

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

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)

Rita de Cássia de Melo Machado
Bióloga/Unilasalle
Mestre/UFRGS

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

Porto Alegre (RS), Brasil
Novembro de 2015

CIP - Catalogação na Publicação

Melo Machado, Rita de Cássia
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) / Rita de
Cássia Melo Machado. -- 2015.
75 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, 2015.

1. Entomologia. 2. Ecologia Química. 3.
Comportamento de Insetos. I. Sant'Ana, Josué,
orient. II. Título.

RITA DE CÁSSIA DE MELO MACHADO
Bióloga - UNILASALLE
Mestre em Fitotecnia - UFRGS

TESE

Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

DOUTOR EM FITOTECNIA

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

Aprovado em: 26.11.2015
Pela Banca Examinadora

Homologado em: 08.03.2016
Por

JOSUÉ SANT'ANA
Orientador - PPG Fitotecnia

SIMONE MUNDSTOCK JAHNKE
Coordenadora do Programa de
Pós-Graduação em Fitotecnia

SIMONE MUNDSTOCK JAHNKE
PPG Fitotecnia/UFRGS

RICARDO BISOTTO DE OLIVEIRA
SOS Abelhas

FERNANDO FELISBERTO DA SILVA
UNIPAMPA

PEDRO ALBERTO SELBACH
Diretor da Faculdade
de Agronomia

AGRADECIMENTOS

À minha família, especialmente meus pais, Elisabete e Lealci pelo empenho e sacrifício na minha formação.

Ao meu esposo Diego que sempre entendeu os momentos de ausência e me estimulou para a busca do conhecimento.

Ao meu pequeno anjo, minha razão de viver, minha pequena Júlia que desde muito cedo acompanhou a mamãe nas “indiadas” encarando, ainda na barriga, saídas de campo, aulas, leituras, qualificação, experimentos e tantas correrias para todos os lados...

Ao meu orientador, professor Josué Sant’Ana, agradeço a confiança, comprometimento e profissionalismo.

Ao Sr. Cláudio pela disponibilidade da área e pela parceria durante esses anos.

À pesquisadora Maria Carolina Blassioli Moraes pela dedicação, solicitude e paciência.

À ISCA pelo fornecimento das armadilhas.

Aos bolsistas de iniciação científica que tive a sorte de poder contar durante os experimentos, Augusto, Jorge e Juliana.

A toda a equipe do Laboratório de Semioquímicos de Insetos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, pela acolhida e parceria.

Aos amigos que tive a oportunidade de conhecer durante o doutorado sanduíche realizado no Laboratório de Ecologia Química na *Pennsylvania State University* (Penn State), em especial à professora Consuelo de Moraes.

Aos colegas e professores da Entomologia pela convivência durante esses seis anos.

Aos amigos que me direcionaram palavras e atitudes livres de preconceitos e julgamentos no momento em que o meu mundo mudou ao descobrir a gravidez, agradeço imensamente por terem me ajudado a abrir os olhos e perceber que a partir daquele momento a minha vida iria mudar sim, mas para muito melhor. Não vou citar nomes para não esquecer ninguém, mas deixo registrado a todos que me apoiaram nesse momento o meu sincero agradecimento.

À secretaria do PPG- Fitotecnia, Marisa Carvalho Bello, por toda atenção.

Ao CNPq e CAPES pelas bolsas concedidas.

À UFRGS pelo curso oferecido.

A todos aqueles que de alguma forma colaboraram para o desenvolvimento deste trabalho e da minha formação.

**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)¹**

Autora: Rita de Cássia de Melo Machado

Orientador: Josué Sant'Ana

RESUMO

O percevejo-do-colmo (*Tibraca limbativentris* Stål) é uma praga importante do arroz no Brasil. A aplicação desregrada de inseticidas é a única ferramenta comercialmente disponível para controlá-lo. Desta forma, estratégias alternativas mais sustentáveis devem ser investigadas para o manejo adequado dessa praga. Este trabalho teve como objetivos avaliar a atratividade de fêmeas de *T. limbativentris* a isômeros de zingiberenol (feromônio sexual) impregnados em septos de borracha, em condições de laboratório e de campo e estudar atividade quimiotáxica e parasitismo de *Telenomus podisi* (Ashmead) na presença de voláteis de plantas induzidos por herbivoria (VPIHs) (isolados e em misturas) identificados em plantas de arroz. A bioatividade de fêmeas de *T. limbativentris* (virgens e copuladas) em resposta a septos de borracha impregnados (1 mg /septo) com cada um dos isômeros (1'R ou 1'S zingiberenol) ou com hexano (controle), foi avaliada em olfatômetro "Y" lavouras de arroz. Nos trabalhos de campo foram avaliadas dois tipos de armadilhas, feitas a partir de garrafas PET ou recipientes de plástico "Tupperware". Também foram registradas as respostas quimiotáxicas de *T. podisi* (olfatômetro "Y") a VPIHs sintéticos, a plantas de arroz com e sem danos de *T. limbativentris*, assim como, ao hexano (controle). Além disso, observou-se o sucesso de parasitismo em ovos de *Euschistus heros* Fabr., com e sem presença dos VPIHs. Em laboratório, as fêmeas de *T. limbativentris* foram mais atraídas para 1'S zingiberenol em relação ao hexano. Não houve diferença na atividade quimiotáxica quando elas foram expostas simultaneamente aos dois isômeros. Foram capturadas fêmeas apenas nas armadilhas de campo feitas a partir de garrafas PET contendo 1'S zingiberenol. Fêmeas de *T. podisi* foram mais atraídas para a mistura contendo todos os VPIHs, também demonstraram respostas positivas para (E)-2-hexenal, (E)-2-octen-1-ol, geranil acetona e salicilato de metila, isolados e combinados, em relação ao hexano. Os parasitoides foram mais atraídos por voláteis de plantas danificadas por *T. limbativentris* em relação a qualquer outro composto sintético (isolado ou em combinação), no entanto, não demonstraram preferência quando as plantas de arroz não danificadas e voláteis sintéticos de plantas foram oferecidos conjuntamente. Os VPIHs não incrementaram o sucesso de parasitismo de *T. podisi*.

¹ Tese de Doutorado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (66p.) Novembro, 2015.

**CHEMICAL ECOLOGY OF *Tibraca limbativentris* (HEM: PENTATOMIDAE)
AND *Telenomus podisi* (HYM: PLATYGASTRIDAE): IMPLICATIONS IN
MANAGEMENT WITH SYNTHETIC SEXUAL PHEROMONE AND IN
TRITROPHIC INTERACTIONS MEDIATED BY VOLATILE FROM *Oryza sativa*
(POACEAE)¹**

Author: Rita de Cássia de Melo Machado

Advisor: Josué Sant'Ana

ABSTRACT

The stem stink bug (*Tibraca limbativentris* Stal) is an important rice pest in Brazil. Disorderly insecticide application is the only commercially available tool to control it. Thus, more sustainable alternative strategies should be investigated for the proper management of this pest. The study aimed to evaluate the attractiveness of *T. limbativentris* females to isomers of zingiberenol (sex pheromone) baited in rubber septa, in laboratory and field conditions and to register *Telenomus podisi* (Ashmead) chemotactic activity and parasitism in the presence of Herbivore-Induced Plant Volatiles (HIPVs) (alone and in mixtures) identified in rice plants. Laboratory bioactivity of *T. limbativentris* females (virgin and copulated) was evaluated in Y-tube olfactometer and in rice crops, by using rubber septa baited with 1 mg/septum of each isomer (1'R or 1'S zingiberenol) or hexane (control). In the field we evaluated two types of traps, made from PET bottles or Tupperware plastic containers. Chemotactic responses of *T. podisi* (Y-tube olfactometer) to synthetic HIPVs, rice plants (damage or undamaged), as well as, hexane (control), were assessed. Furthermore, we observed parasitism success in *Euschistus heros* Fabr., eggs, with and without HPIVs presence. In laboratory, *T. limbativentris* females were more attracted to 1'S zingiberenol over hexane. Moreover, there was no difference, in chemotaxis, when they were exposed simultaneously to these two isomers. Females were captured only in field traps made from PET bottles containing 1'S zingiberenol. *Telenomus podisi* were more attracted to the mixture containing all tested compounds (HIPVs), also showed positive responses to (E)-2-hexenal, (E)-2-octen-1-ol, geranylacetone and methyl salicylate (isolated and mixed) compared to hexane. Parasitoids preferred plants damaged by *T. limbativentris* over any standard compound (single or in combination), however displayed no preference when undamaged rice plants and synthetic HIPVs were offered simultaneously. HIPVs did not enhance *T. podisi* parasitism success.

¹ Doctoral Thesis in Agronomy, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (66p.) November, 2015.

SUMÁRIO

Página

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 Cultura do arroz (<i>Oryza sativa L.</i>)	3
2.1.1 Problemas fitossanitários da cultura.....	4
2.2 Percevejo-do-colmo (<i>T. limbatus</i>)	5
2.2.1 Aspectos bioecológicos e morfológicos.....	5
2.2.2 Caracterização dos danos em arroz	8
2.2.3 Controle.....	8
2.2.4 Inimigos naturais	10
2.2.5 <i>Telenomus podisi</i>	10
2.3 Comunicação química	11
2.3.1 Feromônios em Pentatomidae	12
2.3.2 Interações inseto-planta.....	15
2.4 Referências Bibliográficas	19
3 PRIMEIRO ARTIGO: Evaluation of steam stink bug synthetic sex pheromone in laboratory and field	28
4 SEGUNDO ARTIGO: Short-range cues mediate <i>Telenomus podisi</i> (Hymenoptera: Platygastridae) searching behaviour and parasitism on rice: the role of feeding-induced plant synomones	44
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	65

RELAÇÃO DE FIGURAS

Página

1. Pheromone traps. (A) PET trap (Model 1). (1) wire with septum; (2) inlet opening; (3) funnel inside; (4) removable trap bottom. (B) Tupperware trap (Model 2). (1) Tupperware plastic container; (2) inlet opening; (3) plastic base. Traps provided by ISCA Technologies (Brazil)..... 42
2. Response (% of tested insects) of virgins and copulated female of *Tibraca limbativentris* to new septa baited with 1'S zingiberenol (1'S-Zi), 1'R zingiberenol (1'R-Zi) and hexane in Y-tube olfactometer . *Significantly different according to a χ^2 test ($P < 0.05$). Numbers in brackets represent the number of responsive insects..... 42
3. Response (% of tested insects) of female of *Tibraca limbativentris* to septa baited with 1'S zingiberenol and hexane exposed in the environment for up to 30 days in Y-tube olfactometer . *Significantly different according to a χ^2 test ($P < 0.05$). Numbers in brackets represent the number of responsive insects..... 43
4. Number of *Tibraca limbativentris* females captured in PET traps (Model 1) baited with S- zingiberenol, R- zingiberenol and hexane ($N = 13$) and number of *Tibraca limbativentris*/ m^2 (females) observed during the weekly sampling ($N = 13$) in rice fields in Eldorado do Sul - RS, during the 2012/2013 harvest... 43
5. Chemotaxic responses of *Telenomus podisi* females tested in Y-tube olfactometer to synthetic volatiles identified in rice plants (HIPVs) and hexane (control). Numbers in parentheses represent the number of responsive insects. Values followed by an asterisk differ significantly ($P < 0.05$)..... 63
6. Mean (\pm SE) residence time (seconds) of *Telenomus podisi* females tested in Y-tube olfactometer to synthetic volatiles identified in rice plants (HIPVs) and hexane (control). Values followed by an asterisk differ significantly by Wilcoxon test ($P < 0.05$)..... 63

7. Chemotaxic responses of <i>Telenomus podisi</i> females tested in Y-tube olfactometer to synthetic volatiles (alone or mixed) identified in rice plants (HIPVs) and rice plants damaged by <i>Tibraca limbiventris</i> females herbivory. Numbers in parentheses represent the number of responsive insects. Values followed by an asterisk differ significantly ($P < 0.05$).....	64
8. Mean (\pm SE) residence time (seconds) of <i>Telenomus podisi</i> females tested in Y-tube olfactometer to synthetic volatiles (alone or mixed) identified in rice plants (HIPVs) and rice plants damaged by <i>Tibraca limbiventris</i> females herbivory. Values followed by an asterisk differ significantly by Wilcoxon test ($P < 0.05$).....	64

1 INTRODUÇÃO

O percevejo-do-colmo (*Tibraca limbativentris* Stål. 1860, Hemiptera: Pentatomidae) é um dos insetos mais prejudiciais à cultura do arroz (*Oryza sativa* L.) no Brasil, principalmente em cultivos irrigados. Em altas infestações, *T. limbativentris* pode provocar perdas consideráveis na produção, principalmente se o ataque ocorrer nas fases de pré-floração e formação dos grãos. O dano é evidenciado pela morte parcial ou total da parte central dos colmos, em consequência da alimentação do inseto a partir do 2º ínstar ninfal. A picada do inseto na haste das plantas, durante a fase vegetativa, provoca o aparecimento do sintoma conhecido por "coração-morto" e durante a reprodutiva, a "panícula-branca". O manejo deste percevejo, atualmente, requer práticas de controle que normalmente resultam na utilização de agrotóxicos, causando riscos ao meio ambiente e à saúde humana. Neste contexto, o estudo mais aprofundado das interações químicas entre o percevejo-do-colmo, seus inimigos naturais e plantas de arroz, pode gerar subsídios para o conhecimento de alternativas menos poluentes no manejo desta praga, de forma a aumentar a sustentabilidade deste agroecossistema.

O feromônio sexual de *T. limbativentris* já foi identificado e a atratividade de fêmeas foi comprovada em bioensaios de laboratório, contudo a aplicação deste composto no campo ainda precisa ser melhor elucidada, visando alternativas para o manejo integrado desta praga. Além disso, a utilização de sinomônios como ferramenta para o incremento na

população de inimigos naturais em lavouras pode propiciar um controle biológico mais efetivo de pragas agrícolas.

Sendo assim, este estudo teve como objetivos avaliar a atratividade de fêmeas de *T. limbativentris* a isômeros de zingiberenol (feromônio sexual) impregnados em septos de borracha, em condições de laboratório e de campo, bem como estudar a atividade quimiotáxica e o parasitismo de *Telenomus podisi* (Ashmead) (Hymenoptera: Platygastridae) em ovos de *Euschistus heros* Fabr. (Hemiptera: Pentatomidae), na presença de voláteis de plantas induzidos por herbivoria (VPIHs) (isolados e em misturas), identificados em plantas de arroz e sintetizados.

Os resultados estão apresentados na forma de dois artigos, sendo o primeiro intitulado “Evaluation of steam stink bug synthetic sex pheromone in laboratory and field” submetido ao periódico “Pesquisa Agropecuária Brasileira” e o segundo intitulado “Short-range cues mediate *Telenomus podisi* (Hym: Platygastridae) searching behaviour and parasitism on rice: the role of feeding-induced plant synomones” submetido ao periódico “Bulletin of Entomological Research”.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cultura do arroz

O arroz (*Oryza sativa*) L. é uma poácea anual, classificada no grupo de plantas C-3, adaptada a ambientes aquáticos devido à presença de aerênquima no colmo e nas raízes das plantas, possibilitando a passagem de oxigênio do ar para a camada da rizosfera (SOSBAI, 2014).

O ciclo de desenvolvimento da cultura pode ser dividido em fase de plântula (semeadura até a emergência); vegetativa (emergência até o aparecimento do colar da última folha no colmo principal) e reprodutiva (diferenciação da panícula até a maturação fisiológica) (Counce *et al.*, 2000). A duração de cada fase depende, principalmente, da cultivar utilizada, época de semeadura, região de cultivo e das condições da fertilidade do solo. O ciclo, para a maioria das cultivares comerciais, varia entre 100 e 140 dias (SOSBAI, 2014).

O arroz é o segundo cereal mais cultivado no mundo, a área ocupada para plantio é de aproximadamente 158 milhões de hectares, correspondendo a 29% do total de grãos utilizados na alimentação humana, com uma produção de 746,7 milhões de toneladas de grãos em casca (SOSBAI, 2014).

A produção mundial do cereal na safra 2012/13 foi de aproximadamente 496,4 milhões de toneladas (equivalente moído) (FAO, 2014). O Brasil possui uma produção anual entre 11 e 13 milhões de toneladas, participando com cerca de 79,3% da produção do

MERCOSUL (SOSBAI, 2014). Na safra 2012/2013 a América Latina produziu 24,5 milhões de toneladas, sendo que o Brasil foi responsável por uma produção de 11,6 milhões destas (FAO, 2013). O maior estado produtor do Brasil é o Rio Grande do Sul com 1.066,6 mil hectares, representando 44,5% da área nacional, respondendo ainda por 67,0% da produção brasileira (CONAB, 2013).

2.1.1 Problemas fitossanitários da cultura

Durante todo o seu ciclo, o arroz é afetado por plantas invasoras, doenças e insetos fitófagos que podem reduzir significativamente a produtividade e a qualidade dos grãos (Martins *et al.*, 2009). Dentre as plantas invasoras, o arroz vermelho (*O. sativa*) se destaca como a principal espécie responsável por perdas na produção (Agostinetto *et al.*, 2001). Já foram registradas mais de 80 doenças em arroz causadas por patógenos, incluindo fungos, bactérias, vírus e nematoides (EMBRAPA, 2008). Entre estas, a brusone (*Pyricularia grisea* Cooke) é a mais expressiva no Brasil e no mundo, provocando perdas significativas no rendimento das cultivares suscetíveis, quando as condições ambientais são favoráveis (Prabhu *et al.*, 2002).

Os arrozais são infestados por muitas espécies de insetos, podendo estes causar perdas de 15 a 30% na produtividade (Martins *et al.*, 2009). De acordo com os autores, estes organismos são enquadrados em dois grupos, no primeiro encontram-se os insetos-praga de solo, que danificam sementes, raízes e a parte basal de plantas na fase de pré-perfilhamento; no segundo os insetos-praga da parte aérea, que atacam colmos, folhas na fase vegetativa e panículas e grãos na fase reprodutiva.

Sementes e raízes são injuriadas por larvas e adultos de coleópteros, já os colmos e folhas sofrem injúrias pela ação de insetos mastigadores, sugadores e raspadores, sendo os dois primeiros grupos os mais importantes. Os grãos são atacados por um complexo de

Insetos sugadores que afetam diretamente a quantidade e a qualidade do produto (SOSBAI, 2014).

As principais espécies de percevejos ocorrentes na cultura do arroz pertencem à família Pentatomidae, na qual se destacam *Oebalus poecilus* (Dallas) e *T. limbativentris*. O primeiro é popularmente conhecido como percevejo-do-grão, encontra-se distribuído em todas as regiões produtoras de arroz do Brasil, possui vários hospedeiros alternativos e alimenta-se da parte aérea das plantas (EMBRAPA, 2008). Quando ocorre após o florescimento, suga os grãos alterando o estado de maturação fisiológica dos mesmos, o que os tornam estruturalmente enfraquecidos e quebradiços (Domiciano, 2001; SOSBAI, 2014). As injúrias são provocadas por ninfas e adultos, sendo que, a cada inseto por metro quadrado há redução de 1% no rendimento de grãos (SOSBAI, 2014).

Tibraca limbativentris, também conhecido como percevejo-do-colmo, percevejo-marrom, percevejo-das-hastes ou percevejo-grande-do-arroz, é um dos insetos mais prejudiciais à cultura no Brasil, principalmente em cultivos irrigados (Ferreira *et al.*, 1997). A importância econômica deste fica evidenciada pelo fato de ser o sistema irrigado responsável pela maior parte da produção nacional de arroz, com 1,3 milhões de hectares (Martins *et al.*, 2009).

