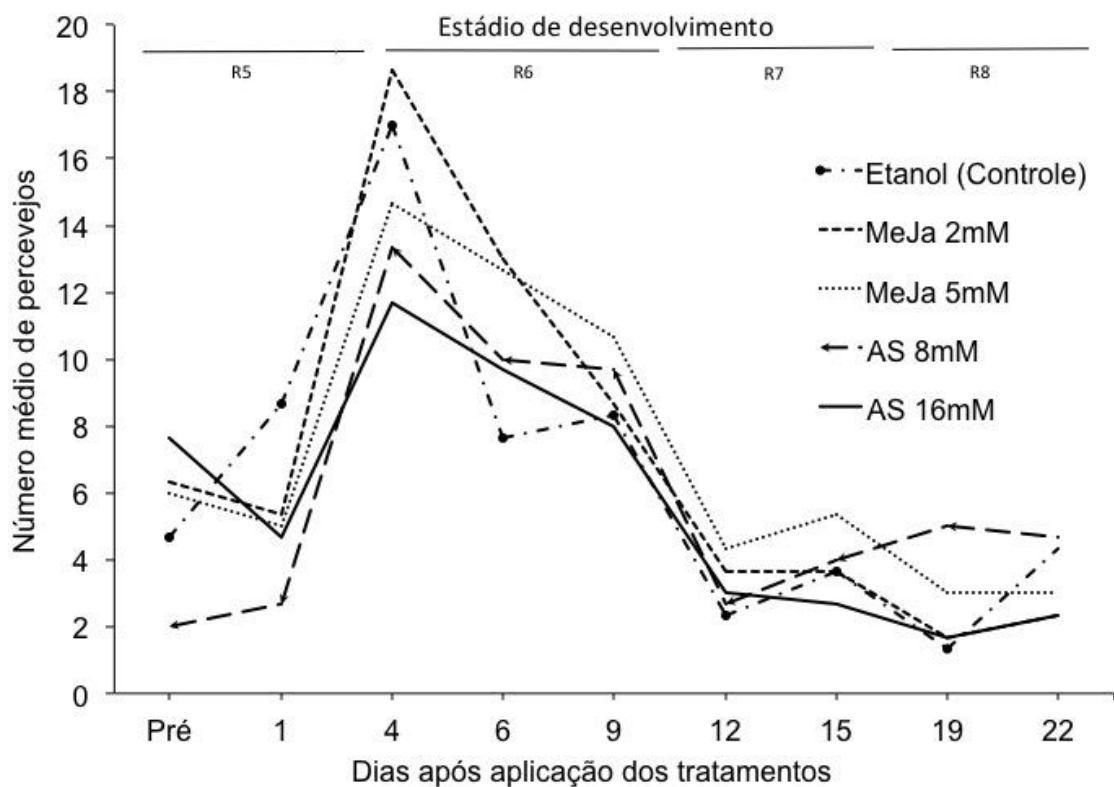


Figura 17. Flutuação populacional de *Oebalus pugnax* em parcelas de arroz irrigado em pré aplicação e após o tratamento com fitormônios em quatro estádios reprodutivos. MeJa (metil jasmonato); AS (ácido salicílico) e mM (milimolar). Crowley, LA, 2015.

Tabela 7. Número médio (\pm EP) de grãos por panícula, esterilidade de espiguetas (%) e grãos picados (%) de arroz em parcelas a campo, submetidas aos seguintes tratamentos: etanol (controle), metil jasmonato 2 mM, metil jasmonato 5 mM, ácido salicílico 8 mM e ácido salicílico 16 mM. Crowley, LA, 2015

Treatamento	Grãos por panícula	Esterilidade (%)	Grãos picados (%)
Etanol (Controle)	72,13 \pm 5,7 ^{ns}	7,71 \pm 1,0 a	3,74 \pm 0,6 ^{ns}
MeJa 2 mM	63,46 \pm 2,0	4,80 \pm 0,3 ab	2,73 \pm 0,08
MeJa 5 mM	69,68 \pm 4,6	5,37 \pm 0,4 ab	2,71 \pm 0,2
AS 8 mM	63,55 \pm 5,9	4,93 \pm 0,8 ab	2,99 \pm 0,5
AS 16 mM	66,95 \pm 2,3	3,67 \pm 0,4 b	2,80 \pm 0,5
CV (%)	9,63	31,6	25,1