2.2 Percevejo-do-colmo (*T. limbativentris*)

2.2.1 Aspectos bioecológicos e morfológicos

As posturas de *T. limbativentris* contêm em média 16,6 ovos (Silva *et al.*, 2004). São inicialmente de coloração esverdeada e, com a proximidade de eclosão, vão escurecendo, os ovos possuem forma cilíndrica e medem aproximadamente 1 mm de comprimento e 0,8 mm de diâmetro (Ferreira *et al.*, 1997). Prando *et al.* (1993) observaram a duração do período embrionário de 7,5 dias e viabilidade média de 98% ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 1\%$ UR e 14 h de fotofase). Resultado semelhante foi encontrado por Silva *et al.* (2004), os autores

verificaram que o período embrionário teve uma duração média de $6,9 \pm 1,2$ dias sob condições controladas (26°C , 60% UR e 14 h de fotofase), sendo a viabilidade em torno de 90%.

O período ninfal possui cinco estágios e a duração média em dias de cada instar é variável de acordo com as condições ambientais, conforme foi observado por Prando *et al.* (1993) que observaram a duração para os cinco ínstares, respectivamente, de 3,0; 8,09; 10,7; 17,77 e 24,09 dias ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, 70 \pm 1% UR e 14 h de fotofase) e Botton *et al.* (1996) observaram, em casa de vegetação, com condições ambientais não controladas, que a duração média em dias de *T. limbativentris* foi de 3,6; 6,1; 5,1; 5,2 e 10,6. Além disso, períodos mais prolongados foram registrados por Silva *et al.* (2004) a 26°C , 60% UR e 14 h de fotofase, nos quais a duração média foi de 5,5; 7,2; 10,4; 15,4 e 19,8 dias, para os cinco ínstares em ordem crescente.

As fêmeas medem aproximadamente 13,7 mm de comprimento e 7,4 mm de largura, geralmente são maiores que os machos (em torno de 12,5 mm de comprimento e 7,1 mm de largura) (Ferreira *et al.*, 1997; Fernandes & Grazia, 1998).

O percevejo hiberna no período de entressafra, em locais próximos ou dentro das lavouras, nas partes mais elevadas (Oliveira *et al.*, 2005; Klein *et al.*, 2012; 2013). Os principais sítios de hibernação são o *Andropogon bicornis* L. (capim-rabo-de-burro) (Klein *et al.*, 2012; 2013) e o *Paspalum urvillei* Steudel (macegão), além de taipas contendo palhas de arroz e resteva (Oliveira *et al.*, 2005).

Com o aumento da temperatura, os adultos deixam os locais de hibernação e dirigem-se para as plantas hospedeiras, onde se movimentam pelas folhas até a parte mais alta e começam a se reproduzir. A colonização dos arrozais ocorre quando as plantas estão com aproximadamente 20 dias de idade, pela imigração dos adultos dos sítios de hibernação (Ferreira *et al.*, 1997).

O percevejo-do-colmo possui uma ampla distribuição geográfica na Região Neotropical (Fernandes & Grazia, 1998) ocorrendo em toda a região orizícola da América Latina (Martins *et al.*, 2004a). Este inseto é considerado uma espécie praga em diversos países produtores, como Argentina, Brasil, Colômbia, Equador, Peru, República Dominicana e Venezuela (Pantoja *et al.*, 2007).

Tibraca limbativentris pode ocorrer em diferentes sistemas de cultivo de arroz, mesmo em condições climáticas e topográficas distintas. Este percevejo infesta lavouras, preferencialmente, em solo saturado, sem lámina d'água oriunda da irrigação, sendo esta condição favorável para o crescimento populacional (Martins *et al.*, 2004a). Durante a fase vegetativa da cultura os insetos apresentam uma distribuição aleatória na lavoura, com a aproximação da fase reprodutiva, as novas gerações passam a apresentar distribuição agregada (Costa & Link, 1992a). Em um trabalho mais recente através da utilização de técnicas geoestatísticas, Pazini *et al.* (2015) verificaram que *T. limbativentris* apresentou um comportamento agregado ao longo do desenvolvimento fenológico do arroz. Além disso os autores observaram que os primeiros focos de infestação de *T. limbativentris* ocorreram no início do perfilhamento das plantas (V4), nas áreas de bordadura da lavoura, sendo o período que compreende o início do perfilhamento até a floração do arroz o de maior ocorrência desta espécie.

A constatação da ocorrência do inseto na lavoura e a adoção de medidas de controle são dificultadas devido ao fato deste ficar abrigado no meio dos colmos das plantas, próximo ao solo, posicionados de cabeça para baixo, 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 (Linck *et al.*, 2005).

2.2.2 Caracterização dos danos em arroz

Costa & Link (1992b) observaram que quando as infestações ocorrem no final da fase reprodutiva e início da fase de maturação, as perdas são maiores. Os danos durante essa fase ocorrem devido ao aumento no número de grãos quebrados e gessados (Ferreira *et al.*, 1997).

Insetos adultos e ninfas podem atacar as plantas tanto na fase vegetativa, quanto na fase reprodutiva, provocando os sintomas conhecidos como “coração morto” e “panícula branca”, respectivamente (Ferreira & Martins, 1984; Botton *et al.*, 1996; Ferreira *et al.*, 1997; Oliveira *et al.*, 2010). Os danos são oriundos da alimentação de adultos e ninfas a partir do segundo ínstare, os quais injetam saliva nos colmos, provocando a morte do tecido interno da planta. Um período de 12 a 24 horas de alimentação é suficiente para ocasionar os sintomas descritos anteriormente. No local onde o percevejo introduz os estiletes, observa-se um pequeno ponto de coloração marrom, internamente ocorre o estrangulamento do colmo, interrompendo o fluxo de seiva, resultando na morte acima do ponto picado (Ferreira & Martins, 1984).

Segundo Costa & Link (1992a), o nível de dano econômico desta praga está associado à fase fenológica da planta. Os autores avaliaram a variedade IRGA 409 e observaram que durante as fases reprodutiva e vegetativa um percevejo/m² reduz a produção em 65,16 e 58,66 kg/ha, respectivamente. Em média, um percevejo por metro quadrado causa 1,2% de redução na produção de grãos (SOSBAI, 2014).

2.2.3 Controle

O percevejo-do-colmo é o inseto-praga de mais difícil controle em todas as regiões produtoras arroz no país, independentemente do sistema de produção praticado (Martins *et al.*, 2009).

A principal forma de controle de *T. limbativentris* ainda é o químico, os princípios ativos registrados no Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários (AGROFIT) para o controle desta praga na cultura do arroz são tiametoxam (neonicotinoide), ciflutrina (piretroide), lambda-cialotrina (piretroide), malationa (organofosforado) e bifentrina (piretroide) + carbosulfano (metilcarbamato de benzofuranila) (MAPA, 2015). No final da década passada houve um aumento substancial na aplicação aérea de inseticidas no Rio Grande do Sul, devido principalmente ao seu baixo custo (inseticidas e equipamentos) em relação aos elevados índices de produtividade alcançados (Martins *et al.*, 2009).

O uso indiscriminado de inseticidas é o principal responsável pelo manejo inadequado das espécies pragas da cultura (Martins *et al.*, 2009), uma vez que estes produtos geralmente apresentam baixa seletividade sobre as populações de inimigos naturais (Petroski & Stanley, 2009), como é o casos dos fungos entomopatogênicos, conforme demonstrado por Rampelotti-Ferreira *et al.* (2010). Os autores verificaram que alguns agrotóxicos utilizados na cultura do arroz afetam negativamente o desenvolvimento de isolados do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff).

A utilização de cultivares resistentes à *T. limbativentris* pode minimizar os danos causados por esse inseto, mantendo as populações das pragas abaixo de seus níveis de danos, minimizando, desta forma, a aplicação de inseticidas (Souza *et al.*, 2008a). Estes autores avaliaram 64 cultivares de arroz em casa de vegetação com o objetivo de determinar a resistência das plantas ao ataque de *T. limbativentris* e concluíram que 24 apresentaram resistência do tipo antibiose e 21 foram consideradas tolerantes. Souza *et al.* (2008b), em casa de vegetação, analisaram a resistência do tipo antibiose à ninfas de *T. limbativentris* em 16 variedades de arroz cultivadas no estado do Maranhão, e constataram que as variedades “arroz comum” e “desconhecido branco” foram mais resistentes que as demais.

2.2.4 Inimigos naturais

Fungos entomopatogênicos como *Beauveria bassiana* (Balsamo) e *M. anisopliae* podem estar presentes em lavouras de arroz diminuindo a população de todas as fases de desenvolvimento do percevejo-do-colmo (Rampelotti *et al.*, 2007; Martins *et al.*, 2004b), além disso, o uso desses fungos juntamente com doses subletais de inseticidas pode ser eficiente no controle do percevejo (Quintela *et al.*, 2013).

Os parasitoides também podem agir como importantes agentes de controle natural de insetos na cultura do arroz, principalmente de percevejos (Martins *et al.*, 2004a), com registro em posturas de *T. limbiventris* (Riffel *et al.*, 2010; Menegaz, 2012; Idalgo *et al.*, 2013). Riffel (2007) avaliando a ocorrência de parasitoides em ovos de *T. limbiventris* em arrozais irrigados localizados no estado de Santa Catarina verificou a dominância de *T. podisi* e *Trissolcus urichi* Crawford (Hymenoptera: Platygastridae). Segundo a autora, 80% dos ovos com sintomas de parasitismo coletados no estudo estavam parasitados por estas espécies. Estudo semelhante foi realizado por Maciel *et al.* (2007) no estado do Maranhão, no qual os autores observaram a ocorrência de três espécies de parasitoides, *T. podisi*, *T. urichi* e *Oencyrtus submetallicus* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae), com índice de parasitismo de 23,4% em áreas de arroz. Idalgo *et al.* (2013) verificaram que 75% dos ovos de *T. limbiventris*, coletados em lavoura de arroz irrigado em Eldorado do Sul, RS, estavam parasitados por *T. podisi*. No trabalho realizado por Menegaz (2012) a autora observou um índice de parasitismo de *T. podisi* em posturas de *T. limbiventris* de 89% e 73,5% em lavouras de arroz irrigado localizadas nos municípios de Eldorado do Sul e Charqueadas, RS, respectivamente.

2.2.5 *Telenomus podisi*

Telenomus podisi é um microhimenóptero que na fase adulta apresenta coloração preta e cerca de 1 mm de comprimento (Corrêa-Ferreira, 1993). Apresenta vida livre durante

a fase adulta e deposita os seus ovos em posturas de diferentes espécies de Pentatomidae, como *Piezodorus guildinii* (Westwood), *Nezara viridula* L. (Pacheco & Corrêa-Ferreira, 2000) e *Euschistus heros* Fabr. (Medeiros *et al.*, 1997; Pacheco & Corrêa-Ferreira, 2000) na cultura da soja, *Euschistus servus* (Say) e *Oebalus pugnax pugnax* (Fabricius) na do milho (Tillman, 2010) e *T. limbaticornis*, (Maciel *et al.*, 2007; Riffel *et al.*, 2010; Menegaz, 2012; Idalgo *et al.*, 2013) em lavouras de arroz.

O desenvolvimento até a fase adulta ocorre no interior do ovo do hospedeiro, onde os parasitoides passam pelas fases de ovo, larva, pupa e adulto. Aproximadamente 10-12 dias após o parasitismo, emergem os adultos, sendo os machos de um a dois dias mais velhos que as fêmeas. Estas apresentam uma fecundidade média de 250 ovos que são depositados geralmente nos primeiros dias após a emergência (Corrêa-Ferreira, 1993).

O processo de busca e seleção dos hospedeiros pelos parasitoides compreende uma sequência de passos que englobam desde a localização do habitat até o reconhecimento, aceitação e adequação do hospedeiro (Alphen Van & Vet, 1986; Vinson, 1998; Steidle & Van Loon, 2002). Os estímulos físicos e químicos são importantes guias de orientação do parasitoide na procura de seus hospedeiros (Vinson, 1985; Godfray, 1994). Dentre os estímulos químicos utilizados na orientação dos parasitoides estão os sinomônios liberados por plantas danificadas por herbívoros (Dicke, 2009) ou substâncias cairomonais provenientes de seus hospedeiros (Laumann *et al.*, 2009; Tognon *et al.*, 2014).

2.3 Comunicação química

As relações ecológicas dos insetos com diferentes organismos no ambiente ocorrem principalmente através da comunicação química. Os compostos envolvidos, denominados semioquímicos, são responsáveis por reações comportamentais específicas entre os indivíduos. Através da percepção e emissão destes compostos os insetos encontram

parceiros para o acasalamento, alimento, escolhem local de oviposição, se defendem contra predadores e organizam suas comunidades (Corrêa & Sant'Ana, 2007; Zarbin *et al.*, 2009).

Os semioquímicos podem atuar, principalmente, de duas formas, como feromônios, que são compostos mediadores de comunicação intraespecífica e como aleloquímicos, substâncias que intermedeiam comportamentos de indivíduos de espécies diferentes. Os aleloquímicos diferenciam-se de acordo com o tipo de organismo que está sendo beneficiado na comunicação em: cairomônios, que são sinais químicos que beneficiam somente o agente receptor; alomônios, que favorecem apenas o emissor e sinomônios que favorecem tanto o agente emissor como o receptor do sinal (Corrêa & Sant'Ana, 2007; Zarbin *et al.*, 2009).

2.3.1 Feromônios em Pentatomidae

Os compostos feromonais de espécies pertencentes à Pentatomidae podem atuar nos comportamentos sexual, de defesa e alarme. Os principais compostos são misturas de aldeídos, ésteres, alcoóis, terpenos, alcanos e cetonas (Moraes *et al.*, 2008a). As glândulas responsáveis pela produção de feromônios em pentatomídeos podem ser de três tipos, metatoráxicas, abdominais dorsais e unicelulares (Aldrich *et al.*, 1984; Borges & Aldrich, 2001). As metatoráxicas e abdominais dorsais são responsáveis pela produção de compostos defensivos e de agregação (Aldrich, 1988, Borges & Aldrich, 1992, Borges & Aldrich, 2001; Moraes *et al.*, 2008a, Laumann *et al.*, 2009). As metatoráxicas estão presentes apenas nos adultos (Borges & Aldrich, 2001; Laumann *et al.*, 2009), enquanto que as abdominais dorsais ocorrem apenas nas fases juvenis (Aldrich, 1988). As glândulas unicelulares estão presentes apenas nos adultos e nas fêmeas se apresentam em menor quantidade ou ausentes (Aldrich, 1988). Os pentatomídeos podem se comunicar tanto através de feromônio sexual (Aldrich, 1987, Borges *et al.*, 1998) como de agregação (Sant'Ana *et al.*, 1997; Borges & Aldrich, 2001).

Feromônio sexual é aquele liberado com a intenção de atrair um parceiro para cópula (Müller & Buchbauer, 2011). Em Pentatomidae é produzido pelos machos, sendo que as fêmeas são atraídas pela percepção desses odores, enquanto que os machos percebem sinais vibracionais no substrato, emitidos pelas fêmeas para localizá-las (Moraes *et al.*, 2008a). Existe uma grande variedade de compostos que constituem o feromônio sexual dessa família, embora não haja evidências de uma estrutura química comum para Pentatomidae, observa-se que algumas espécies possuem similaridades desses compostos dentro de um mesmo gênero (Moraes *et al.*, 2008a).

As principais espécies de Pentatomidae que tiveram seu feromônio sexual identificado foram: *Podisus maculiventris* Say (Aldrich *et al.*, 1984; Borges & Aldrich, 2001), *N. viridula* (Baker *et al.*, 1987; Aldrich, 1987), *E. heros* (Borges *et al.*, 1998), *P. guildinii*, (Zarbin *et al.*, 2000), *Acrosternum aseadum* (Rolston) (Aldrich *et al.*, 1984), *Thyanta perditor* (Westwood) (Moraes *et al.*, 2008a), *T. limbativentris* (Borges *et al.*, 2006) e *O. poecilus* (Oliveira *et al.*, 2013).

O feromônio sexual de *T. limbativentris* é composto por dois sesquiterpenos isômeros como compostos específicos de machos, denominados 1'S zingiberenol, com estrutura química (1 RS , 4 RS , 1'S)-4-(1',5'-dimethylhex-4-enyl)-1-methylcyclohex-2-en-1-ol e 1'R zingiberenol, constituído dos diastereoisômeros (1 RS ,4 RS ,1'R)-4-(1',5'-dimetilex-4-enil)-1-metilciclohex-2-en-1-ol. Como zingiberenol possui três centros quirais (nas posições 1',1 e 4) existem oito isômeros, ou seja, quatro pares de diastereoisômeros. A síntese não seletiva desses compostos produziu dois grupos de isômeros, 1'R zingiberenol, constituído dos diastereoisômeros (1 RS ,4 RS ,1'R)-4-(1',5'-dimetilhex-4'-enil)-1-metilciclohex-2-en-1-ol e 1' S zingiberenol, constituído dos diastereoisômeros (1 RS ,4 RS ,1'S)-4-(1',5'-dimetilhex-4'-enil)-1-metilciclohex-2-en-1-ol. Bioensaios realizados em condições controladas

evidenciaram que ambos os compostos são atrativos às fêmeas, porém houve uma resposta maior para 1' S zingiberenol (Borges *et al.*, 2006; Idalgo, 2011).

Testes a campo com feromônio sexual para monitoramento de populações de pentatomídeos já foram conduzidos por Borges *et al.* (1998) que avaliaram a atratividade de um componente do feromônio sexual de *E. heros* exposto em armadilhas no campo, os autores observaram que outras espécies de Pentatomidae foram coletados nas armadilhas, principalmente, *P. guildinii*. Essa coleta não seletiva de percevejos pode ser devido à presença de alguns compostos nas misturas feromonais comuns a mais de uma espécie, como foi observado para *E. heros* e *P. guildinii* (Borges *et al.*, 1999). Pires *et al.* (2006) observaram que armadilhas contendo o feromônio sexual de *E. heros* em lavoura de soja foram responsáveis pela captura de percevejos das espécies *N. viridula*, *P. guildinii*, *E. meditabunda*, *A. aseadum* e *T. perditor*.

De forma semelhante, Laumann *et al.* (2011) testaram a atratividade do feromônio sexual de *T. perditor* (2E,4Z,6Z)-decatrienoato de metila. Os autores observaram que as armadilhas que continham o feromônio sexual foram significativamente mais atrativas aos percevejos do que aquelas contendo apenas septos controle. No trabalho também foi observado que houve uma atração cruzada do feromônio sexual de *T. perditor* a outras espécies de percevejos, como *E. heros*, *Edessa meditabunda* (Fabricius, 1794), *P. guildinii* e *N. viridula*.

Borges *et al.* (2011) avaliaram a eficiência de armadilhas contendo o composto feromonal de *E. heros*, methyl 2,6,10-trimethyltridecanoate impregnado em septos de borracha, para o monitoramento populacional dessa espécie em lavoura de soja do Distrito Federal. Os autores observaram uma coleta de aproximadamente sete insetos de espécies pertencentes ao complexo de percevejos da soja por armadilha contendo o feromônio sexual, sendo que os septos impregnados com o composto tiveram uma durabilidade de até 30 dias.

2.3.2 Interações inseto-planta

Naturalmente, as plantas estão expostas a uma série de inimigos naturais, principalmente insetos fitófagos (Taiz & Zeiger, 2009). Segundo Howe & Jander (2008), estima-se que existam mais de um milhão de espécies de fitófagos na Classe Insecta. Estes representam quase a metade das espécies descritas (Triplehorn & Johnson, 2005). Contudo, menos de 1% da biomassa vegetal produzida anualmente é consumida por insetos (Strong *et al.*, 1984) evidenciando, desta forma, que as plantas possuem obstáculos que dificultam a ação destes organismos (Pizzamiglio, 1991).

As plantas representam a maior fonte de energia e nutrientes para uma gama de herbívoros e patógenos, sendo assim estas precisaram desenvolver mecanismos de autoproteção (Heil, 2010) por meio de defesas físicas e químicas (Taiz & Zeiger, 2009).

As defesas físicas ou morfológicas abrangem todas as características estruturais das plantas que possam atuar de forma negativa sobre o desempenho de um inseto fitófago (Lara, 1991). Este tipo de defesa é encontrada nas diferentes partes das plantas, e pode ser representada por pêlos, espinhos, tricomas e/ou ceras que recobrem a superfície de folhas, caules e frutos (Bowles, 1990). Os tricomas, inclusive, podem ser produzidos em maior densidade após dano por herbivoria (Agrawal, 1998; Traw & Bergelson, 2003; Björkman *et al.*, 2008).

As defesas químicas são caracterizadas pela emissão de compostos químicos após a colonização ou dano de um herbívoro. São compostos voláteis que recebem a sigla VOC, originária do inglês para *Volatile Organic Compounds*, também referidos como HIPV, abreviação de *Herbivore-Induced Plant Volatiles* (Khan *et al.*, 2008), ou mesmo VPIH (voláteis de plantas induzidos pela herbivoria). Após a colonização pelo herbívoro, existe a ativação de genes responsáveis pela produção de compostos do metabolismo secundário

como terpenoides, voláteis de folhas verdes (alcoóis e aldeídos) e compostos aromáticos (Dicke, 2009).

A especificidade dos compostos liberados pelas plantas pode estar relacionada à presença de compostos orgânicos, principalmente lipofílicos, nas secreções orais e de oviposição dos herbívoros. Estes indutores é que vão desencadear alterações fisiológicas vegetais produzindo, então, os compostos químicos específicos. A espécie *Pieris brassicae* L. (Lepidoptera: Pieridae) foi a primeira a ter o indutor presente nas secreções salivares identificado, sendo este a enzima β -glucosidase (Arimura *et al.*, 2009). Atualmente já foram identificadas quatro classes de indutores de defesa, a primeira engloba os aminoácidos conjugados com ácidos graxos (FACs), encontrados em regurgitantes de lagartas, como a volaticina; a segunda classe inclui os chamados *Bruchins*, representada por compostos presentes em secreções relacionadas à oviposição e presença de larvas de primeiro ínstار; a terceira, inclui caeliferinas, uma classe de indutores presentes na espécie de gafanhotos *Schistocerca americana* (Drury) (Orthoptera: Acrididae) e a quarta, são compostos enzimáticos como a β -glucosidase, citada anteriormente (Heil, 2009).

Diversos trabalhos demonstraram a ação dos mecanismos de defesa das plantas após a herbivoria (Turlings *et al.*, 1990; De Moraes *et al.* 1998; Turlings *et al.*, 1998; Dicke & Van Loom, 2000; Hoballah & Turlings 2001; Kessler & Baldwin 2001), porém são poucos os estudos com insetos fitossuccívoros (Colazza *et al.*, 2004a,b; Moraes *et al.* 2005, 2008b; Williams *et al.*, 2005; Michereff *et al.*, 2011; Machado *et al.*, 2014). Williams *et al.* (2005) observaram que plantas de milho (*Zea mays* L.) danificadas por *N. viridula* emitem grandes quantidades do monoterpeno linalol, dos sesquiterpenos (E)- β -cariofileno, α -trans-bergamoteno e (E,E)- β -farneseno e do homoterpeno (3E,7E)-4,8,12-trimetiltrideca-1,3,7,11-tetraeno. Segundo os autores, a alimentação das fêmeas desencadeia uma maior emissão destes voláteis, em comparação com a alimentação de machos e ninfas.

Rodriguez-Saona *et al.* (2002) avaliaram plantas de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) e milho infestadas com o percevejo *Lygus hesperus* Knight (Hemiptera: Miridae) e constataram que os algodoeiros infestados emitiram uma maior quantidade dos compostos acetato de (*Z*)-hex-3-enila, (*E*)- β -ocimeno, linalol, (*3E*)-4,8-dimetilnona-1,3,7-trieno, indol, (*E*)- α -farneseno, (*E,E*)- α -farneseno e (*3E,7E*)-4,8,12-trimetiltrideca-1,3,7,11-tetraeno, em comparação com plantas não danificadas. Em milho, os autores observaram uma maior quantidade de acetato de (*Z*)-hex-3-enila, linalol, (*3E*)-4,8-dimetilnona-1,3,7-trieno, indol, β -*trans*-bergamoteno, (*E*)- β -farneseno, (*E*)-nerolidol, e (*3E,7E*)-4,8,12-trimetiltrideca-1,3,7,11-tetraeno, quando comparadas com plantas sem dano.

Além da indução através da herbivoria, os mecanismos de defesa das plantas também podem ser ativados através da aplicação exógena de fitormônios como jasmonato de metila, *cis*-jasmona ou ácido jasmônico (Birkett *et al.*, 2000; Dicke & Van Loom, 2000; Bruce *et al.*, 2003; Bruce; Pickett; Smart, 2003; Pickett *et al.*, 2007; Moraes *et al.* 2008,b; 2009). Moraes *et al.* (2008c) evidenciaram que plantas de trigo (*Triticum* spp.) tratadas com *cis*-jasmona induzem uma maior produção de ácidos hidroxâmicos, principalmente 2,4-dihidróxi-7-metóxi-1,4-benzoxazin-3-ono (DIMBOA). Bioensaios a campo comprovaram que plantas de trigo com aplicação de *cis*-jasmona tiveram a população de pulgões significativamente reduzida quando comparadas com áreas não tratadas (Bruce *et al.*, 2003). Outros estudos evidenciaram que em plantas de *Vicia faba* L. pulverizadas com *cis*-jasmona houve indução da produção de (*E*)-ocimeno, que atua na defesa das plantas contra herbívoros (Birkett *et al.*, 2000, Pickett *et al.*, 2007).

A emissão dos voláteis induzidos por herbivoria também pode ser usada pelas plantas como uma estratégia de defesa, conhecida como indireta, os quais sinalizam aos inimigos naturais a presença de sua presa/hospedeiro (Dicke, 1994; Dicke & Van Loom, 2000). Os voláteis responsáveis por esta sinalização são os “HIPVs” e são liberados após a

herbivoria no local do dano ou sistematicamente na planta (Dicke & Baldwin, 2010). A maioria destes compostos pertence às classes dos “GLVs” (*Green Leaf Volatiles*) e terpenoides (Halitschke *et al.*, 2008; Arimura *et al.*, 2009).

Este tipo de defesa tem sido demonstrado através de diversos estudos de olfatometria em laboratório. De acordo com Moraes *et al.* (2005) voláteis induzidos pela herbivoria de *E. heros* em plantas de soja cv. Conquista (*Glycine max L.*) e feijão guandu (*Cajanus cajan L.*) atraem o parasitoide de ovos do percevejo, *T. podisi*. Resultados semelhantes também foram obtidos com a soja variedade BR-16, onde se observou que dois compostos voláteis, salicilato de metila e (3E,7E)-4,8,12 trimetil-1,3,7,11 tridecatetraene, conhecidos por agirem na defesa de plantas, foram liberados em maior quantidade quando a planta sofreu injúria devido a herbivoria e oviposição (Moraes *et al.* 2008b). A atratividade de *T. podisi* também foi observada por Moraes *et al.* (2009) após pulverizarem plantas de soja com *cis*-jasmona.

Colazza; Mcelfresh; Millar (2004) induziram o dano de herbivoria provocado pelo percevejo *N. viridula* em leguminosas (*V. faba* e *P. vulgaris*) e observaram que plantas danificadas pela alimentação ou pela presença de posturas desta espécie emitiram maiores quantidades de linalol, (E)-β-cariofileno, (3E,7E)-4,8,12 trimetitridecal-1,3,7,11 tetraene e (3E)-4,8-dimetilnona-1,3,7-trieno em comparação com plantas sem dano. Além disso, foi observado que fêmeas do parasitoide *T. basalis* são mais atraídas por extratos contendo (E)-β-cariofileno, sendo esta substância considerada sinônimo para a espécie. A produção deste composto é influenciada pela idade das posturas, as quais liberam maiores quantidades em até 96 horas após a oviposição, sendo neste período mais atrativas aos parasitóides (Colazza *et al.*, 2004). Michereff *et al.* (2011) observaram que plantas de soja da variedade Dowling danificadas pela herbivoria e oviposição de *E. heros* emitem (E,E)-α-farneseno, salicilato de metila, (Z)-3-acetato de hexenil, e (E)-2-octen-1-ol, sendo estes também atrativos ao parasitoide *T. podisi*. Experimentos de campo evidenciaram que além de atrair os

parasitoides, esses compostos também foram responsáveis por maiores índices de parasitismos de Platygastridae (Michereff *et al.*, 2015).

Plantas de arroz danificadas pelo percevejo-do-colmo *T. limbativentris* também apresentaram diferenças quantitativas nos voláteis emitidos após o dano por herbivoria, além disso, em experimentos de olfatometria, foi constatado que as fêmeas do percevejo evitaram os voláteis emitidos por essas plantas. Essas diferenças no perfil de voláteis de plantas danificadas e sem dano também foram responsáveis pela atratividade de fêmeas do parasitoide de ovos *T. podisi*. Os compostos que foram induzidos após a herbivoria do percevejo foram (*E*)-2-hexenal, 6-metil-5-hepten-2-ona, octanal, (*E*)-2-octen-1-ol, (*E,E*)-3,5-octadien-2-ona, linalol, nonanal, salicilato de metila, decanal, benzothiazol, β -cubebeno, geranil acetona, α -curcumeno, α -zingebereno, α -muuroleno, β -bisaboleno e β -sesquifelandreno (Machado *et al.*, 2014).

Embora diversos estudos indiquem que os voláteis liberados por plantas injuriadas por herbívoros sejam atrativos aos inimigos naturais, não existe necessariamente um incremento no parasitismo ou predação (Peñaflor & Bento, 2013). Como exemplo pode-se citar o trabalho de Vieira *et al.* (2014), no qual os autores avaliaram o composto sintético (*E*)-2-hexenal na atratividade e recrutamento de Telenominae na cultura da soja e concluíram que este composto aumentou a abundância de *Trissolcus* spp., mas não o parasitismo na área de estudo. Peñaflor & Bento (2013) apontam que a possibilidade do uso de semioquímicos para manipular o comportamento de inimigos naturais é promissora. Entretanto, ainda são necessários estudos para melhor compreensão destas interações químicas e comportamentais.

2.4 Referências Bibliográficas

AGOSTINETTO, D. et al. Arroz vermelho: ecofisiologia e estratégias de controle. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.2, p.341-349, 2001.

- AGRAWAL, A.A. Induced responses to herbivory and increased plant performance. **Science**, New York. v. 279, n.5354, p.1201-1202, 1998.
- ALDRICH, J.R. Chemical ecology of Heteroptera. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, n.33, p.211–238, 1988.
- ALDRICH, J.R. Chemistry and Biological Activity of Pentatomoid Sex Pheromones. Biologically Active Natural Products. **ACS Symposium Series**, Kettering. v. 380 p. 417-431, 1987.
- 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**, College Park. v.13, p.1031-1036, 1984.
- ALPHEN VAN, J.J; VET, L.E.M. An evolutionary approach to host finding and selection. In: INSECTS Parasitoids. London: Academic Press, 1986. p. 23-62.
- ARIMURA, G; MATSUI, K; TAKABAYASHI, J. Chemical and Molecular Ecology of Herbivore-Induced Plant Volatiles: Proximate Factors and Their Ultimate Functions. **Plant & Cell Physiology**, Oxford, v.50, n.5, p.911–923, 2009.
- 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. v.6, p.414-416, 1987.
- BIRKETT, M. A. et al. New roles for cis-jasmone as an insect semiochemical and in plant defense. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington. v.97, p.9329-9334, 2000.
- BJÖRKMAN, C; DALIN, P; AHRNE, K. Leaf trichome responses to herbivory in willows: induction, relaxation and costs. **New Phytologist**, Oxford. v.179, n.1, p. 176-184, 2008.
- 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. Monitoring the Neotropical brown stink bug *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) with pheromone-baited traps in soybean fields. **Journal of Applied Entomology**, Malden, v.135, p. 68–80, 2011.
- BORGES, M. et al. Semiochemical and physical stimuli involved in host recognition by *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae) toward *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae). **Physiological Entomology**, Oxford. v.24, p.227-233, 1999.
- BORGES, M. et al. Sex attractant pheromone from the rice stalk stink bug, *Tibraca limbaticornis* Stal. **Journal of Chemical Ecology**, New York. v.32, p.2749-2761, 2006.
- BORGES, M; ALDRICH, J. R. Feromônio de Heteroptera: Oportunidades para o manejo de insetos benéficos, 93-98p. In: FEROMÔNIOS de insetos: biologia, química e emprego no manejo de pragas.2nd. ed. Ribeirão Preto: Holos, 2001. 206p.

BORGES, M; ALDRICH, J.R. Instar-specific defensive secretions of stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae). **Experientia**, Basiléia, v.48, n.9, p.893-896, 1992.

BOTTON, M. et. al. Biology of Tibraca limbativentris Stal, 1860 on rice plants. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.25, n.1, p.21-26, 1996.

BOWLES, D.J. Defense related proteins in higher plants. **Annual Review of Biochemistry**, Palo Alto, v. 59, p. 837- 907, 1990.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Agrofit- Sistema de agrotóxicos fitossanitários**. 2015. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 06. Out. 2015.

BRUCE, T.J.A. et al. Cis Jasmone treatment induces resistance in wheat plants against the grain aphid, Sitobion avenae (Fabricius) (Homoptera: Aphididae). **Pest Management Science**, London , v. 59, p. 1031-1036, 2003.

BRUCE, T.J; PICKETT, J.A; SMART, L.E. Cis-Jasmone switches on plant defence against insects. **Pesticide Outlook**, Saskatoon, v.14, p. 96–98, 2003.

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

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

CONAB- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO.. **Acompanhamento da Safra Brasileira**. Grãos 2012/2013. Agosto 2013. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_08_09_10_43_44_boletim_portugues_agosto_2013_port.pdf>. Acesso em: 06. Out. 2015.

CORRÊA, A.; SANT'ANA, J. Ecologia química de insetos. In: CORRÊA, A.G.; VIEIRA, P.C. (Org.). **Produtos naturais no controle de insetos**. São Carlos: UFSCar, 2007. p. 9-17.

CORRÊA-FERREIRA, B. S. **Utilização do parasitóide Trissolcus basalis (Wollaston) no controle de percevejos da soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSO, 1993. 40p. (EMBRAPA-CNPSO. Circular técnica, 11).

COSTA, E. C.; LINK, D. Avaliação de danos de Tibraca limbativentris Stal, 1860 (Hemiptera, Pentatomidae) em arroz irrigado. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina. 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.

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

- DE MORAES, C.M, et al. Herbivore-infested plants selectively attract parasitoids. **Nature**, London. n.393, p. 570-573. 1998.
- DICKE, M. Behavioural and community ecology of plants that cry for help. **Plant, Cell and Environment**, Malden, v.32, p.654–665, 2009.
- DICKE, M. Local and systemic production of volatile herbivore-induced terpenoids - their role in plant-carnivore mutualism. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 143, n. 4-5, p. 465-472, 1994.
- DICKE, M.; BALDWIN, I. T. The evolutionary context for herbivore-induced plant volatiles: beyond the ‘cry for help’. **Trends in Plant Science**, London. v.15, n.3, p.167-175, 2010.
- DICKE, M.; VAN LOON, J.J.A. Multitrophic effects of herbivore-induced plant volatile in an evolutionary context. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 97, n.3, p.237-249, 2000.
- DOMICIANO, N. L. Manejo de Pragas. In: ARROZ Irrigado: práticas de cultivo. Londrina: IAPAR, 2001. p. 101-118.
- EMBRAPA-EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Informações técnicas para a cultura do arroz irrigado no Estado do Tocantins : safra 2008/2009.** Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2008. 136 p.
- FAO. **Crop Prospects and Food Situation.** 2013. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/017/al998e/al998e.pdf>>. Acesso em: 06. Out. 2015.
- FAO. **Rice Market Monitor.** 2014. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/a-i4147e.pdf>>. Acesso em: 06. Out. 2015.
- FERNANDES, J. A. M.; GRAZIA, J. Revision of the genus *Tibraca* Stål (Heteroptera, Pentatomidae, Pentatominae). **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba. v. 15, n. 4, p. 1049 -1060, 1998.
- FERREIRA, E. et al. **O percevejo-do-colmo na cultura do arroz.** Goiânia: Embrapa Arroz e Feijão, 1997. 43p. (EMBRAPA-CNPAF. Documentos, 75).
- FERREIRA, E; MARTINS, J.F.S. **Insetos prejudiciais ao arroz no Brasil e seu controle.** Goiânia: Embrapa Arroz e Feijão, 1984. 67p. (EMBRAPA-CNPAF. Documentos, 11)
- GODFRAY, H.C.J. **Parasitoids, Behavioural and Evolutionary Ecology.** New Jersey: Princeton University Press, 1994.
- HALITSCHKE, R, et al. Shared signals - 'alarm calls' from plants increase apperancy to herbivores and their enemies in nature. **Ecology Letters**, Oxford. v.11, n.1, p.24-34, 2008.
- HEIL, M. Damaged-self recognition in plant herbivore defence. **Trends in Plant Science**, London. v. 4, n. 7, p. 356-363, 2009.
- HEIL, M. Plastic defence expression in plants. **Evolutionary Ecology**, Dordrecht, v. 24, n. 3, p. 555-569, 2010.

HOBALLAH, M.E,F; TURLINGS, T.C.J. Experimental evidence that plants under caterpillar attack may benefit from attracting parasitoids. **Evolutionary Ecology Research**, Tucson, n.3,p. 553–565, 2001.

HOWE, G. A; 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* Stål (Hemiptera: Pentatomidae) em lavoura de arroz irrigado, Eldorado do Sul, RS. **Arquivos Instituto Biológico**, São Paulo, v.80, n.4, p. 453-456, 2013.

IDALGO, T.D.N. **Tibraca limbativentris St 1 (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE): parasitismo em lavouras de arroz irrigado (*Oryza sativa*) e interações mediadas por semioquímicos**. 2011. 56 p. Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

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

KHAN, Z.R. et al. Chemical ecology and conservation biological control. **Biological Control**, San Diego, n.45, p.210–224, 2008.

KLEIN, J.T; REDAELLI, L.R; BARCELLOS, A. *Andropogon bicornis* (Poales, Poaceae): a hibernation site for Pentatomoidea (Hemiptera: Heteroptera) in a rice-growing region of Southern Brazil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.43, n.3, p.240-245, 2013.

KLEIN, J.T; 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**, Lutz, v.95, n.4, p.813-818, 2012.

LARA, F. M. **Princípios de resistência de plantas a insetos**. São Paulo: Ícone, 1991. 336 p.

LAUMANN, R.A. et al. Field capture of *Thyanta perditor* with pheromone-baited traps. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.46, n.2, p.113-119, fev. 2011.

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

LINCK, 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, 4., REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 26., 2005, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: Orium, 2005. P. 110-111.

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

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

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

MARTINS, J.F.S. et al. Descrição e manejo integrado de insetos-praga em arroz irrigado. In GOMES, A. S.; MAGALHÃES JÚNIOR, A. M. (Ed.). **Arroz irrigado no Sul do Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004a. p. 635-675.