*Médias seguidas por letras diferentes, na coluna, diferem pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

4.4 DISCUSSÃO

À exceção do α -pineno, houve aumento na emissão dos compostos secundários avaliados após a herbivoria de *O. pugnax*, com destaque para o salicilato de metila, que teve acréscimo de emissão em todos os tratamentos em relação ao controle. Estudos sobre os mecanismos de produção destes compostos mostram que estes podem ser desencadeados por indutores específicos dos herbívoros que ativam as rotas de sinalização e a atividade de genes relacionados à defesa das plantas (Kessler & Baldwin, 2001). Zhao *et al.* (2010) não observaram aumento no nível de ácido salicílico em plantas submetidas a herbivoria por larvas de *S. frugiperda*, mas obtiveram maior emissão de salicilato de metila pelas plantas atacadas. Em plantas de arroz que sofreram herbivoria por larvas de *C. medinalis*, assim como nas tratadas com ácido salicílico, houve incremento no nível endógeno deste ácido, o que atuou no aumento de produção do inibidor de proteinase tripsina (Xia *et al.*, 2011). Yang *et al.* (2004) também observaram que após a infecção por patógeno ou a percepção de algum estresse, o nível de ácido salicílico e seus conjugados aumentaram significativamente em plantas de arroz.

São poucos os trabalhos relacionados à defesa de plantas de arroz e a presença de hemípteros. Este grupo de insetos alimenta-se nos tecidos vasculares, inserindo o aparelho bucal entre as células, causando pequeno dano ao tecido. Por isso, é provável que as plantas não atuem as mesmas respostas que ao dano mecânico, mas reajam com respostas típicas ao ataque por patógenos (Gatehouse, 2002). Um estudo realizado em arroz mostrou que infestação prévia pela cigarrinha *S. furcifera* induziu resistência ao

fungo causador da brusone, *Magnaporthe oryza* B.Couch (Kanno *et al.*, 2012). Os autores sugeriram que o aumento da concentração de compostos secundários no tecido das plantas pode estar relacionado à herbivoria do hemíptero, induzindo a resistência ao fungo. Em *Arabidopsis*, a senescência da folha, modulada pelo gene regulado pelo ácido salicílico *PHYTOALEXIN DEFICIENT 4*, foi correlacionada com o aumento da resistência ao afídeo *M. persicae* (Pegadaraju *et al.*, 2005). Em heteroptera, foi constatado que fêmeas do percevejo-do-colmo *T. limbativentris* foram mais atraídas por voláteis das plantas de arroz sem dano de coespecíficos. De forma contrária, fêmeas do parasitoide *T. podisi* foram significativamente mais atraídas aos extratos de plantas danificadas por fêmeas deste percevejo. Os autores sugeriram que as plantas de arroz possam estar emitindo compostos de defesa que induzem a antixenose em fêmeas de *T. limbativentris* atuando também na defesa indireta atraindo inimigos naturais (Machado *et al.*, 2014).

A maioria das respostas à herbivoria é ativada por sinais mediados pelo ácido jasmônico e ácido salicílico. Nossos resultados corroboraram esta afirmação, pois foi constatado que a aplicação exógena de ambos os fitormônios desencadearam maior emissão de 1-hexanol-2-etil, salicilato de metila, azuleno, (+)-3-careno e β -pineno, sendo a maioria envolvida em mecanismos de defesa de plantas.

O composto 1-hexanol-2 etil pertence ao grupo dos voláteis de folhas verdes, que são produzidos pela rota da enzima lipoxigenase e emitidos principalmente em resposta ao dano mecânico (Gigot *et al.*, 2010). Este grupo de compostos voláteis é relacionado também ao recrutamento de inimigos naturais de herbívoros (Matsui, 2006). Salicilato de metila é derivado do ácido salicílico, que em plantas é metilado pela enzima ácido salicílico carboxil metiltransferase (Zubieta *et al.*, 2003; Sendon *et al.*, 2011). Em arroz, a atividade desta enzima é governada pelo gene *OsBISAMT1*, que tem a expressão induzida pelo ácido salicílico e jasmônico, pela infecção por patógenos e por danos mecânicos (Xu *et al.*, 2006; Zhao *et al.*, 2010). Este composto de defesa é frequente em voláteis de

plantas que sofreram herbivoria, já encontrado em soja (Zhu & Park, 2005), *arabidopsis* (Snoeren *et al.*, 2010), milho (Degen *et al.*, 2012) e arroz (Machado *et al.*, 2014). Já foi comprovada a ação de repelência a herbívoros (Groux *et al.*, 2014; Wei *et al.*, 2014) e de atração de inimigos naturais (Mallinger *et al.*, 2011; Rodriguez-Soana *et al.*, 2011), sugerindo que esta substância, isoladamente ou em combinação com outros, é um sinal de defesa direta e indireta de plantas. O sesquiterpeno azuleno foi observado em arroz pela primeira vez por Hinge *et al.* (2016) nos grãos de uma variedade do grupo Basmati, este, assim como o 3-careno, bem como outros terpenos, foram considerados pelos autores como responsáveis pela característica aromática da variedade AM-157. Não há registro destes voláteis na defesa de plantas, no entanto, como a presença dos mesmos aumentou após a herbivoria, supomos que os mesmos podem também atuar desta forma.

A presença de compostos secundários também pode estar associada à ativação de enzimas envolvidas na defesa de plantas. Chowhan *et al.* (2011) observaram que plantas de arroz expostas a β -pineno tem maior atividade das enzimas polifenol oxidases e peroxidases, ativadas a partir de estresses oxidativos, indicando o caráter de defesa desse composto.

No que se refere ao desenvolvimento de *O. pugnax*, nossos resultados evidenciaram que a aplicação de AS 16 mM em plantas de arroz não influenciou nos índices de sobrevivência, mas aumentou o tempo para atingir a fase adulta. Em ensaios com plantas de amendoim, a aplicação exógena de ácido salicílico em concentração 16 vezes menor que a utilizada no nosso trabalho resultou na ativação de enzimas como a PAL (fenilalanina amonio liase) e APX (ascorbato peroxidase), causando maior resistência à herbivoria de larvas de *H. armigera* (War *et al.*, 2015). No entanto, a solução 100 μ M de ácido salicílico em tomateiro não aumentou a mortalidade de cinco pragas da cultura (Kawazu *et al.* 2012). É possível supor que a concentração de

fitormônio utilizada e as respostas de defesa da planta dependem de diversos fatores como a espécie da planta e do inseto envolvidos nesta interação.

Não foi observada a influência dos tratamentos com MeJA, AS 8 mM e herbivoria nos parâmetros biológicos de *O. pugnax*. Recentemente, Qi *et al.* (2016) observaram que o tratamento de plantas de arroz com metil jasmonato não elevou o nível de ácido jasmônico nos tecidos da planta, e argumentam que a enzima carboxil metiltransferase metila e desmetila o ácido jasmônico de acordo com a disponibilidade endógena, balanceando o nível deste hormônio, diferentemente de outras espécies. Esse pode ter sido um fator limitante a indução de defesas, reduzindo a magnitude dos resultados, uma vez que é necessário o aumento do nível de ácido jasmônico nos tecidos da planta para que o processo de indução de defesa seja desencadeado. De forma diferente, Cheng *et al.* (2007), observaram que o gene *OsTPS3*, responsável pela produção dos principais sesquiterpenos em arroz, é ativado pelo tratamento com MeJa. A indução de defesa direta por ácido jasmônico à cigarrinha marrom *N. lugens*, utilizado nas concentrações de 2,5 mM e 5 mM foi registrada por Senthil-Nathan *et al.* (2009). Os autores atribuíram a menor sobrevivência, fecundidade e as deformidades nos insetos desenvolvidos em plantas tratadas ao menor consumo e assimilação do alimento ingerido.