MARTINS, J.F.S. et al. Eficiência de *Metarhizium anisopliae* no controle do Percevejo-do-colmo *Tibraca limbativentris* (Heteroptera: Pentatomidae) em lavoura de arroz irrigado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 6, p. 1681-1688, nov-dez, 2004b.

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

MENEGAZ, P.F. **Pentatomídeos e seus inimigos naturais na cultura do arroz irrigado no Rio Grande do Sul**. 2012. 75 p. Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

MICHEREFF, M. F. F. et al. Effect of resistant and susceptible soybean cultivars on the attraction of egg parasitoids under field conditions. **Journal of Applied Entomology**, Hoboken, v.139, n.3, p. 207–216, 2015.

MICHEREFF, M.F.F. et al. Volatiles Mediating a Plant-Herbivore-Natural Enemy Interaction in Resistant and Susceptible Soybean Cultivars. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.37, p.273–285, 2011.

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

MORAES, M.C.B. et al. Cis-Jasmone induces accumulation of defence compounds in wheat, *Triticum aestivum*. **Phytochemistry**, Oxford. v. 69, p. 9-17, 2008a.

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

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

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, p. 178–188, 2009.

MÜLLER, M; BUCHBAUER, G. Essential oil components as pheromones. A review. **Flavour and Fragrance Journal**, Malden, v.26, p.357–377, 2011.

OLIVEIRA, J. V. et al. **Manejo de insetos associados à cultura do arroz irrigado**. Cachoeirinha: IRGA/ Estação Experimental. Seção de Agronomia, 2010. 54p.

OLIVEIRA, J. V; DOTTO, G. M; SANTOS, J. L. R. Levantamento populacional do percevejo *Tibraca limbaticornis* (Hemiptera: Pentatomidae) na região da Depressão Central do Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 4., REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 26., 2005, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: Orium, 2005. p 103-104.

OLIVEIRA, M. W. M. et al. Correction to Zingiberenol, (1R,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.33, p. 7777–7785, 2013.

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

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

PAZINI, J. B. et al. Geoestatística aplicada ao estudo da distribuição espacial de *Tibraca limbaticornis* em arrozal irrigado por inundação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.45, n.6, p. 1006-1012, 2015.

PEÑAFLOR, M.F.G.V; BENTO, J.M.S. Herbivore-Induced Plant Volatiles to Enhance Biological Control in Agriculture. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.42, n.4, p.331-343, 2013.

PETROSKI, R.J; STANLEY, D. W. Natural compounds for pest and weed control. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.57, n.18, p.8171–8179, 2009.

PICKETT, J.A. et al., Cis-Jasmone as an allelopathic agent through plant defence induction. **Allelopathy Journal**, Hisar, v. 19, p. 109-117, 2007.

PIRES, C.S.S. 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**, Costa Rica, n.77, p.70-77, 2006.

PIZZAMIGLIO, M. A. Ecologia das interações inseto/planta. In: PANIZZI, A. R; PARRA, J. R. P. **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. São Paulo: Manole, 1991.p. 101-129.

PRABHU, A. S; GUMARÃES, C. M; SILVA, G. B. **Manejo da brusone no arroz de terras altas**. Goiânia: Embrapa Arroz e Feijão, dez. 2002. (EMBRAPA-CNPAF. Circular Técnica 52)

PRANDO, H. F; KALVELAGE, H; FERREIRA, R. A; Ciclo de vida de Tibraca limbativentris (Hemíptera: Pentatomidae) em condições de laboratório. **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba, v.37, n.2, p.335-339, 1993.

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

RAMPELOTTI, F. T. et al. Patogenicidade de Metarhizium anisopliae (metsch.) sorokin sobre as fases do desenvolvimento de Tibraca limbativentris stal (hemiptera: pentatomidae) em condições de laboratório. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.74, n.2, p.141-148, abr./jun., 2007.

RAMPELOTTI-FERREIRA, F.T. et al. Selectivity of chemical pesticides used in rice irrigated crop at fungus Metarhizium anisopliae, microbial control agent of Tibraca limbativentris. **Ciência Rural**, Santa Maria. v. 40, n. 4, p. 745-751, 2010.

RIFFEL, C. T. **Levantamento e aspectos biológicos de espécies parasitóides de posturas do percevejo-do-colmo-do-arroz no Estado de Santa Catarina**. 2007. 73 p. Dissertação (mestrado) – Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2007.

RIFFEL, C.T; PRANDO, H.F; BOFF, M.I.C. First Record of Telenomus podisi (Ashmead) and Trissolcus urichi (Crawford) (Hymenoptera: Scelionidae) Parasitizing Eggs of the Rice Stern Bug, Tibraca limbativentris (Stal) (Hemiptera: Pentatomidae), in Santa Catarina, Brazil. **Neotropical Entomology**, Londrina. v.39, n.3, p.447-448, 2010.

RODRIGUEZ-SAONA, C. et al. Lygus hesperus feeding and salivary gland extracts induce volatile emissions in plants. **Journal of Chemical Ecology**, New York. v.28, n.9. p.1733-1747, 2002.

SANT'ANA, J. et al. Pheromone-induced movement of nymphs of the predator, Podisus maculiventris (Heteroptera: Pentatomidae). **Biological Control**, San Diego, v.10. p. 123-128, 1997.

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

SOSBAI - Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado. **Arroz irrigado:** recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil. Bento Gonçalves, RS: SOSBAI, 2014. 192p.

SOUZA, J. R. et al. Avaliação de resistência em cultivares de arroz ao ataque do percevejo-do-colmo, Tibraca limbativentris stal, 1860 (Hemiptera: Pentatomidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.75, n.4, p.443-448, out./dez., 2008a.

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, jul./set., 2008b.

STEIDLE, J.L.M.; VAN LOON, J.J.A. Chemoecology of parasitoid and predator oviposition behaviour. In: CHEMOEOLOGY of insects eggs and eggs deposition. Berlin, Alemanha: Blackweel Publishing, 2002. p. 291-317.

STRONG, D.R; LAWTON, J.H; SOUTHWOOD, S. R. **Insects on plants:** community patterns and mechanisms. Oxford: Blackwell Scientific, 1984. 313 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal.** 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819 p.

TILLMAN, P.G. Parasitism and Predation of Stink Bug (Heteroptera: Pentatomidae) Eggs in Georgia Corn Fields. **Environmental Entomology**, Lanham. v.39, n.4, p.1184-1194, 2010.

TOGNON, R; SANT'ANA, J; JAHNKE, S.M. Influence of original host on chemotaxic behaviour and parasitism in Telenomus podisi Ashmead (Hymenoptera: Platygastriidae). **Bulletin of entomological research**, London, v.104, n.6, p.781 -787, 2014.

TRAW, M.B.; BERGELSON, J. Interactive effects of jasmonic acid, salicylic acid, and gibberellin on induction of trichomes in Arabidopsis. **Plant Physiology**, Rockville. v.133, n.3, p.1367-1375, 2003.

TRIPLEHORN, C.A; N.F. JOHNSON. **Borror and Delongs Introduction to the Study of Insects.** Thomson: Books Cole, 2005. 864p.

TURLINGS, T. C. J. et al. Timing of induced volatile emissions in maize seedlings. **Planta**, New York, n. 207, p. 146-152, 1998.

TURLINGS, T.C.J; TUMLINSON, J.H.; LEWIS, W.J. Exploitation of herbivore-induced plant odors by host-seeking parasitic wasps. **Science**, Washington. v. 250, p. 1251-1253, 1990.

VIEIRA, C.R. et al. Field evaluation of (E)-2-hexenal efficacy for behavioral manipulation of egg parasitoids in soybean. **Biocontrol**, Dordrecht, v.56, n.5, p. 525-537, 2014.

VINSON, S.B. The behaviour of parasitoids. In: **COMPREHENSIVE insect physiology, biochemistry and pharmacology** New York: Pergamon Press, 1985. p.417-469.

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

WILLIAMS L. et al. The piercing-sucking herbivores Lygus hesperus and Nezara viridula induce volatile emissions in plant. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, Hoboken, v. 58, n.2, p.84-95, 2005.

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.G. et al. Alarm pheromone system of stink bug Piezodorus gu (Heteroptera: Pentatomidae). **Journal of Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 424-428, 2000.

1 **3 PRIMEIRO ARTIGO: Evaluation of steam stink bug synthetic sex pheromone in**
2 **laboratory and field²**

4 **Evaluation of steam stink bug synthetic sex pheromone in laboratory and field**
5 Rita de Cássia de Melo Machado⁽¹⁾, Josué Sant'Ana⁽¹⁾, Augusto Leal Meyer⁽¹⁾, Maria
6 Carolina Blassioli Moraes⁽²⁾, Raul Alberto Laumann⁽²⁾ and Miguel Borges⁽²⁾

7 ⁽¹⁾Laboratório de Etologia e Ecologia Química de Insetos, Universidade Federal do Rio
8 Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Departamento de Fitossanidade. Av. Bento
9 Gonçalves, 7712, Bairro Agronomia, Porto Alegre, RS, Brazil, CEP 91540-000, E-mail:
10 rita.cassia@ufrgs.br, augusto.meyer@ufrgs.br, josue.santana@ufrgs.br

11 ⁽²⁾Laboratório de Semioquímicos, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Parque
12 Estação Biológica Final W5 Norte, Brasília, DF, CEP 70.770-917, E-mail:
13 carolina.blassioli@embrapa.br, raul.laumann@embrapa.br, miguel.borges@embrapa.br

17 Abstract - The study aimed to evaluate the bioactivity of *Tibraca limbaticornis* sex
18 pheromone in laboratory and field tests. Rubber septa were baited with 1'S zingiberenol, 1'R
19 zingiberenol (1 mg/isomer/septum) or in hexane (control). Laboratory bioactivity of *T.*
20 *limbativentris* females (virgin and copulated) was evaluated in Y-tube olfactometer and field
21 tests, in rice crops by using two types of traps, made from PET bottles or Tupperware plastic
22 containers. In laboratory females were more attracted to 1'S zingiberenol over hexane.
23 Moreover, there was no difference, in chemotaxis, when they were exposed simultaneously
24 to these two isomers. Females were captured only in field traps made from PET bottles
25 containing 1'S zingiberenol. The results indicate that PET traps and isomer 1'S zingiberenol
26 formulated into rubber septa have potential for monitoring *T. limbaticornis* in rice crops.

² Artigo elaborado segundo as normas da revista Pesquisa Agropecuária Brasileira

27 Index terms: *Tibraca limbativentris*, rubber septum, trap, monitoring

28 **Avaliação do feromônio sexual sintético do percevejo-do-colmo em laboratório e**
29 **campo**

30
31 Resumo – O estudo teve como objetivo avaliar a bioatividade do feromônio sexual de
32 *Tibraca limbativentris* em experimentos de laboratório e campo. Os septos foram
33 impregnados por imersão em 1'S zingiberenol, 1'R zingiberenol (1 mg/isômero/septo) ou em
34 hexano (controle). A bioatividade de *T. limbativentris* em laboratório foi avaliada em
35 ofatômetro "Y" e nos experimentos de campo foram utilizadas dois tipos de armadilhas,
36 confeccionadas a partir de garrafas PET ou potes plásticos do tipo *Tupperware*. Observou-se
37 que as fêmeas foram mais atraídas, em laboratório, pelo 1'S zingiberenol em comparação ao
38 hexano, além disso, não houve diferença na quimiotaxia destas quando expostas
39 simultaneamente aos dois isômeros. Foram capturadas fêmeas a campo apenas em
40 armadilhas confeccionadas a partir de garrafas PET, contendo 1'S zingiberenol. Os
41 resultados indicam que armadilhas PET e o isômero 1'S zingiberenol impregnado em septo
42 de borracha têm potencial para uso em programas de monitoramento de *T. limbativentris* na
43 cultura do arroz.

44 Termos para indexação: *Tibraca limbativentris*, septos de borracha, armadilha,
45 monitoramento

46 **Introduction**

47 The steam steam bug (SSB) (*Tibraca limbativentris* Stal. 1860) is one of the most important
48 rice (*Oryza sativa* L.) crops pests in Brazil. The insects sting plants during the growing
49 stage, provoking symptoms known as "deadheart" and, on the reproductive stage,
50 "whitehead", characterized by a high percentage of empty spikelets (Pantoja et al., 2007;
51 Martins et al., 2009; Oliveira et al., 2010; SOSBAI, 2014). A reduction of 1.2% is described
52 in grain production with 1 bug/m² in rice crops (SOSBAI 2014). Technical
53 recommendations for SSB monitoring recommend to count them among the stems

54 (SOSBAI, 2014) and insecticides are the main control tool (Martins et al., 2009; SOSBAI,
55 2014). However, it is difficult to sample bugs, especially in irrigated areas. Moreover,
56 chemical control often does not kill adults and nymphs on stem base, principally in the rice
57 reproductive stages (Alves, 2012). In this scenario, the use of pheromones may be a suitable
58 option (Suckling et al., 2014), mainly for initial infestation detection, avoiding outbreaks or
59 for monitoring population fluctuation. *Tibraca limbaticornis* sex pheromone was
60 characterized by Borges et al. (2006), whom identified the zingiberenol [1*RS*, 4*RS*, 1*S*] -4-
61 (1', 5'-dimethylhex-4-enyl) -1-methylcyclohex-2-en-1-ol], composed by three chiral centers
62 (positions 1', 1 and 4) with eight isomers, i.e. four pairs of diastereomers. Non-selective
63 synthesis of these compounds yielded two groups of isomers: 1'*R* zingiberenol, consisting of
64 stereoisomers (1*RS*, 4*RS*, 1'*R*) -4- (1 ', 5'-dimethilex-4'-enyl) -1-methylcyclohex-2-en-1-ol,
65 and 1'*S* zingiberenol, formed by stereoisomers (1*RS*, 4*RS*, 1'*S*)-4-(1',5'-dimethylhex-4'-enyl)-
66 1-methylcyclohex-2-en-1-ol. The authors performed olfactometer bioassays with synthetic
67 isomers on filter paper and observed that both compounds were attractive to females;
68 however, there was a greater response to 1'*S* zingiberenol. Thus, this study aimed to evaluate
69 *T. limbaticornis* responses to synthetic sex pheromone baited in rubber, over time, in
70 laboratory and field tests and to register the number of bugs caught in two types of traps in
71 rice crops.

72 Materials and Methods

73 Stem bugs from irrigated rice fields in Eldorado do Sul (30°02'28.4"S 51°20'29.3"W), RS,
74 Brazil were collected and kept in a climate-controlled room (25 ± 1 °C; $60 \pm 10\%$ RH and
75 L16:D8 photoperiod). Adults were placed in a wooden framed cage (100 cm x 50 cm x 50
76 cm) covered with voile with rice plants (IRGA-417). Bugs in similar instars were bred in
77 Gerbox-type boxes (11 cm x 11 cm x 3 cm) and received green beans (*Phaseolus vulgaris*
78 L.), peanuts (*Arachis hypogaea* L.) and privet fruits (*Ligustrum lucidum* Ait.) as food until

79 adult stage and then transferred to breeding cages. The pheromone was formulated in rubber
80 septa (Isca Technologies, Riverside, CA, USA), cleaned in hexane in a Soxhlet extractor
81 composed of a 1000 mL flask heated up to 40 °C. The septa underwent this process for four
82 hours; then, they were placed in a refractory glass and maintained in oven at 50 °C.
83 Afterwards, they were baited with 1 mg of each isomer (1'S zingiberenol or 1'R
84 zingiberenol) (1.5 mg / mL) or hexane (control) by soaking it in a round bottom flask (1000
85 mL) and kept in a rotary evaporator for two hours without heating. The septa were stored at
86 - 20 °C.

87 Virgin (isolated) and copulated (paired with conspecific males since the emergency, based
88 on Silva et al., 2004) female responses (15 days old) were evaluated in olfactometer
89 bioassays. Initially all insects were separated in Gerbox-type boxes and kept for 24 hours
90 without food. The behavior of *T. limbaticornis* females was observed in Y-tube
91 olfactometer , a double choice of glass with a 4 cm diameter, 17 cm initial arena, bifurcated
92 into two arms of 22 cm each. The angle between the two arms of the olfactometer was 30°,
93 and the angle between each arm and the main body was 165°. The tests were conducted in a
94 climatized room (25 ± 1 °C and $60 \pm 10\%$ RH) during the photoperiod under fluorescent
95 light (60W, luminance=290 lux) (Instrutemp ®). Air was conducted into the olfactometer at
96 0.8 L/min.

97 Before testing, insects were acclimated for 1 hour in the bioassay room. Females were
98 individually placed on the leading end of the olfactometer arena with a brush n° 10.
99 Responses were considered positive when insects walked, at least, 4 cm inside the
100 olfactometer arms and remained in this area for at least 1 minute. Insects that did not move
101 in the first 10 minutes or, at least, 4 cm in either arena arms within 15 minutes, were
102 considered non-responsive. The arena was horizontally reversed (rotated 180 °) in each three
103 repetitions and in six, olfactometer was washed with fragrance-free liquid soap, rinsed with

104 water followed by hexane and dried at 150°C. After this procedure, the septa were replaced.
105 We carried out, at least, 40 repetitions for each treatment.
106 These underwent the contrast between new septa baited with 1 mg of 1'R or 1'S zingiberenol
107 (1.5 mg/mL) with hexane (control). Unused septa baited with 1'S zingiberenol were later
108 exposed in the environment for 30 days (mean temperature and relative humidity of 25.5 °C
109 and 73.9%, respectively) (INMET, 2014). Five septa were individually packaged inside PET
110 bottle traps. Those traps were hung in the outer area in Porto Alegre (30 ° 04'10.8 "S 51 °
111 08'30.1" W), Brazil for seven, 14 , 21, and 30 days. The chemotactic behavior of *T.*
112 *limbativentris* females to pheromone septa (with and without environment exposure) was
113 contrasted with hexane (control), in the same conditions.
114 Field experiment was conducted in conventional rice farming (EPAGRI-108). The area
115 was, approximately, 5 hectares, located in Eldorado do Sul, RS, Brazil (30°02'28.4"S
116 51°20'29.3"W). The experiment began 20 days after sowing and ended seven days before
117 harvest. There was no pesticide application in the experimental area. Bioassays were
118 assessed weekly in the morning shift, from December 7th, 2012 to April 5th, 2013, with 18
119 sampling days.
120 The attraction of *T. limbativentris* was observed through pheromone-baited traps with rubber
121 septa containing 1 mg of each isomer (1'S zingiberenol or 1'R zingiberenol) (1.5 mg / mL) or
122 hexane (control). We used two prototypes of pheromone traps supplied by ISCA
123 Technologies (Brazil), made with "PET" bottles (polyethylene terephthalate) 2 L (Model 1)
124 or with Tupperware® plastic containers (Model 2). Model 1 (Figure 1A) was made as
125 suggested by Pires et al. (2006) by removing four disks of 2 cm diameter from "PET" bottle
126 sides, the bottom was cut and stuck on the same site using two pieces of wire. Funnels
127 made of galvanized aluminum mesh (0.5 mm) were glued in the inlet openings. A funnel
128 was inserted inside, just below the inlet openings in the upper part, at 9 cm from the top.

129 Rubber septum containing pheromone was suspended by a wire through the bottle cap.
130 Model 2 (Figure 1B) was made with Tupperware plastic container (14 cm/length and 12.5
131 cm/diameter) above a plastic base. The container lid was removed and a screened, plastic
132 funnel was inserted in its place. The septum was at the top of the trap in a screened plastic
133 cube-shaped compartment (5 cm/length and 3 cm/diameter).

134 The traps were distributed equally (45m spaced intervals) and treatments intercalated in the
135 experimental area, within 10 m border. They were hanging in wooden stake (1.60 m) being
136 always in contact with the top leaves. Every two weeks the septa were replaced and traps
137 rotated. Captured stem bugs were counted, identified and sexed. It was also estimated, at the
138 traps sampling, *T. limbativentris* occurrence in the area by using a sampling unit consisting
139 of PVC frame (1 m²), placed in 20 points randomly selected, totaling 216 points each with 1
140 m². Plants within the square were examined from top to bottom for five minutes in the
141 vegetative phase and for 10, in the reproductive. All living organisms belonging to the
142 species *T. limbativentris* (nymphs, males and females) were counted and released in the
143 field. The bioassay was performed with six treatments (2 traps x 3 septa) with five
144 repetitions.

145 A heterogeneity χ^2 test was used in olfactometer bioassays. The correlation between the
146 number of insects collected in traps and samples was estimated with Spearman correlation,
147 by using Bioestat® 5.0 software with 95% of reliability.

148 **Results and Discussion**

149 Virgin and copulated females, in laboratory bioassays, were significantly more attracted to
150 1'S zingiberenol, compared to control ($\chi^2 = 10.02$; df = 1; P = 0.0015 and $\chi^2 = 6.881$; df = 1;
151 P = 0.0087, respectively). However, no differences were found in chemotactic responses
152 when the contrast was between 1'R zingiberenol and hexane or between isomers (P > 0.05)
153 (Figure 2).

154 Unlike what was observed in other insect species (Zhang et al., 2009; Barrozo et al., 2010;
155 Soques et al., 2010; Reyes et al., 2015), the mating status did not have influence in SSB
156 responses to sexual pheromone. It is probably due to the fact that, different from the cited
157 works, in *T. limbativentris* females respond to male sex pheromone, since it is a polyandrous
158 species (Prando et al., 1993; Botton et al., 1996; Silva et al., 2004) is consistent to assume
159 that even after mating females remain perceptive to male pheromone throughout their
160 reproductive phase, allowing a greater number of encounters among couples and thereby
161 increasing genetic variability and biotic species potential.

162 In a similar bioassay, Borges et al. (2006) also found that females of *T. limbativentris* did
163 not differentiate between 1'S and 1'R zingiberenol impregnated on filter paper (10 µL, 0.1
164 mg/mL), indicating that one of the diastereoisomers is present in the SSB male sex
165 pheromone. The absolute configuration of the insect-produced pheromonal components
166 remains to be elucidated, but the 1'S stereochemistry was established for at least one of the
167 isomers (Borges et al., 2006). Thus, it is likely that at least one of the diastereoisomers
168 present in 1'R zingiberenol, is present in the pheromone produced by males, which could
169 explain why females were attracted to 1'S-zingiberenol compared to the control, but do not
170 show preference between 1'R and 1'S zingiberenol.

171 It was observed in *Acrosternum hilare* (Say) and *Nezara viridula* L. (Hemiptera:
172 Pentatomidae) that both isomers in the pheromone (*E* and *Z*-epoxy-bisabolene) are attractive
173 to conspecific females, however the response to the racemic mixture were significantly
174 higher compared to isolated substances (Brézot et al. (1994; McBrien et al. 2001)).
175 According to Brézot et al. (1994), pheromones are usually comprised of compounds
176 mixtures with different concentrations, when it is tested individually, may not be perceived
177 or have low attractiveness. Thus, it is assumed that the lack of response from insects to 1'R
178 zingiberenol, in contrast to the control, was due to the low isomer potential attractiveness

179 when exposed alone. However, when both isomers were tested in combination there was a
180 unique racemic pheromone plume. It was enough to promote females chemotactic behavior
181 into the olfactometer, but they were not able to distinguish isomers present in each arm,
182 resulting in no significant response.

183 *Tibraca limbativentris* laboratory responses to septa (1'S zingiberenol) showed significantly
184 responses only to new ones ($\chi^2 = 10.02$, df = 1, P = 0.0015) or those exposed for up to 7
185 days ($\chi^2 = 4.22$, df = 1; P = 0.0398), compared to control (Figure 3).

186 Zingiberenol degradation and/or high release taxes in the first exposure week may have
187 influenced the chemical perception of *T. limbativentris*. Molecule isomeric integrity is
188 important to trigger behavioral insect repertoire (Tumlinson, 1988). In addition, Witzgall et
189 al. (2010), reported that slight contamination or molecules changes have a directly impact to
190 insect attractiveness.

191 In field trials, a total of 13 *T. limbativentris* females were collected in pheromone PET traps,
192 while in the Tupperware type, there were no reports of SSB. In the control traps was found
193 three females. No other species beyond *T. limbativentris* was captured. The sampling area
194 (216 points each with 1 m²) was also observed among heteropteran, only 22 *T.*
195 *limbativentris* adults (13 females and nine males), resulting a density of 0.06 females/m². It
196 was observed a positive correlation between the number of females collected in traps and
197 population density (rs = 0.96; P < 0.0001).

198 Although no *T. limbativentris* was captured in Tupperware traps, similar tool caught others
199 Pentatomidae species as *Oebalus pugnax* (F), in rice crops (Rashid et al., 2006); *Nezara*
200 spp., *Acrosternum* spp. and *Euschistus* spp in peanut and cotton crops (Tillman et al., 2010);
201 *Halyomorpha halys* (Stål) in soybean (Nielsen et al., 2011) and *Euschistus quadrator*
202 Rolston, *Euschistus servus* Say, *Euschistus obscurus* (Palisot de Beauvois), *Thyanta*
203 *custator* (F.), *Proxies punctulatus* (Palisot de Beauvois) and *Podisus maculiventris* Say,

204 mulberry plants (Brennan et al., 2013). Characteristics of traps along with the stink bugs
205 habits might be responsible for this result. Millar et al. (2002) reported that pentatomids
206 escape from traps is common. It is possible that the trap plastic funnel in the Tupperware
207 bottom have promoted some sort of physical barrier or even allowed the escape from those
208 who had entered. Thus, further studies should be conducted to investigate these hypotheses.

209 PET bottle traps resulted in succeeded captures of stink bugs species *Euschistus heros* Fabr.,
210 *Thyanta perditor* (Westwood), *Piezodorus guildinii* (Westwood), *N. viridula*, *Acrosternum*
211 *aseadum* (Rolston) and *Edessa meditabunda* (Fabricius) in soybean (Borges et al., 1998).

212 Pires et al. (2006) tested four different models made from PET bottles (baited with *E. heros*
213 sex pheromone), the one that captured more stink bugs is similar to the Model 1, however
214 insects entry holes were in the middle region of the bottle, and not in the upper portion, as
215 used in this study.

216 Subsequently, Borges et al. (2011) evaluated the same trap and found approximately seven
217 females of *E. heros*/trap, while 1.5 *E. heros/m²* was observed by shaken foliage plants over a
218 1m² white cloth. Model 1 type also caught, in an average, 10 *T. perditor* females (Laumann
219 et al., 2011), as well as, two adults of *E. heros* (Silva et al., 2014). The efficiency of this
220 trap model might be attributed to the inverted funnel position into the wall trap, increasing
221 chances of entry and decreasing escape.

222 We observed 0.86 female/trap, this number is low compared with the previously described
223 results. However, if we consider that the density of *T. limbaticornis* in the field was only
224 0.06 females/m² over the period of sampling and also that there was a positive correlation
225 between sampled and captured population, the results obtained with trap Model 1 is
226 relevant.

227 Among the collected females we found, over eighteen monitoring weeks, seven in traps with
228 1'S zingiberenol, four in 1'R zingiberenol and two in control (Figure 4). Due to the small

229 number of captured insects, it was not possible to make a reliable statistical analysis.
230 However, in both field and laboratory bioassays, 1'S zingiberenol seem to be more effective
231 in the females attractiveness compared to 1'R zingiberenol. The results obtained with 1'R
232 zingiberenol reinforce the hypothesis previously discussed that, at least, one of
233 diastereoisomers may be part of the sex pheromone produced by the males.

234 Captures in traps containing just control had already been observed by other authors. Borges
235 et al. (1998) captured, on average, two *E. heros* females in control. Similar results were
236 observed by Pires et al. (2006), who caught around 19 adult stink bugs from different
237 species in soybean crops and by Laumann et al. (2011), in bioassays with the sex pheromone
238 of *T. perditor* (1 bug/trap control) in the same culture. Attraction of pentatomids for traps
239 not baited can be associated with physical characteristics, such as the shape and the
240 brightness reflected by the plastic (Pires et al., 2006).

241 This is the first study that investigates SSB pheromone in the field. The results indicate that
242 PET traps (Model 1) and isomer 1'S zingiberenol formulated into rubber septa have potential
243 for monitoring *T. limbativentris* in rice crops. However, it is important to know if it is
244 possible to improve catches by using racemic mixture or, on the other hand, pairs of
245 diastereoisomers. After that, it is still necessary to evaluate a better formulation, SSB trap
246 escape, as well as, the number, position and distance of traps in rice growing areas.
247 Researches in this area might provide better sustainable pest management in agricultural
248 systems.

249 **Conclusions**

250 1. *Tibraca limbativentris* females are significantly more attracted to the isomer 1'S
251 zingiberenol compared to hexane, in laboratory.
252 2 There is no significant difference in the attractiveness of *T. limbativentris* females, in
253 olfactometer, to 1'R and 1'S zingiberenol.

- 254 3. The septa exposed in field remain attractive to *T. limbativentris* females, in olfactometer,
255 for up to seven days of exposure.
- 256 4. Only PET trap model captures steam stink bugs.

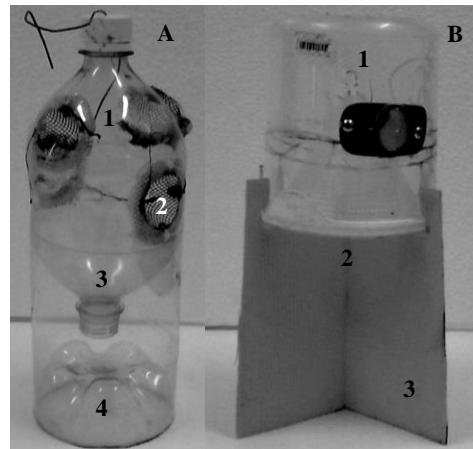
257 **References**

- 258 ALVES, T. M. Distribuição espacial do percevejo-do-colmo (*Tibraca limbativentris* Stal)
259 em arroz irrigado. 2012. 55p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás,
260 Goiânia.
- 261 BARROZO, R. B; GADENNE, C; ANTON, S. Switching attraction to inhibition: mating-
262 induced reversed role of sex pheromone in an insect. **The Journal of Experimental
263 Biology**, v.213, p. 2933-2939, 2010.
- 264 BORGES, M; SCHMIDT, F. G. V; SUJII, E. R; MEDEIROS, M. A; MORI, K; ZARBIN,
265 P. H. G; FERREIRA, J. T. B. Field responses of stink bugs to the natural and synthetic
266 pheromone of the Neotropical brown stink bug, *Euschistus heros* (Heteroptera :
267 Pentatomidae). **Physiological Entomology**, v.23, p.202-207, 1998.
- 268 BORGES, M; BIRKETT, M; ALDRICH, J. R; OLIVER, J. E; CHIBA, M; MURATA, Y;
269 LAUMANN, R. A; BARRIGOSSI, J. A; PICKETT, J. A; MORAES, M. C. B. Sex
270 attractant pheromone from the rice stalk stink bug, *Tibraca limbativentris* Stal. **Journal of
271 Chemical Ecology**, v.32, p.2749-2761, 2006.
- 272 BORGES, M; MORAES, M. C. B; PEIXOTO, M. F; PIRES, C. S. S; SUJII, E. R;
273 LAUMANN, R. A. Monitoring the Neotropical brown stink bug *Euschistus heros* (F.)
274 (Hemiptera: Pentatomidae) with pheromone-baited traps in soybean fields. **Journal of
275 Applied Entomology**, v.135, p.68–80, 2011.
- 276 BOTTON, M; MARTINS, J. F. S; LOECK, A. E; ROSENTHAL, M. d`À. Biology of
277 *Tibraca limbativentris* Stal, 1860 on rice plants. **Anais da Sociedade Entomológica do
278 Brasil**, v.25, p.21-26, 1996.

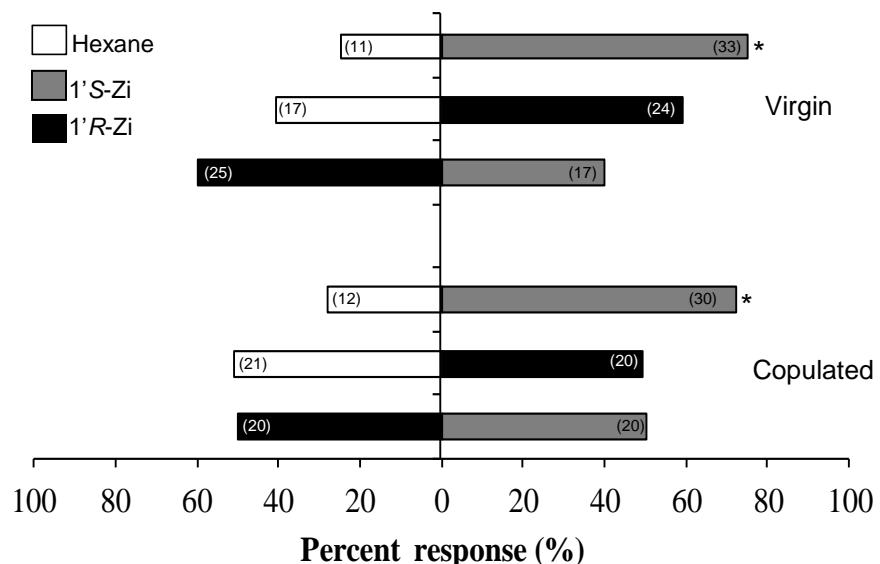
- 279 BRENNAN, S. A; LIBURD, O. E; EGER, J. E; RHODES, E. M. Species composition,
280 monitoring, and feeding injury of stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae) in Blackberry.
281 **Journal of Economic Entomology**, v.106, p.912-923. 2013.
- 282 BREZOT, P; MALOSSE, C; MORI, K; RENOU, M. Bisabolene epoxides in sex pheromone
283 of *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae). Role of *cis* isomer and relation to
284 specificity of pheromone. **Journal of Chemical Ecology**, v.20, p.3133–3147, 1994.
- 285 INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. INMET. 2014. **Dados históricos de**
286 **meteorologia** do RS. Disponível em:
287 <http://www.inmet.gov.br/projetos/rede/pesquisa/inicio.php>. Acesso em: 25 Mar. 2014.
- 288 LAUMANN, R. A; MORAES, M. C. B; KHRIMIAN, A; BORGES, M. Field capture of
289 *Thyanta perditor* with pheromone-baited traps. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46,
290 p.113-119, 2011.
- 291 MARTINS, J. F. S. da; BARRIGOSSI, J. A. F; OLIVEIRA, J. V. de; CUNHA, U. S. da.
292 **Situação do manejo integrado de insetos-praga na cultura do arroz no Brasil**. Pelotas,
293 Embrapa Clima Temperado, 2009, 40p. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 290).
- 294 MCBRIEN, H. L; MILLAR, J. G; GOTTLIEB, L; CHEN, X; RICE, R. E. Male produced
295 sex attractant pheromone of the green stink bug, *Acrosternum hilare* (Say). **Journal of**
296 **Chemical Ecology**, v.27, p.1821–1839. 2001.
- 297 MILLAR, J. G; MCBRIEN, H. L; HO, H. Y; RICE, R.E; CULLEN, E; ZALOM, F.G;
298 UOKL, A. Pentatomid bug pheromone in IPM: possible applications and limitations. **IOBC**
299 **WPRS Bulletin**, v.25, p.1-11, 2002.
- 300 NIELSEN, A. L; HAMILTON, G. C; SHEARER, P. W. Seasonal phenology and
301 monitoring of the non-native *Halyomorpha halys* (Hemiptera: Pentatomidae) in Soybean.
302 **Environmental Entomology**, v.40, p.231–238, 2011.

- 303 OLIVEIRA, J. V; FREITAS, T. F. S. de; FIUZA, L. M; MENEZES, V. G; DOTTO, G.
- 304 **Manejo de insetos associados à cultura do arroz irrigado.** Cachoeirinha: IRGA/ Estação
305 Experimental. Seção de Agronomia, 2010. 54p.
- 306 PANTOJA, A; TRIANA1, M; BASTIDAS, H; GARCIA, C; MEJIA, O. I; DUQUE, M. C.
- 307 Damage by *Tibraca limbativentris* (Hemiptera: Pentatomidae) to rice in Southwestern
308 Colombia. **Journal of Entomological Science**, v.91, p.11-18, 2007.
- 309 PIRES, C. S. S; SUJII, E. R; SCHMIDT, F. G.V; ZARBIN, P. H. G; ALMEIDA, J. R. M.
- 310 DE; BORGES, M. Potencial de uso de armadilhas iscadas com o feromônio sexual do
311 percevejo marrom, *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae), para o monitoramento
312 populacional de percevejos praga da soja. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecología**,
313 v.77, p.70-77, 2006.
- 314 PRANDO, H. F; KALVELAGE, H; FERREIRA, R. A. Ciclo de vida de *Tibraca*
315 *limbativentris* (Hemíptera: Pentatomidae) em condições de laboratório. **Revista Brasileira**
316 **de Entomologia**, v.37, p.335-339, 1993.
- 317 RASHID, T; JOHNSON, D. T; BERNHARDT, J. L. Sampling Rice Stink Bug (Hemiptera:
318 Pentatomidae) in and Around Rice Fields. **Environmental Entomology**, v.35, p.102-111.
319 2006.
- 320 REYES, H; ARZUFFI, R; ROBLEDO, N. Effects of male age and mating status on
321 response to the female sex pheromone of *Copitarsia decolora* (Lepidoptera: Noctuidae).
- 322 **Florida Entomologist**, v.98, p.47-51, 2015.
- 323 SILVA, C. C. A; CORDEIRO, D. M; LAUMANN, R; MORAES, M. C. B; BARRIGOSI,
324 J. A; BORGES, M. **Ciclo de vida e metodologia de criação de *Tibraca limbativentris* Stal,**
325 **1860 (Heteroptera: Pentatomidae) para estudos de ecologia química.** Brasília, Embrapa
326 Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2004. 16p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento).