Nos tratamentos com metil jasmonato e ácido salicílico 16 mM, o número de grãos por panícula no ensaio realizado em casa de vegetação diferiu do tratamento controle, não havendo diferença entre as duas doses do MeJa. Este resultado pode estar relacionado ao fato de que tanto o metil jasmonato como o ácido jasmônico induzem a defesa de plantas da mesma forma que a herbivoria, aumentando a atividade de enzimas como a polifenol oxidase, peroxidase, lipoxigenase, fenilalanina amônio liase e inibidores de proteinase, entre outras (Zhou *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2013). Esta diferença, no entanto, não foi observada no bioensaio de campo, provavelmente pelo fato dos insetos

não estarem confinados como no ensaio de casa de vegetação e, conseqüentemente, terem tido a possibilidade de se movimentar e provar outras panículas.

Em campo, a esterilidade de grão foi menor em plantas tratadas com o ácido salicílico 16 mM em relação ao controle. Este resultado provavelmente é decorrente da emissão de salicilato de metila, um dos compostos identificados neste trabalho em plantas de arroz com reconhecida atividade na defesa de plantas. Apesar de não ter sido constatada uma diferença significativa, foi possível observar uma tendência a menor presença do percevejo nas parcelas tratadas com AS 16 mM no campo, principalmente durante o estágio R6, no qual o arroz se encontra na fase de grão leitoso e “massa mole”, mais favorável à alimentação do percevejo. Assim, a emissão de maior quantidade de salicilato de metila, 1-hexanol-2-etil e β -pineno, entre outros, e as diferenças nos componentes de rendimento após o tratamento com AS 16 mM podem ser indicativo de algum processo de repelência de *O. pugnax*.

Este estudo evidenciou que plantas de arroz possuem mecanismos de defesa que podem ser ativados com a utilização exógena de fitormônios, principalmente o ácido salicílico 16 mM, sendo que esta defesa se reflete na alteração no tempo de desenvolvimento do percevejo *O. pugnax*, bem como, em alguns parâmetros de rendimento do arroz. Estes mecanismos, se melhores estudados, podem auxiliar na redução do uso de agrotóxicos, aumentando a sustentabilidade em sistemas agrícolas.

4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AWUNI, G. A. *et al.* Seasonal Abundance and Phenology of *Oebalus pugnax* (Hemiptera: Pentatomidae) on Graminaceous Hosts in the Delta Region of Mississippi. **Environmental Entomology**, Oxford, v. 44, n. 4, p. 931-938, 2015.

CAO, H.; WANG, S. LIU, T. Jasmonate- and salicylate-induced defenses in wheat affect host preference and probing behavior but not performance of the grain aphid, *Sitobion avenae*. **Insect Science**, Victoria, Australia, v. 21, n. 1, p. 47-55, 2014.

CHENG, A. *et al.* The rice (*E*)- β -caryophyllene synthase (OsTPS3) accounts for the major inducible volatile sesquiterpenes. **Phytochemistry**, Oxford, v. 68, n. 12, p. 1632-1641, 2007.

CHOWHAN, N. *et al.* Phytotoxic effects of β -pinene on early growth and associated biochemical changes in rice. **Acta Physiologiae Plantarum**, Krákov, v. 33, n. 6, p. 2369-2376, 2011.

COUNCE, P. A.; KEISLING, T.C.; MITCHELL, A.J. A uniform, objective, and adaptative system for expressing rice development. **Crop Science**, Madison, v. 40, n. 2, p. 436-443, 2000.

DEGEN, T. *et al.* Differential Performance and Parasitism of Caterpillars on Maize Inbre Lines with Distinctly Different Herbivore-Induced Volatile Emission. **Plos One**, San Francisco, v. 7, n. 10, p. 1-13, 2012.