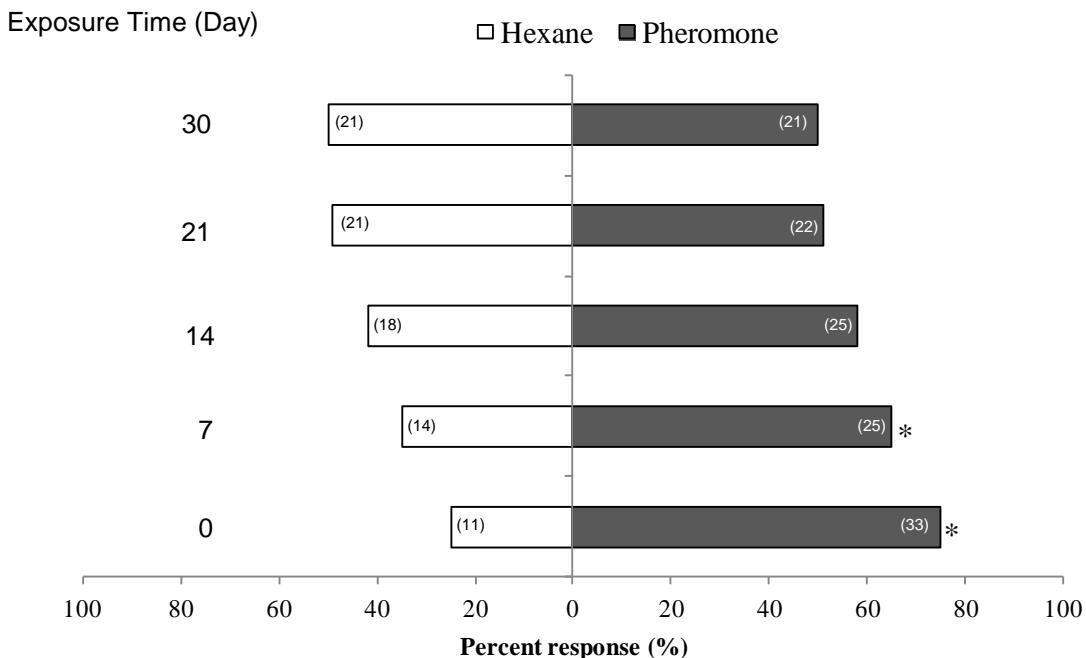
- 327 SILVA, V. P. DA; PEREIRA, M. J. B; VIVAN, L. M; BLASSIOLI-MORAES, M. C;
328 LAUMANN, R. A; BORGES, M. Monitoramento do percevejo marrom *Euschistus heros*
329 (Hemiptera: Pentatomidae) por feromônio sexual em lavoura de soja. **Pesquisa**
330 **Agropecuária Brasileira**, v.49, p.844-852, 2014.
- 331 SOQUES, S; VAZQUEZ, G. M; GROZINGER, C. M; GOULD, F. Age and mating status
332 do not affect transcript levels of odorant receptor genes in male antennae of *Heliothis*
333 *virescens* and *Heliothis subflexa*. **Journal of Chemical Ecology**, v.36, p.1226-1233, 2010.
- 334 SOSBAI. **Arroz irrigado**: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil .
335 Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado. Bento Gonçalves, RS: SOSBAI, 2014. 192p.
- 336 SUCKLING, D. M; STRINGER, L. D; STEPHENS, A. E. A; WOODS, B; WILLIAMS, D.
337 G; BAKER, G; EL-SAYED, A. M. From integrated pest management to integrated pest
338 eradication: technologies and future needs. **Pest Management Science**, v.70, p.179–189,
339 2014.
- 340 TILLMAN, P. G; ALDRICH, J. R; KHRIMIAN, A; COTTRELL, T. E. Pheromone
341 Attraction and Cross-Attraction of *Nezara*, *Acrosternum*, and *Euschistus* spp. Stink Bugs
342 (Heteroptera: Pentatomidae) in the Field. **Environmental Entomology**, v.39, p.610-617,
343 2010.
- 344 TUMLINSON, H. J. Contemporary Frontiers in Insect Semiochemical Research. **Journal of**
345 **Chemical Ecology**, v.14, p.2109-2130, 1988.
- 346 WITZGALL, P; KIRSCH, P; CORK, A. Sex Pheromones and Their Impact on Pest
347 Management. **Journal of Chemical Ecology**, v.36, p.80–100, 2010.
- 348 ZHANG, Z. C; WANG, M. Q; ZHANG, G. Molecular cloning and expression of
349 pheromone- binding protein1 from the diamondback moth, **Plutella xylostella**.
350 **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.133, p.136-145, 2009.



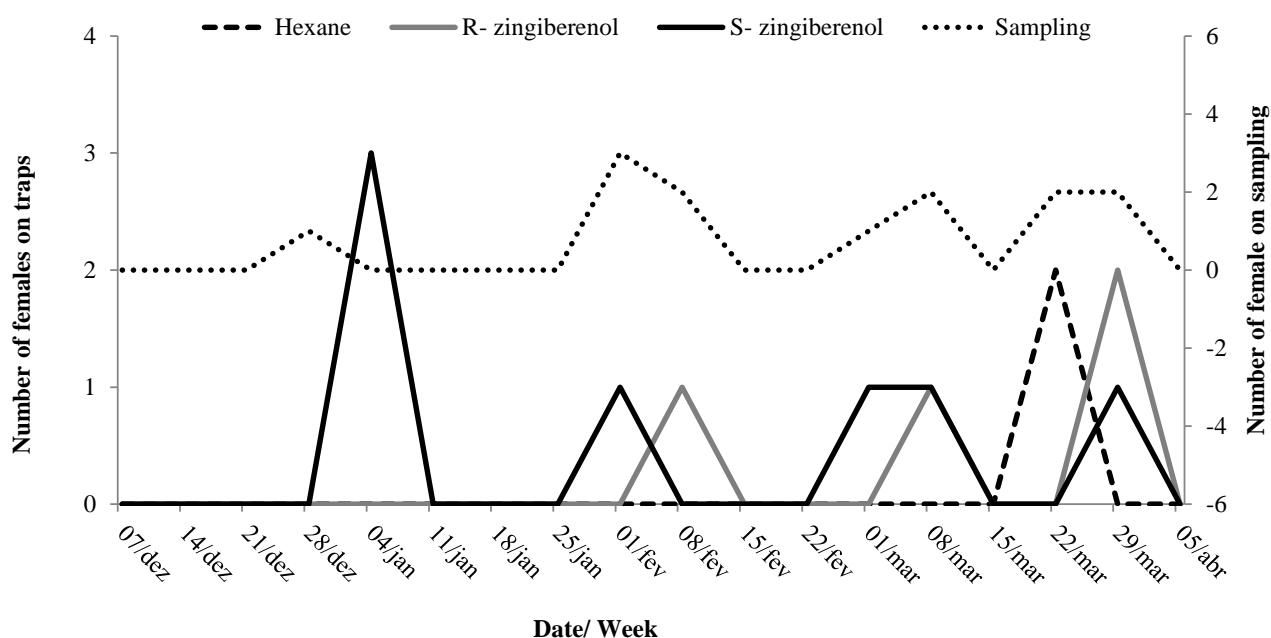
351 **Figure 1.** Pheromone traps. (A) PET trap (Model 1). (1) wire with septum; (2) inlet
 352 opening; (3) funnel inside; (4) removable trap bottom. (B) Tupperware trap (Model 2). (1)
 353 Tupperware plastic container; (2) inlet opening; (3) plastic base. Traps provided by ISCA
 354 Technologies (Brazil).



355 **Figure 2.** Response (% of tested insects) of virgins and copulated female of *Tibraca*
 356 *limbativentris* to new septa baited with 1'S zingiberenol (1'S-Zi), 1'R zingiberenol (1'R-Zi)
 357 and hexane in Y-tube olfactometer . *Significantly different according to a χ^2 test ($P < 0.05$).
 358 Numbers in brackets represent the number of responsive insects.



359 **Figure 3.** Response (% of tested insects) of female of *Tibraca limbativentris* to septa baited
 360 with 1'S zingiberenol and hexane exposed in the environment for up to 30 days in Y-tube
 361 olfactometer . *Significantly different according to a χ^2 test ($P < 0.05$). Numbers in brackets
 362 represent the number of responsive insects.



363 **Figure 4.** Number of *Tibraca limbativentris* females captured in PET traps (Model 1) baited
 364 with *S*- zingiberenol, *R*- zingiberenol and hexane ($N = 13$) and number of *Tibraca*
 365 *limbativentris*/ m^2 (females) observed during the weekly sampling ($N = 13$) in rice fields in
 366 Eldorado do Sul - RS, during the 2012/2013 harvest.

1 **4 SEGUNDO ARTIGO: Short-range cues mediate *Telenomus podisi* (Hymenoptera:
2 **Platygastridae) searching behaviour and parasitism on rice: the role of feeding-**
3 **induced plant synomones³****

5 **Short-range cues mediate *Telenomus podisi* (Hymenoptera:
6 **Platygastridae) searching behaviour and parasitism on rice: the role of
7 feeding-induced plant synomones****

8 Rita de Cássia de Melo Machado¹

9 Josué Sant'Ana¹ *

10 ¹ Departamento de Fitossanidade, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio
11 Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

12 * Correspondence: Sant'Ana, J., Laboratório de Etiologia e Ecologia Química de Insetos,
13 Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Departamento de
14 Fitossanidade. Av. Bento Gonçalves, 7712, Bairro Agronomia, Porto Alegre, RS, Brazil,
15 CEP 91540-000, Telephone: +55 51 3308-7414, e-mail: josue.santana@ufrgs.br.

³ Artigo elaborado segundo as normas da revista Bulletin of Entomological Research

20
21 **Short-range cues mediate *Telenomus podisi* (Hymenoptera:
22 *Platygastridae*) searching behaviour and parasitism on rice: the role of
23 feeding-induced plant synomones**

24
25 **Abstract**

26 **Abstract**

27 *Telenomus podisi* (Ashmead) (Hymenoptera: Platygastridae) is solitary egg parasitoids of an
28 important rice pest, *Tibraca limbativentris* Stal. (Hemiptera: Pentatomidae). Its host-locating
29 is usually associated to Herbivore-Induced Plant Volatiles (HIPVs). This study aimed to
30 evaluate the chemotactic activity and parasitism of *T. podisi* in the presence of synthetic
31 HIPVs (individual and in mixtures) identified in rice plants. Mated females chemotactic
32 responses (Y-tube olfactometer) to synthetic HIPVs, rice plants (damage or undamaged), as
33 well as hexane (control), were assessed. Furthermore, we observed parasitism success in
34 eggs with and without HIPVs presence. Females were attracted to the mixture containing all
35 tested compounds, also showed positive responses to (*E*) -2-hexenal, (*E*)-2-octen-1-ol,
36 geranylacetone and methyl salicylate, isolated and mixed. *Telenomus podisi* preferred plants
37 damaged by *T. limbativentris* over any standard compound (single or in combination),
38 however displayed no preference when undamaged rice plants and synthetic HIPVs were
39 offered simultaneously. HIPVs did not enhance *T. podisi* parasitism. A better understanding
40 of how the synonymous mediate the communication between the rice plants and *T. podisi*
41 can help establish strategies to parasitoid release and/or maintenance in agroecosystems.

42 **Keywords:** HIPVs; *Tibraca limbativentris*; *Telenomus podisi*; semiochemical; synomone;
43 parasitism.

44

45 **Introduction**

46 Plants developed adaptations to environmental adversities over evolutionary process,
47 resulting in mechanisms of constitutive and/or induced defences (Karban & Baldwin, 1997).

44 The constitutive, are chemical and/or physical barriers that plants have even without being
45 exposed to herbivores, while induced is usually mediated by “Herbivore-Induced Plant
46 Volatiles” (HIPVs) that act as synomones attracting parasitoids and predators (Karban &
47 Baldwin, 1997), inducing changes on the plants chemistry, both locally and systemically
48 (Dicke & Baldwin, 2010). Most of these synomones are GLVs (Green Leaf Volatiles) and
49 terpenoids (Halitschke et al, 2008; Arimura et al., 2009).

50 Several studies showed that parasitoids use plant volatiles induced by assault of chewing
51 arthropods to locate their hosts (Turlings et al., 1990; 1998; De Moraes et al 1998; Dicke &
52 Van Loom, 2000; Hoballah & Turlings 2001; Kessler & Baldwin 2001; Dicke & Baldwin,
53 2010; Gols et al 2011) or by plant piercing-sucking insects. Herbivore damage of *Nezara*
54 *viridula* L. (Hemiptera: Pentatomidae) in leguminous plants (*V. faba* and *P. vulgaris*), as
55 well as its eggs masses in leaves, emitted larger amounts of linalool, (*E*)- β -caryophyllene,
56 (*3E, 7E*)-4,8,12 trimetitridecal 1,3,7,11-tetraene, and (*3E*)-4,8-1,3,7-triene-dimetilnona,
57 compared to plants without damage or eggs (Colazza et al., 2004a). In addition, it was found
58 that females of *T. basalis* are more attracted to extracts containing (*E*)- β -caryophyllene
59 (Colazza et al., 2004b). Moraes et al. (2005) showed that volatile induced by *Euschistus*
60 *heros* Fabr. (Hemiptera: Pentatomidae) in soybean plants cv. Conquista (*Glycine max* L.)
61 and pigeon pea (*Cajanus cajan* L) attract *T. podisi*. Similar results were also obtained with
62 soybean variety BR-16. It was observed that two compounds, methyl salicylate and (*3E, 7E*)
63 -4,8,12-trimethyl-1,3,7,11 tridecatetraene known to act in plants protection, were released in
64 greater amounts when the plant suffered injury due to herbivory and oviposition of the same
65 stink bug (Moraes et al. 2008). Positive *T. podisi* chemotaxis was also observed after the
66 addition of *cis*-jasmone in soybean plants (Moraes et al., 2009). Michereff et al. (2011)
67 registered higher amounts of (*E, E*)- α -farnesene, methyl salicylate, (*Z*)-3-hexenyl acetate

68 and (*E*)-2-octen-1-ol in a bitrophic interaction (soybean plants x *E. heros*), being all volatiles
69 attractive to *T. podisi*.

70 Not much is known about HIPVs interaction between true bugs, rice plants and eggs
71 parasitoids. A recent paper revealed higher amount of HIPVs released after *T. limbativentris*
72 feeding in rice plants over those unfed, i.e., (*E*)-2-hexenal, 6-methyl-5-hepten-2-one,
73 octanal, (*E*)-2-octen-1-ol (*E, E*)-3,5-octadien-2-one, linalool, nonanal, methyl salicylate,
74 decanal, benzothiazol, β -cubebeno, geranylacetone, α -curcumene, α -zingebereno, α -
75 muuroleno, β -bisabolene and β -sesquifelandreno (Machado et al., 2014). Furthermore, the
76 authors observed that females of *T. podisi* are more attracted to extracts of piercing-sucking
77 plants *T. limbativentris* compared with those not damage.

78 Although many HIPVs are attractive to natural enemies, its action may not result in
79 predation or parasitism increases (Peñaflor & Bento, 2013). The synthetic compound (*E*)-2-
80 hexenal (found in secretions of gland metathoracic of *E. heros*) was attractive and recruited
81 Telenominae species in soybean, however it did not increased parasitism in the sample area.
82 Simpson et al. (2011) also observed that HIPVs can enhance recruitment of natural enemies
83 and buckwheat was a suitable resource subsidy plant for increasing abundance and
84 residency. Nevertheless, they found evidences of biological control in treated areas, with
85 fewer larvae of *Helicoverpa* spp. on sweetcorn plants from plots with reward and
86 significantly less insect damage was evident to cobs for one of the HIPV treatments.

87 The use of semiochemicals to manipulate natural enemies foraging behaviour is promising.
88 However, more studies are needed to better understanding these chemical and behavioural
89 interactions. Thus, the aim of this study was to evaluate the chemotactic activity and
90 parasitism of *T. podisi* mediated by synthetic HIPVs (individual and in mixtures) identified
91 in rice plants.

92 **Material and methods**

93 *Insect cultures*

94 *Podisus maculiventris* (Say) (Hemiptera: Pentatomidae) eggs, with and without *T. podisi*,
95 were provided by Entomology Laboratory at North Carolina State University (Raleigh, NC,
96 USA). *Tenebrio* sp. (Coleoptera: Tenebrionidae) larvae were given as food supply with
97 water. *Euschistus heros* was obtained from EMBRAPA (Genetic Resources and
98 Biotechnology) (Brasília, DF, Brazil) and fed with raw peanuts seeds [*Arachis hypogaea*
99 (L.)], soybeans [*Glycine max* (L.)], seed sunflower [*Helianthus annuus* (L.)], green bean
100 pods [*Phaseolus vulgaris* (L.)] and privet fruits (*Ligustrum lucidum* Ait.).

101 Postures were collected daily to colonies maintenance or parasitoids offering. After
102 emergence, *T. podisi* (males and females) remained for 24 hours together in glass tubes (7.5
103 x 1.3 cm) with eggs (< 24 h old) from *E. heros* or *P. maculiventris*, glued with double-sided
104 tape (Scotch®) on small pieces of cardboard (2 cm x 2 cm), feed with pure drop of honey.
105 Stink bugs and parasitoids, depending on the species, were kept under the same conditions
106 (*P. maculiventris*: 22 ± 1 °C, 65 ± 5% RH; 16 hours photophase; *E. heros*: 26 ± 1 °C, 65 ±
107 10% RH, 12 hours photophase).

108 *Rice Plant*

109 Rice (IRGA-417) seeds were cultivated in greenhouse on organic substrate (Plantmax
110 treated with NPK 5-20-20) in 500 mL plastic plots, covered with a voile, with daily
111 irrigation. We used plants 20 cm tall (28–30 days old - V8 stage) (SOSBAI, 2014).

112 *Bioassays with synthetic compounds*

113 *Telenomus podisi* were tested in a dual choice all-glass Y-tube olfactometer. An odor source
114 (or a respective control) was placed in each of the 10 cm long branches of the olfactometer,
115 which converged into a 20 cm long common arm. The glass tube had an overall diameter of
116 3 cm. The angle between the two arms of the olfactometer was 30°, and the angle between
117 each arm and the main body was 165°. Moistened, activated-charcoal-filtered air entered in

118 each Y-tube olfactometer arm carried into the system with a propellant connected to a
119 flowmeter (Volatile Assay Systems, Rensselaer, USA) at a rate of 0.6 L/min and the output
120 through a vacuum pump (Volatile Assay Systems, Rensselaer, USA) to 0.2 L/min, thus
121 forming a push-pull system as described by de Moraes et al. (2008). Mated females (48
122 days old) were used for the bioassays. Prior to each set of tests, parasitoids were allowed to
123 acclimatize for 1 h. Females were used only once and were not exposed to odor sources
124 prior to bioassay. Parasitoids were placed individually at the entrance of the common arm.
125 The tests were conducted in a room ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; $60 \pm 10\%$ RH) during the photoperiod
126 under fluorescent light (60W, luminance equal to 290 lux) (Instrutemp®).
127 An aliquot of the HIPVs (pure or mixed) or hexane (10 μL) was applied on pieces (1.5×1.2
128 cm) of filter paper (80g/m² grammature, 205 μm thick, 14 μm average pore Qualy J Lab
129 Pro). The first choice and residence time (seconds) were registered. Responses were
130 considered positive when insects moved, at least, 2 cm inside the olfactometer branches and
131 remained in this area for, at least, 1 min. The total time that parasitoids remained in this
132 area, during the 600 s, was recorded to calculate the residence time. Insects that not moved
133 or chose between branches in the first 5 min, were considered non-responsive.
134 The following HIPVs with respective purities and concentrations (ng/ μL) used, based on
135 Machado et al. (2014), were: (*E*)-2-hexenal (98%) (27.6), linalool (97%) (8.6), (*E*)-2-octen-
136 1-ol (97%) (35.7), nonanal (95%) (3.6), methyl salicylate ($\geq 99\%$) of (55.1) and
137 geranylacetone (98%) (1.6) Sigma Aldrich Company (Gillingham, Dorset, UK); octanal
138 (98%) (2.7), decanal (96%) (3.7) and 6-methyl-5-hepten-2-one (98%) (1.5), Alfa Aesar
139 (Ward Hill, MA, USA); β -sesquifelandreno (97%) (0.7) and α -curcumene (98%) (2.4), were
140 provided by Dr. Jocelyn Millar (UCLA-Riverside, USA); β -bisabolene (98%) (1.2) TCI
141 America (Portland, USA) and benzothiazole (97%) (0.3), Acros Organics's (New Jersey,
142 USA). Bioassays were performed with all synthetic compounds together, with only four of

143 them [(E)-2-hexenal (E)-2-octen-1-ol, methyl salicylate and geranylacetone] or each one
144 individually. All plant odours treatments were compared with hexane (control). We also
145 tested the parasitoids preference to blend with 13 or 4 HIPVs. The arena was horizontally
146 reversed (rotated 180 °) in each three repetitions and in six, olfactometer was washed with
147 fragrance-free liquid soap, rinsed with water followed by n-hexane and dried at 150 °C.
148 After this procedure, odors were replaced. We performed at least 40 replicates for each
149 contrast.

150 *Bioassays with synthetic compounds and rice plants*

151 The experimental protocol was similar to the previous item. However olfactometer was a Y-
152 tube glass with arms whose inner diameter was 1.4 cm and each branch arm was 19 cm
153 long. The angle between the two arms of the olfactometer was 30°, and the angle between
154 each arm and the main body was 165°. A glass jar (10 L) was connected to each
155 olfactometer arm. The wall of each jar contained an air inlet tube, which connected the air
156 pump to the jar, and an outlet tube, which connected the jar to the olfactometer arm with
157 plastic tubing (0.5 cm diameter). The outlet tubes were covered with gauze (0.3 mm mesh)
158 inside the jar wall to prevent insects from entering the tubes. Different odors source
159 treatments (plants or HIPV) were placed inside the jars. Treatments tested were: rice plants
160 without damage or previously submitted to herbivory (48 hours immediately prior testing)
161 of five *T. limbativentris* females, as suggested by Machado et al. (2014). We registered
162 chemotactic responses of *T. podisi* submitted to plants (with and without damage) and
163 compounds [(E)-2-hexenal (E)-2-octen-1-ol, methyl salicylate and geranylacetone] mixed or
164 alone. We performed, at least, 40 replicates for each test. The unresponsive insects were not
165 considered in the analysis.

166 *Parasitsm*

167 *Laboratory.* Parasitoids from *E. heros* remained together for up to 48 hours after emergence.
168 Three females (up to 2 days old) were placed on wooden cages (60 x 60 x 20 cm) with two
169 cardboard cards (1 x 1.5 cm) containing 10 unwhased eggs of *E. heros* (~ 1 day old) glued
170 with double-sided tape. The cards were fixed on a wooden stick 30 cm height, near to a filter
171 paper (1 cm²) containing 10 µL of HIPVs mixture[(*E*)-2-hexenal, (*E*)-2 -octen-1-ol, methyl
172 salicylate and geranylacetone] or the same volume of hexane (control). The same
173 experiment was conducted with washed eggs, which were previously immersed in hexane
174 for 5 minutes and dried naturally according Tognon et al. (2014). The experiments were
175 conducted in a room (25 ± 1 °C; 60 ± 10% RH; photophase 16 hours) and the exposition
176 time was three hours. We carried out 15 replicates for each test

177 *Semi field tests.* This second group of parasitism trials focused on testing *T. podisi*
178 attractiveness in an open area (20 ± 5 °C, 80 ± 15% RH) in Porto Alegre (30°05'27"S,
179 51°40'18"W), Brazil. The cage (90 × 90 × 200 cm) contained five rice plants, approximately
180 30 cm tall, grown on Plantmax® commercial substrate, fertilized with NPK 5-20-20, in
181 plastic pots of 500 mL and watered daily. They were placed in the corner and in the center
182 of the cage, 1.30 cm apart from each other. *Euschistus heros* eggs (n = 10, at most 24h old/
183 washed or unwashed) were glued on paper with double-sided tape to a wooden support 30
184 cm inside the pots, near a plant. Additionally, we placed a piece of filter paper (4 × 15 cm)
185 adjacent to eggs. In two of the rice plants we added 10 µL (on filter paper) of HIPVs
186 mixture [(*E*)-2-hexenal, (*E*)-2 -octen-1-ol, methyl salicylate and geranylacetone] or the same
187 volume of hexane (control), in the other two. We then released into the cage 30 mated
188 female *T. podisi* whose original host was *E. heros*, and left the eggs exposed to parasitism
189 for 24 h, as reported by Tognon et al. (2014), after which we removed the eggs and placed
190 them in glass tubes as above. Adult parasitoids emergence was checked daily. There were 15
191 replicates.

192 *Statistical analysis*

193 First choice in olfactometer and differences in the proportion of *T. podisi* females choosing a
194 particular odor source and parasitization rates were tested using χ^2 tests. Wilcoxon was
195 executed to test significant differences in parasitoid residence time. All analyses were
196 performed in Bioestat® 5.0 software ($\alpha = 0.05$) (Ayres et al., 2007).

197 **Results**

198 *Bioassays with synthetic compounds*

199 *Telenomus podisi* females were significantly more attracted to the mixture of 13 HIPVs
200 synthetic volatiles than control ($\chi^2 = 9.52$, df = 1, P = 0.0034). Furthermore, the residence
201 time was higher in HIPVs treatment (Z = 2.45; P = 0.014).

202 We observed a significantly higher chemotactic responses (first choice) to the following
203 compounds: (E)-2-hexenal ($\chi^2 = 7.04$, df = 1, P = 0.0125), (E)-2-octen-1-ol ($\chi^2 = 4.9$, df = 1,
204 P = 0.0398) and geranylacetone ($\chi^2 = 4.66$, df = 1, P = 0.0449) (Fig. 1). In addition, the
205 residence time was also higher to (E)-2-octen-1-ol (Z = 2.08, P = 0.037) and methyl
206 salicylate (Z = 2.24, P = 0.0247) (Fig. 2).

207 Parasitoids were also significantly more attracted to four blend synthetic compounds [(E)-2-
208 hexenal (E)-2-octen-1-ol, geranylacetone and methyl salicylate] compared to hexane in the
209 first choice ($\chi^2 = 9.52$, df = 1, P = 0.0034) and in residence time (Z = 2.55, P = 0.0106). No
210 significant choice response was observed between blends with 4 and 13 HIPVs compounds
211 (P > 0.05).

212 *Bioassays with synthetic compounds and rice plants*

213 *Telenomus podisi* were more attracted to odors from jars containing damaged rice plants
214 than to those containing synthetic compounds, (E)-2-hexenal (E)-2-octen-1-ol, methyl
215 salicylate and geranylacetone, alone and in combination (P < 0.05) (Fig. 3). Besides, the
216 residence time was higher in plants treatment (P < 0.05) (Fig. 4).

217 In the trial which we offered undamaged rice plants as an alternative to HIPVs [(E)-2-
218 hexenal (*E*)-2-octen-1-ol, methyl salicylate and geranylacetone] alone and together, no
219 significant differences were observed in first choice, as well as in residence time ($P > 0.05$).
220

220 *Parasitism*

221 There was no significant difference in parasitism rates when eggs (washed or not) were
222 exposed to synthetic volatile, both in laboratory and semi field bioassays ($P > 0.05$).
223

223 **Discussion**

224 It is known in other systems that plants defence can be activated by herbivory and/or
225 oviposition phytophagous insects, which trigger indirect defence used by natural enemies on
226 foraging behaviour (Dicke, 1994; Dicke & Van Loom, 2000; Colazza et al 2004a, b; Moraes
227 et al, 2005 Michereff et al, 2011; Machado et al, 2014). However, none of these studies had
228 observed the influence of synthetic HIPVs from rice plants over parasitoids chemotactic
229 behaviour. In this work it was found that *T. podisi* respond not only to less complex
230 mixtures of HIPVs, but also to compounds alone. This organism appears to be guided
231 through some key molecules, which would be enough to activate search behaviour.
232 Electroantennographic tests with the egg parasitoid *Closterocerus ruforum* (Krausse)
233 (Hymenoptera: Eulophidae) showed that it responds to a mixture containing seven
234 terpenoids identified in *Pinus sylvestris* L. Nevertheless, in behavioural tests, a mixture of
235 five was enough to stimulate positive taxis (Beyaert et al., 2010). Similar results were
236 observed with the predator *Stethorus punctum pictipes* (Casey) (Coleoptera: Coccinellidae),
237 that was attracted to mixture of only three HIPVs volatiles (*cis*-3-hexenyl acetate, *cis*-3-
238 hexen-1-ol and salicylate methyl) (Maeda et al., 2015).

239 The attractiveness of natural enemies to isolated compounds is not frequent. The most
240 common, as previously mentioned, is that a HIPVs mixture is required to induce search
241 behaviour (Mumm & Dicke, 2010; Peñaflor & Bento, 2013). Conversely it was already

242 observed by Michereff et al. (2013) in *T. podisi*, which was responsive to both (*E, E*)- α -
243 farnesene and methyl salicylate alone. These results corroborate partly this study, i.e., from
244 13 compounds evaluated substances, four [(*E*)-2-hexenal (*E*)-2-octen-1-ol, methyl salicylate,
245 and geranylacetone)] triggered positive response in *T. podisi*, both isolated and mixed.

246 According to Laumann et al. (2009) *T. podisi* was also responsive (first choice and residence
247 time) to (*E*)-2-hexanal at 0.01 mg/mL. In Brazilian field soybean crops experiments, *T.*
248 *podisi* population increased in areas treated with septa containing only 1 mg or 2.5 mg with
249 the same aldehyde (Vieira et al., 2014).

250 The (*E*)-2-octen-1-ol was also reported as a defensive substance in soybean plants damaged
251 by *E. heros* (Michereff et al., 2011). Contrary to what was observed in this study, females
252 showed no preference at first choice or residence time to this volatile (Michereff et al.,
253 2013). Concentrations tested by the authors (12,820; 1,282; 128.2; 12,82; 1,282 ng/ μ L)
254 differ from that used in our bioassays (35.7 ng/ μ L), so we assumed that it might justify
255 differences in the parasitoid pattern response.

256 Positive data to methyl salicylate could be related to its importance in defence plant
257 mechanisms against herbivory (Peñaflor & Bento, 2013). Lucerne plants (Blackmer et al.,
258 2004) and leguminous plants (Frati et al., 2009), for example, released a larger amount of
259 methyl salicylate after damage by *Lygus hesperus* Knight (Hemiptera: Miridae). Soybean
260 plants damaged by *E. heros* also produce significantly larger quantities of this compound
261 (Michereff et al., 2011). The behavioural responses of *T. podisi* females exposed to methyl
262 salicylate observed in this study were similar to those observed by Michereff et al. (2013)
263 which showed that females spent more time in the olfactometer arm that contained this
264 smell.

265 Although the compounds in question may have influenced directly on parasitoids search
266 behaviour when compared to hexane, none was attractive when tested with plants suffered

267 herbivory. It is likely that the type, proportion and/or the synergistic effect of volatiles
268 released by plants is the better explanation for these data. The complexity of volatiles
269 released by natural host is much greater than the mixture tested (four components). Thus, the
270 chemical perception and insect behaviour can also be altered when exposed to these odours.
271 Heil (2004) and Hilker & Meiners (2006) reported that qualitative and/or quantitative
272 changes of volatile can change predators and parasitoids chemotactic taxes. When we
273 compared synthetic compounds (alone or in combination) with no damage plants there was
274 no significant difference in parasitoids responses. This fact emphasizes the importance of
275 elicitors contained in the saliva in HIPVs release, resulting in the arrestment of wasps
276 (Hunter, 2002; Colazza et al., 2004a,b; Dicke, 2009).
277 The positive perception of *T. podisi* to the four HIPVs mixture did not result in higher
278 parasitism. When parasitoids were exposed to postures with or without plant volatile, the
279 parasitism rate was statistically similar. This result could be associated with kairomones
280 from eggs, since these compounds may influence *T. podisi* search behaviour and parasitism
281 (Tognon et al., 2014). So, we exposed also washed eggs, however, there was also no
282 difference in the parasitism success.
283 Similar data were obtained by Vieira et al (2014) in field experiments, whom did not notated
284 parasitism increment rates on soybean stink bugs eggs from areas treated with (*E*)-2-
285 hexanal, nevertheless, the authors reported an increase in *T. podisi* population in sticky cards
286 near to this aldehyde, compared to control areas. Moreover, Michereff et al. (2015) observed
287 in field experiments that soybean varieties resistant to *E. heros* not only attract, but increase
288 the parasitism of natural enemies (Platygastridae) over varieties susceptible to this
289 herbivore. As pointed out by the authors, differences in the volatiles released by the cultivars
290 profile were probably responsible for these results.

291 It is known that ecological interactions host-parasitoid is complex. In addition to chemical
292 communication, other factors can directly influence natural enemies behaviour, i.e., hosts
293 densities and, therefore, the parasitoid functional response (Cronin & Strong, 1990), crop
294 development stage (Vieira et al., 2014), original host (Tognon et al., 2014), plant variety
295 (Michereff et al., 2015), among others. Thus, one must take into account that parasitoids
296 search behaviour is guided by different kinds of stimulus, depending on its distance from the
297 host. Initially, plant volatiles emitted by damaged plants is a main cue used to locate
298 herbivorous habitat. Once a foraging female locates a plant, it starts searching for the host,
299 triggered, mainly, by kairomone substances (Vinson, 1975). Focus on this, it is resalable to
300 understand why *T. podisi* was attracted to HIPVs, but without parasitism increment.
301 Although studies in laboratory conditions are relevant, it is necessary to evaluate these
302 interactions in field conditions. It is also important to study a novel biological control
303 approach, ‘attract and reward’ which combines two aspects of applied insect ecology:
304 synthetic herbivore-induced plant volatiles (HIPVs) to improve immigration of beneficial
305 taxa into crops and nectar plants to maintain their populations.

306
307 **References**
308

- 309 **Arimura, G., Matsui, K. & Takabayashi, J.** (2009) Chemical and Molecular Ecology of
310 Herbivore-Induced Plant Volatiles: Proximate Factors and Their Ultimate Functions. *Plant
311 and Cell Physiology* **50**, 911–923.
- 312 **Ayres, M., Ayres Jr, M., Ayres, D.L. & Santos, A.A.S.** (2007) *BioEstat 5.0 Aplicações
313 Estatísticas nas Áreas da Ciências Bio-médicas*. Belém , Sociedade Civil Mamirauá.
- 314 **Beyaert, I., Waschke, N., Scholz, A., Varama, M., Reinecke, A. & Hilker, M.** (2010)
315 Relevance of resource-indicating key volatiles and habitat odour for insect orientation.
316 *Animal Behaviour*, **79**, 1077–1086.

- 317 **Blackmer, J.L., Rodriguez-Saona, C., Byers, J.A., Shope, K.L. & Smith, J.P.** (2004)
318 Behavioural response of *Lygus hesperus* to conspecifics and headspace volatiles of alfalfa in
319 a y-tube olfactometer. *Journal of Chemical Ecology* **30**, 1547-1564.
- 320 **Colazza, S., Mcelfresh, J.S. & Millar, J.G.** (2004a) Identification of volatile synomones,
321 induced by *Nezara viridula* feeding and oviposition on bean spp., that attracts the egg
322 parasitoid *Trissolcus basalis*. *Journal of Chemical Ecology* **30**, 945-964.
- 323 **Colazza, S., Fucarino, A., Peri, E., Salerno, G., Conti, E. & Bin, F.** (2004b) Insect
324 oviposition induces volatile emission in herbaceous plants that attracts egg parasitoids.
325 *Journal of Experimental Biology* **207**, 47–53.
- 326 **Cronin, J.T. & Strong, D.R.** (1990) Density-Independent Parasitism among Host Patches
327 by *Anagrus delicatus* (Hymenoptera: Mymaridae): Experimental Manipulation of Hosts.
328 *Journal of Animal Ecology* **59**, 1019-1026.
- 329 **De Moraes, C.M., Lewis, W.J., Pare, P.W., Alborn, H.T. & Tumlinson, J.H.** (1998)
330 Herbivore-infested plants selectively attract parasitoids. *Nature* **393**, 570-573.
- 331 **Dicke, M.** (1994) Local and systemic production of volatile herbivore-induced terpenoids -
332 their role in plant-carnivore mutualism. *Journal of Plant Physiology* **143**, 465-472.
- 333 **Dicke, M. & Van Loon, J.J.A.** (2000) Multitrophic effects of herbivore-induced plant
334 volatile in an evolutionary context. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **97**, 237-249.
- 335 **Dicke, M.** (2009) Behavioural and community ecology of plants that cry for help. *Plant,*
336 *Cell and Environment* **32**, 654–665.
- 337 **Dicke, M. & Baldwin, I.T.** (2010) The evolutionary context for herbivore-induced plant
338 volatiles: beyond the ‘cry for help’. *Trends in Plant Science* **15**, 167-175.
- 339 **Frati, F., Chamberlain, K., Birkett, M., Dufour, S., Mayon, P., Woodcock, C.,**
340 **Wadhams, L., Pickett, J., Salerno, G., Conti, E. & Bin, F.** (2009) *Vicia faba–Lygus*

- 341 *rugulipennis* Interactions: Induced Plant Volatiles and Sex Pheromone Enhancement.
342 *Journal of Chemical Ecology* **35**, 201–208.
- 343 **Gols, R., Bullock, J.M., Dicke, M., Bukovinszky, T. & Harvey, J.A.** (2011) Smelling the
344 wood from the trees: nonlinear parasitoid responses to volatile attractants produced by wild
345 and cultivated cabbage. *Journal of Chemical Ecology* **37**, 795–807.
- 346 **Halitschke, R., Stenberg, J.A., Kessler, D., Kessler, A. & Baldwin, I.T.** (2008) Shared
347 signals - 'alarm calls' from plants increase appearance to herbivores and their enemies in
348 nature. *Ecology Letters* **11**, 24-34.
- 349 **Heil, M.** (2004) Induction of two indirect defences benefits lima bean (*Phaseolus lunatus*,
350 Fabaceae) in nature. *Journal of Ecology* **92**, 527–536.
- 351 **Hilker, M. & Meiners, T.** (2006) Early herbivore alert: insect eggs induce plant defense.
352 *Journal of Chemical Ecology* **32**, 1379–1397.
- 353 **Hoballah, M.E.F. & Turlings, T.C.J.** (2001) Experimental evidence that plants under
354 caterpillar attack may benefit from attracting parasitoids. *Evolutionary Ecology Research* **3**,
355 553–565.
- 356 **Hunter, M.D.** (2002) A breath of fresh air: beyond laboratory studies of plant volatile-
357 natural enemy interactions. *Agricultural and Forest Entomology* **4**, 81-86.
- 358 **Karban, R.; Baldwin, I. T.** (1997) *Induced responses to herbivory*. Chicago, University of
359 chicago Press.
- 360 **Kessler, A. & Baldwin, I.T.** (2001) Defensive function of herbivore-induced plant volatile
361 emissions in nature. *Science* **291**, 2141-2144.
- 362 **Laumann, R.A., Aquino, M.F.S., Moraes, M.C.B., Pareja, M. & Borges, M.** (2009)
363 Response to egg parasitoids *Trissolcus basalis* and *Telenomus podisi* to compounds from
364 defensive secretions of stick bugs. *Journal of Chemical Ecology* **35**, 8-19.