DICKE, M.; BALDWIN, I. T. The evolutionary context for herbivory-induced plant volatiles: beyond the 'cry for help'. **Trends in Plant Science**, New York, v. 15, n. 3, p. 167-175, 2010.

ESPINO, L.; WAY, M. O.; OLSON, J.K. Most susceptible stage of rice panicle development to *Oebalus pugnax* (Hemiptera: Pentatomidae). **Journal of Economic Entomology**, Oxford, v. 100, n. 4, p. 1282-1290, 2007.

FUJI, T.; HORI, M.; MATSUDA, K. Attractants for Rice Leaf Bug, *Trigonotylus caelestialium* (Kirkaldy), are Emitted from Flowering Rice Panicles. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 36, n. 9, p. 999-1005, 2010a.

FUJI, T. *et al.* Influence of hosp plant odours on invasion of the rice leaf bug *Trigonotylus caelestialium* into paddy fields. **Agricultural and Forest Entomology**, Oxford, v. 12, n. 1, p. 99-105, 2010b.

GANESAN, V.; THOMAS, G. Salicylic acid response in rice: influence of salicylic acid on H₂O₂ accumulation and oxidative stress. **Plant Science**, Limerick, Irlanda, v. 160, n. 6, p. 1095-1106, 2001.

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

GIGOT, C. *et al.* The lipoxygenase metabolic pathway in plants: potential for industrial production of natural green leaf volatiles. **Biotechnologie, Agronomie, Société et Environment**, Liège, v. 14, n. 3, p. 451-460, 2010.

GILL, R. S. *et al.* Role of oxidative enzymes in plant defenses against herbivory. **Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica**, Budapest, v. 45, n. 2, p. 277-290, 2010.

GROUX, R. *et al.* Role of Methyl Salicylate on Oviposition Deterrence in *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 40, n. 7, p. 754-759, 2014.

HASEGAWA, M. *et al.* Phytoalexin Accumulation in the Interaction Between Rice and the Blast Fungus. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, MN, v. 23, n. 8, p. 1000-1011, 2010.

HAYAT, S. *et al.* Salicylic acids Local, systemic or inter-systemic regulators? **Plant signaling and behavior**, Philadelphia, PA, v. 7, n. 1, p. 93-102, 2012.

HINGE, V.; PATIL, H.; NADAF, A. Comparative Characterization of Aroma Volatiles and Related Gene Expression Analysis at Vegetative and Mature Stages in Basmati and Non-Basmati Rice (*Oryza sativa*) Cultivars. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, Clifton, N.J., v. 178, n. 4, p. 619-639, 2016.

KANNO, H.; HASEGAWA, M.; OSAMU, K. Accumulation of salicylic acid, jasmonic acid and phytoalexins in rice, *Oryza sativa*, infested by the white-backed planthopper, *Sogatella furcifera* (Hemiptera: Delphacidae). **Applied Entomology and Zoology**, Tokyo, v. 47, n. 1, p. 27-34, 2012.

KAWASU, K. *et al.* Different expression profiles of jasmonic acid and salicylic acid inducible genes in the tomato plant against herbivores with various feeding modes. **Arthropod-Plant Interactions**, Helsinki, v. 6, n. 2, p. 221-230, 2012.

KESSLER, A.; BALDWIN, I. T. Defensive Function of Herbivore-Induced Plant Volatile Emissions in Nature. **Science**, Washington, v. 291, n. 5511, p. 2141-2144, 2001.

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

MALLINGER, R. E.; HOGG, D. B.; GRATTON, C. Methyl Salicylate Attracts Natural Enemies and Reduces Populations of Soybean Aphids (Hemiptera: Aphididae) in Soybean Agroecosystems. **Journal of Economic Entomology**, Oxford, v. 104, n. 1, p. 115-124, 2011.

MATSUI, K. Green leaf volatiles: hydroperoxide lyase pathway of oxylipin metabolism. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 9, n. 3, p. 274-280, 2006.