- 365 **Machado, R.C.M., Sant'Ana, J., Blassioli-Moraes, M.C., Laumann, R.A. & Borges, M.**
366 (2014) Herbivory-induced plant volatiles from *Oryza sativa* and their influence on
367 chemotaxis behaviour of *Tibraca limbativentris* stal. (Hemiptera: Pentatomidae) and egg
368 parasitoids. *Bulletin of Entomological Research* **104**, 347-356.
- 369 **Maeda, T., Kishimoto, H., Wright, L.C. & James, D.G.** (2015) Mixture of synthetic
370 herbivore-induced plant volatiles attracts more *Stethorus punctum picipes* (Casey)
371 (Coleoptera: Coccinellidae) than a single volatile. *Journal of Insect Behavior* **28**, 126–137.
- 372 **Michereff, M.F.F., Laumann, R.A., Borges, M., Michereff-Filho, M., Diniz, I.R., Neto,**
373 **A.L.F. & Moraes, M.C.B.** (2011) Volatiles Mediating a Plant-Herbivore-Natural Enemy
374 Interaction in Resistant and Susceptible Soybean Cultivars. *Journal of Chemical Ecology*
375 **37**, 273-285.
- 376 **Michereff, M.F.F., Borges, M., Laumann, R.A., Diniz, I.R. & Blassioli-Moraes, MC.**
377 (2013) Influence of volatile compounds from herbivore-damaged soybean plants on
378 searching behavior of the egg parasitoid *Telenomus podisi*. *Entomologia Experimentalis et*
379 *Applicata* **147**, 9–17.
- 380 **Michereff, M.F.F., Michereff, M., Blassioli-Moraes, M.C., Laumann, R.A., Diniz, I.R.,**
381 **& Borges, M.** (2015) Effect of resistant and susceptible soybean cultivars on the attraction
382 of egg parasitoids under field conditions. *Journal of Applied Entomology* **139**, 207–216.
- 383 **Moraes, M.C.B., Laumann, R., Sujii, E.R., Pires, C. & Borges, M.** (2005) Induced
384 volatiles in soybean and pigeon pea plants artificially infested with the neotropical brow
385 stink bug, *Euschistus heros*, and their effect on the egg parasitoid, *Telenomus podisi*.
386 *Entomologia Experimentalis et Applicata* **115**, 227-237.
- 387 **Moraes, M.C.B., Birkett, M.A., Gordon-Weeks, R., Smart, L.E., Martin, J.L., Pye,**
388 **B.J., Bromilow, R. & Pickett, J.A.** (2008) Cis-Jasmone induces accumulation of defence
389 compounds in wheat, *Triticum aestivum*. *Phytochemistry* **69**, 9-17.

- 390 **Moraes, M.C.B., Laumann, R.A., Pareja, M., Sereno, F.T.P.S., Michereff, M.F.F.,**
391 **Birkett, M.A., Pickett, J.A. & Borges, M.** (2009) Attraction of the stink bug egg parasitoid
392 *Telenomus podisi* to defence signals from soybean activated by treatment with cis-jasmone.
393 *Entomologia Experimentalis et Applicata* **131**, 178–188.
- 394 **Mumm, R. & Dicke, M.** (2010) Variation in natural plant products and the attraction of
395 bodyguards involved in indirect plant defense. *Canadian Journal of Zoology* **88**, 628–667.
- 396 **Peñaflor, M.F.G.V. & Bento, J.M.S.** (2013) Herbivore-Induced Plant Volatiles to Enhance
397 Biological Control in Agriculture. *Neotropical Entomology* **42**, 331–343.
- 398 **Simpson, M., Gurr, G.M., Simmons, A.T., Wratten, S.D., James, D.G., Leeson, G.,**
399 **Nicol, H.I. & Orre-Gordon, G.U.S.** (2011) Attract and reward: combining chemical
400 ecology and habitat manipulation to enhance biological control in field crops. *Journal of*
401 *Applied Ecology*, **48**, 580–590.
- 402 **SOSBAI, Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado** (2014) *Arroz Irrigado:*
403 *Recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil*. Bento Gonçalves, Sosbai.
- 404 **Tognon, R., Sant'Ana, J. & Jahnke, S.M.** (2014) Influence of original host on chemotaxic
405 behaviour and parasitism in *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Platygastridae).
406 *Bulletin of entomological research* **104**, 781 -787.
- 407 **Turlings, T.C.J., Tumlinson, J.H. & Lewis, W.J.** (1990) Exploitation of herbivore-
408 induced plant odors by host-seeking parasitic wasps. *Science* **250**, 1251-1253.
- 409 **Turlings, T.C.J., Lengwiler, U.B., Bernasconi, M.L. & Wechsler, D.** (1998) Timing of
410 induced volatile emissions in maize seedlings. *Planta* **207**, 146-152.
- 411 **Vieira, C.R., Blassioli-Moraes, M.C., Borges, M., Pires, C.S.S., Sujii, E.R. &**
412 **Laumann, R.A.** (2014) Field evaluation of (E)-2-hexenal efficacy for behavioral
413 manipulation of egg parasitoids in soybean. *BioControl* **59**, 525–537.

- 414 **Vinson, S. B.** (1975). Biochemical coevolution between parasitoids and their hosts. In Price,
415 P. W. (ed.), *Evolutionary strategies of Parasitic Insects and Mites*. Plenum, New York, pp.
416 14–48.
417

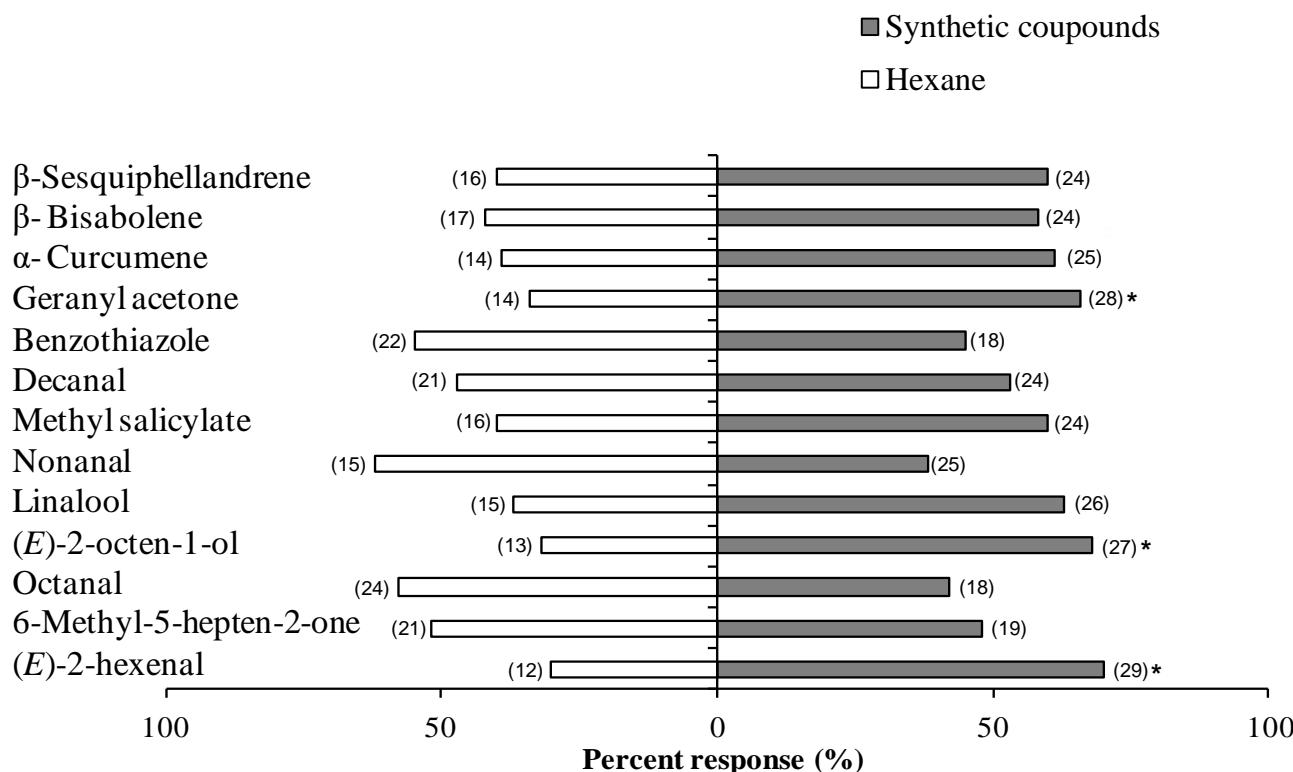
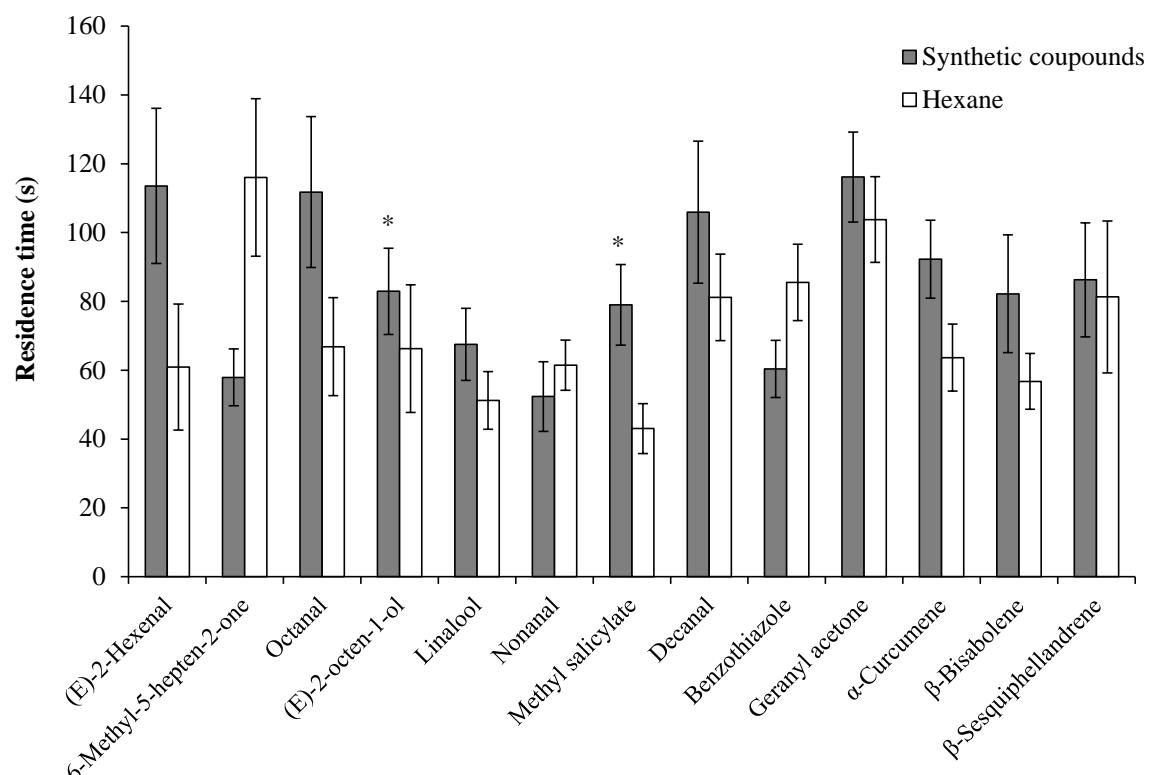
418 **FIGURE CAPTIONS**

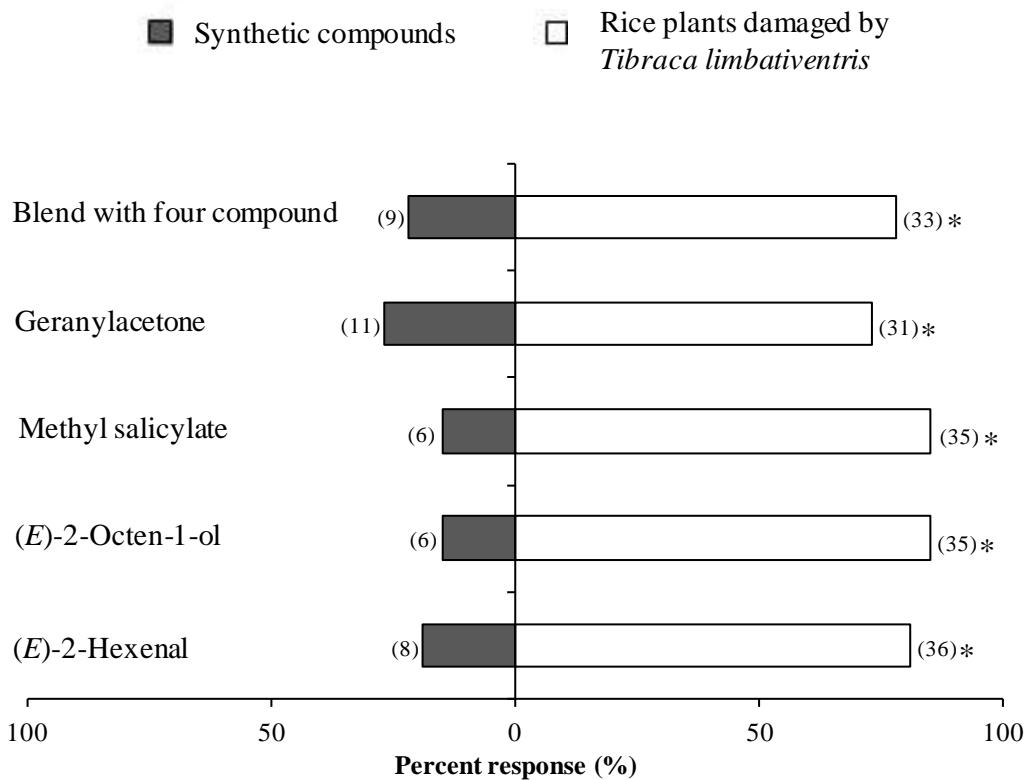
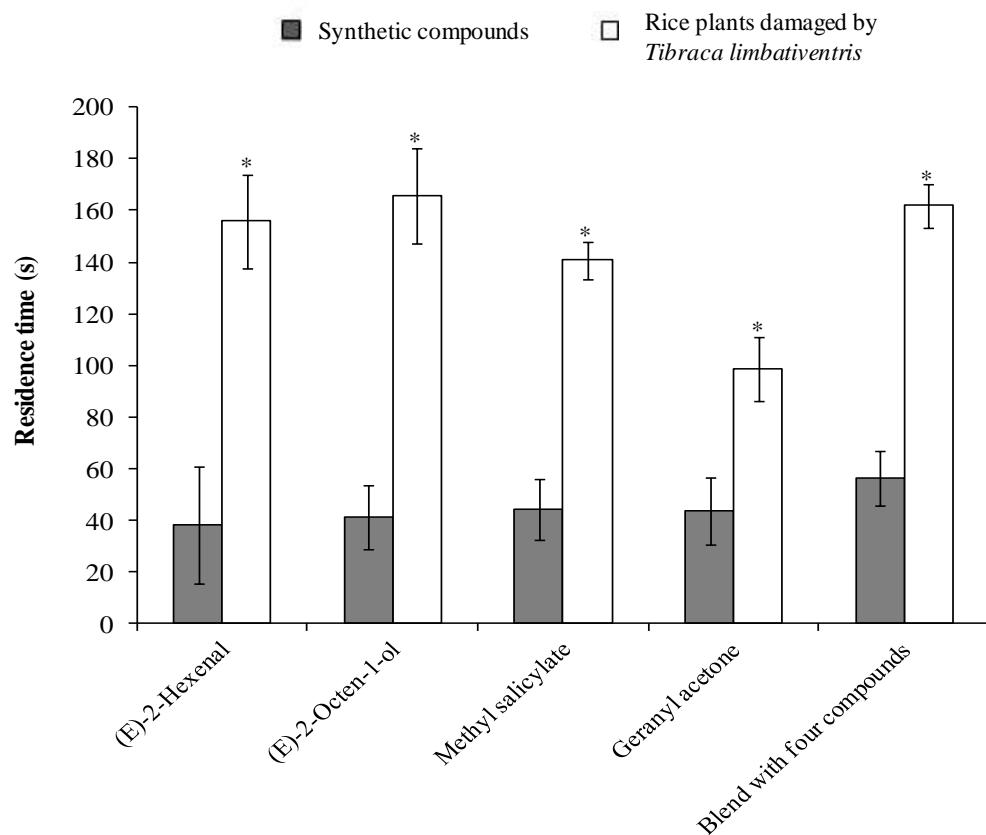
419 Figure 1. Chemotaxic responses of *Telenomus podisi* females tested in Y-tube olfactometer
420 to synthetic volatiles identified in rice plants (HIPVs) and hexane (control). Numbers in
421 parentheses represent the number of responsive insects. Values followed by an asterisk
422 differ significantly ($P < 0.05$).
423

424 Figure 2. Mean (\pm SE) residence time (seconds) of *Telenomus podisi* females tested in Y-
425 tube olfactometer to synthetic volatiles identified in rice plants (HIPVs) and hexane
426 (control). Values followed by an asterisk differ significantly by Wilcoxon test ($P < 0.05$).
427

428 Figure 3. Chemotaxic responses of *Telenomus podisi* females tested in Y-tube olfactometer
429 to synthetic volatiles (alone or mixed) identified in rice plants (HIPVs) and rice plants
430 damaged by *Tibraca limbativentris* females herbivory. Numbers in parentheses represent the
431 number of responsive insects. Values followed by an asterisk differ significantly ($P < 0.05$).
432

433 Figure 4. Mean (\pm SE) residence time (seconds) of *Telenomus podisi* females tested in Y-
434 tube olfactometer to synthetic volatiles (alone or mixed) identified in rice plants (HIPVs)
435 and rice plants damaged by *Tibraca limbativentris* females herbivory. Values followed by
436 an asterisk differ significantly by Wilcoxon test ($P < 0.05$).
437

**Figure 1****Figure 2**

**Figure 3**437 **Figure 4**

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os bioensaios relativos aos trabalhos de captura de *T. limbativentris* em armadilhas feromonais foram desenvolvidos ao longo de quatro safras (2011-2012; 2012-2013; 2013-2014 e 2014-2015), porém somente na safra 2012-2013 houve infestação na área de estudo. Sendo assim, as demais safras não foram mencionadas no trabalho relativo ao “Artigo 1” apresentado nesta Tese. As taxas de liberação do feromônio impregnado nos septos de borracha foi outro parâmetro avaliado. Contudo, devido a uma grande variabilidade de respostas obtidas, consideramos que este experimento deva ser repetido para que possamos obter resultados mais consistentes. Desta forma estes dados também não foram apresentados no referido artigo.

Os resultados oriundos deste estudo indicam que as armadilhas feromonais PET (Modelo 1), iscadas com o isômero 1'S zingiberenol, são as mais adequadas para uso em programas de monitoramento de *T. limbativentris*. No entanto, ainda é necessário avaliar outras formulações, o percentual de escape de percevejos nesta armadilha, bem como o número, posição e distanciamento destas em áreas de cultivo de arroz. Além disso, é importante que se investigue quais são os diastereoisômeros e em quais proporções e quantidades são produzidos pelos machos de *T. limbativentris*, de modo a pontencializar as capturas, através de uma formulação mais atrativa às fêmeas no campo.

Sabe-se que as interações ecológicas entre hospedeiro-parasitoide são complexas, uma vez que além da comunicação química, diversos fatores podem influenciar o comportamento de inimigos naturais. Sendo assim, também são necessários estudos mais

aprofundados sobre a comunicação química de *T. podisi* com a utilização dos quatro voláteis de plantas que desencadearam comportamento quimiotáxico neste parasitoide, mas sem incremento do parasitismo.

É sempre necessário levar em consideração particularidades do sistema estudado ao se panejar a aplicação de semioquímicos. A viabilização desta ferramenta no manejo comportamental de *T. limbativentris* e *T. podisi* depende do envolvimento multidisciplinar de diversas áreas afins, as quais devem participar, através de seus conhecimentos próprios, de um esforço conjunto no desenvolvimento e aprimoramento desta prática. Deve-se ter claro que o maior objetivo desta linha de pesquisa é viabilizar ferramentas de manejo e controle para produtores que buscam a eliminação ou redução do uso de agrotóxicos e um maior equilíbrio ecológico em agroecossistemas. Sendo assim, diversos bioensaios ainda devem ser conduzidos a campo para que esta prática se torne viável, aumentando a sustentabilidade ambiental e econômica da produção agrícola.