McPHERSON, J. E.; McPHERSON, R. M. *Oebalus* spp. In: **Stink bugs of Economic Importance in America North of Mexico**. Boca Raton: CRC Press LLC, 2000. p. 141-158.

PATEL, D. T.; STOUT, M.J.; FUXA, J. R. Effects of rice panicle age on quantitative and qualitative injury by the rice stink bug (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE). **Florida Entomologist**, Gainesville, Fla, v. 89, n. 3, p. 321-327, 2006.

PEGADARAJU, V. *et al.* Premature leaf senescence modulates by the Arabidopsis *PHYTOALEXIN DEFICIENT4* gene is associated with defense against the phloem-feeding green peach aphid. **Plant Physiology**, Rockville, v. 139, n. 4, p. 1927-1934, 2005.

QI, J. *et al.* Jasmonic acid carboxyl methyltransferase regulates development and herbivory-induced defense response in rice. **Journal of Integrative Plant Biology**, Beijing, v. 58, n. 6, p. 564-576, 2016.

RODRIGUES-SAONA, C. *et al.* Field responses of predaceous arthropods to methyl salicylate: A meta-analysis and case study in Cranberries. **Biological Control**, Orlando, Fla., v. 59, n. 2, p. 294-303, 2011.

SANTINO, A. *et al.* Jasmonate Signaling in plant development and defense response to multiple (a)biotic stresses. **Plant Cell Reports**, Berlin, v. 32, n. 7, p. 1085-1098, 2013.

SENDON, P. M.; SEO, H.S.; SONG, J.T. Salicylic Acid Signaling: Biosynthesis, Metabolism, and Crosstalk with Jasmonic Acid. **Journal of Korean Society of Applied Biological Chemistry**, Seoul, v. 54, n. 4, p. 501-506, 2011.

SENTHIL-NATHAN, S. *et al.* Effects of jasmonic acid-induced resistance in rice on the plant brownhopper, *Nilaparvata lugens* Stål (Homoptera: Delphacidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 95, n. 2, p. 77-84, 2009.

SHIVAJI, R. *et al.* Plants on constant alert: elevated levels of jasmonic acid and jasmonate-induced transcripts in caterpillar-resistant maize. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 36, n. 2, p. 179-191, 2010.

SMITH, C. M.; BOYKA, E. The molecular bases of plant resistance and defense responses to aphid feeding: current status. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 122, n. 1, p. 1-16, 2006.

SNOEREN, T. A. L. The Herbivore-Induced Plant Volatile Methyl Salicylate Negatively Affects Attraction of the Parasitoid *Diadegma semiclausum*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 36, n. 5, p. 479-489, 2010.

STOUT, M. J.; RIGGIO, M. R.; YANG, Y. Direct induced resistance in *Oryza sativa* to *Spodoptera frugiperda*. **Environmental Entomology**, Oxford, v. 38, n. 4, p. 1174-1181, 2009.

TANIGUCHI, S. *et al.* Jasmonate induction of the monoterpene linalool confers resistance to rice bacterial blight and its biosynthesis is regulated by JAZ protein in rice. **Plant, Cell & Environment**, New York, v. 37, n. 2, p. 451-461, 2014.

VALLAD, G.E.; GOODMAN, R.M. Systemic acquired resistance and induced systemic resistance in conventional agriculture. **Crop Science**, Madison, v. 44, n. 6, p. 1920-1934, 2004.

WAR, A. R. *et al.* Mechanisms of Plant Defense against Insect Herbivores. **Plant Signaling and Behavior**, Austin, 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**, West Sussex, UK, v. 71, n. 1, p. 72-82, 2015.

WEI, J. *et al.* Reciprocal crosstalk between jasmonate and salicylate defence-signalling pathways modulates plant volatile emission and herbivore host-selection behavior. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 65, n. 12, p. 3289-3298, 2014.

XIA, W. *et al.* Salicylic acid and ethylene signaling pathways are involved in production of rice trypsin proteinase inhibitors induced by the leaf folder *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée). **Chinese Science Bulletin**, Beijing, v. 56, n. 22, p. 2351-2358, 2011.

XU, R.; SONG, F.; ZHENG, Z. *OsBISAMT1*, a gene encoding S-adenosyl-L-methionine: salicylic acid carboxyl methyltransferase, is differentially expressed in rice defense responses. **Molecular Biology Reports**, Dordrecht, v. 33, n. 3, p. 223-231, 2006.

YANG, Y.; QI, M.; MEI, C. Endogenous salicylic acid protects rice plants from oxidative damage caused by aging as well as biotic and abiotic stress. **The Plant Journal**, Oxford, v. 40, n. 6, p. 909-919, 2004.

YANG, D.; YANG, Y.; HE, Z. Roles of Plant Hormones and Their Interplay in Rice Immunity. **Molecular Plant**, Cambridge, MA, v. 6, n. 3, p. 675-85, 2013.

ZHAO, N. *et al.* Biosynthesis and emission of insect-induced methyl salicylate and methyl benzoate from rice. **Plant Physiology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 48, n. 4, p. 279-287, 2010.

ZHOU, G. *et al.* Silencing *OsHI-LOX* makes rice more susceptible to chewing herbivores, but enhances resistance to a phloem feeder. **The Plant Journal**, Oxford, v. 60, n. 4, p. 638-648, 2009.

ZHU, J.; PARK, K. C. Methyl salicylate, a soybean aphid-induced plant volatile attractive to the predator *Coccinella septempunctata*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 31, n. 8, p. 1733-1746, 2005.

ZUBIETA, C. *et al.* Structural Basis for Substrate Recognition in the Salicylic Acid Carboxyl Methyltransferase Family. **Plant Cell**, Rockville, v. 15, n. 8, p. 1704-1716, 2003.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os semioquímicos avaliados nesse estudo são potenciais ferramentas para o manejo de duas importantes espécies percevejos da cultura do arroz, *T. limbiventris* e *O. pugnax*.

O feromônio do percevejo-do-colmo ainda não foi completamente elucidado. Até o momento, apenas a mistura quaternária de isômeros do zingiberenol havia sido avaliada, sem capturas significativas. Este trabalho foi o primeiro que investigou misturas binárias, apresentando resultados promissores. Contudo, fatores como a quantidade e proporção de isômeros, tipo de dispersor, taxa de liberação, tipo e espaçamento entre armadilhas entre outros, devem ser avaliados. Estudos sobre a ecologia e comportamento sexual do inseto também podem otimizar o uso desta ferramenta.

O ácido salicílico, na concentração de 16 mM, alterou a emissão de compostos orgânicos voláteis da planta de arroz nas cultivares BR-IRGA 409 e Cocodrie, avaliadas em diferentes estádios de desenvolvimento. Nos dois sistemas este tratamento induziu a emissão de salicilato de metila de forma semelhante à herbivoria e modificou o comportamento ou desenvolvimento dos insetos, diminuindo a preferência do *T. limbiventris*, aumentando a atração do *T. podisi* e aumentando o tempo necessário para *O. pugnax* atingir a fase adulta. Este estudo também tem um caráter pioneiro, pois não há trabalhos na literatura que tenham avaliado o uso de fitormônios como mecanismo de defesa de plantas de arroz a pentatomídeos. A indução de resistência pelo uso de indutores pode ser usada como uma ferramenta para a modificação do comportamento de

insetos em programas de manejo integrado de pragas que utilizam estratégias como o *push-pull* e atrai-e-recompensa. Recentemente, a biologia molecular também tem focado nas rotas que desencadeiam a produção dos compostos orgânicos voláteis de defesa para produção de sementes com o estado fisiológico alterado, capazes de responder de forma mais rápida e robusta a stress – tecnologia chamada de *priming*. Outros estudos também devem ser conduzidos, em especial em relação às doses aplicadas e o efeito em outros organismos, uma vez que o tratamento com hormônios pode causar outras alterações na planta e no sistema onde está inserida.