

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

RESPOSTAS DE *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) E
Trichogramma pretiosum (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) A
PLANTAS DE ARROZ, *Oryza sativa* (POACEAE), SUBMETIDAS À
HERBIVORIA E A FITORMÔNIOS

Fabiane Barbosa Lopes
Engenheira Agrônoma/UFRGS

Dissertação apresentada como um dos requisitos
à obtenção do Grau de Mestre em Fitotecnia
Área de concentração Sanidade Vegetal

Porto Alegre (RS), Brasil
Março de 2018

CIP - Catalogação na Publicação

LOPES, FABIANE BARBOSA
RESPOSTAS DE *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE) E *Trichogramma pretiosum* (HYMENOPTERA:
TRICHOGRAMMATIDAE) A PLANTAS DE ARROZ, *Oryza sativa*
(POACEAE), SUBMETIDAS À HERBIVORIA E A FITORMÔNIOS /
FABIANE BARBOSA LOPES. -- 2018.
60 f.
Orientador: JOSUÉ SANT'ANA.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa
de Pós-Graduação em Fitotecnia, Porto Alegre, BR-RS,
2018.

1. Uso de fitormônios. 2. controle biológico. 3.
Spodoptera frugiperda. 4. *Trichogramma pretiosum* .
5. Cultura do arroz. I. SANT'ANA, JOSUÉ, orient. II.
Título.

FABIANE BARBOSA LOPES
Engenheira Agrônoma - UFRGS

DISSERTAÇÃO

Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

MESTRE EM FITOTECNIA

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

Aprovado em: 19.03.2018
Pela Banca Examinadora

Homologado em: 18.09.2018
Por

JOSUÉ SANT'ANA
Orientador - PPG Fitotecnia
UFRGS

CHRISTIAN BREDEMEIER
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em Fitotecnia

LUIZA RODRIGUES RADAELLI
PPG Fitotecnia/UFRGS

THAIS FERNANDA STELLA DE FREITAS
Integrar Gestão e
Inovação Agropecuária/RS

NATÁLIA ALVES LEITE
EMBRAPA Milho e Sorgo/MG

CARLOS ALBERTO BISSANI
Diretor da Faculdade de
Agronomia

Aos meus pais Sérgio Iraçu Gindri Lopes e Mara Cristina Barbosa Lopes
Por serem porto seguro e referência ao longo de toda minha caminhada
Pelo apoio, amor e auxílio em todos os sentidos.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Mara Lopes e Sergio Gindri, pelos ensinamentos, por serem parâmetros de Engenheiros Agrônomos, sempre incansáveis ao que fosse necessário durante toda minha formação. À minha irmã Fernanda e todos outros familiares pelo apoio, incentivo e amor.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul, onde tive todo ensino de qualidade e gratuito desde a graduação, que fará muita diferença em minha vida profissional.

Ao meu namorado, Felipe Cru xen Peña, por todo companheirismo, apoio em todos os momentos, auxílios durante e nos bioensaios, que sempre esteve ao meu lado em todos os momentos de alegria e aflição dessa etapa.

Ao professor Josué Sant'Ana pela grande oportunidade, experiência orientação, paciência, amizade e dedicação ao longo de todo mestrado e desenvolvimento deste trabalho.

A todos os professores do Departamento de Fitossanidade da UFRGS, principalmente Luiza Redaelli e Simone pelas contribuições na área de entomologia e boa convivência.

A todos meus amigos e colegas do LEEQI e BIOECOLAB, que tornaram o mestrado mais leve, divertido, pelas conversas, amizade, por dividirem todos os momentos bons e difíceis dessa jornada e por serem pessoas especiais. Aos lagarteiros Jucelio e Camila pela grande ajuda inicial; aos que entraram comigo Dânia, Nelson e Joel por partilhar toda caminhada e aos demais Claudia, Fernanda, Thais, Paloma, Roberta, Taci, Samuel, Carol, Geluse, Augusto, Pati por essa feliz convivência.

A todos meus amigos que fiz na vida e nesta Universidade que sempre estiveram comigo.

Ao CNPq pela bolsa concedida.

A todos que de alguma forma contribuíram pelo desenvolvimento deste trabalho, confirmando que ninguém consegue nada sozinho.

RESPOSTAS DE *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) E *Trichogramma pretiosum* (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) A PLANTAS DE ARROZ, *Oryza sativa* (POACEAE), SUBMETIDAS À HERBIVORIA E A FITORMÔNIOS¹

Autor: Fabiane Barbosa Lopes
Orientador: Josué Sant'Ana

RESUMO

Spodoptera frugiperda (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma das pragas que ocorrem na cultura do arroz (*Oryza sativa* L.). As injúrias de herbívoros e/ou a aplicação de fitormônios podem ativar as vias de sinalização, resultando na maior produção de metabólitos secundários, aumentando as defesas da planta. O trabalho teve como objetivos avaliar a indução de resistência direta (local e sistêmica) de plantas de arroz causada pela herbivoria e pela aplicação exógena dos fitormônios metil jasmonato (MJ) e ácido salicílico (AS) no desenvolvimento de *S. frugiperda*. Também foram investigadas as defesas indiretas através das respostas quimiotáticas de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera, Trichogrammatidae) submetidos aos mesmos tratamentos. A defesa direta foi avaliada através da taxa de ganho de peso de lagartas alimentadas com folhas de plantas pré-expostas à herbivoria ou tratadas com metil jasmonato (2 e 5 mM), ácido salicílico (8 e 16 mM) ou água com etanol (controle). A defesa indireta foi verificada pelas respostas quimiotáticas, em olfatômetro de dupla escolha, de *T. pretiosum* submetidos à escolha entre plantas que sofreram herbivoria e avaliadas após 24, 48 e 72 horas em contraste com as sadias, assim como, com as tratadas com os mesmos fitormônios, contrastadas com o controle. O ganho de peso foi menor em imaturos de *S. frugiperda* que se alimentaram com folhas de plantas previamente injuriadas por lagartas (resistência local) e folhas emergidas após a injúria (resistência sistêmica) do que quando alimentadas com folhas de plantas não danificadas. Da mesma forma, folhas tratadas com MJ (2 e 5 mM) e com AS (8 mM) foram menos consumidas do que as não tratadas. Os parasitoides não foram atraídos para plantas danificadas por *S. frugiperda*, mas desencadearam comportamento quimiotático positivo para aquelas aspergidas com MJ (2 e 5 mM) e com AS (8 mM). Este estudo evidenciou que plantas de arroz possuem mecanismos de defesa que podem ser ativados pela herbivoria e fitormônios, sendo que estes se refletem na diminuição da alimentação de lagartas, bem como na atração de *T. pretiosum*.

¹ Dissertação de Mestrado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (60f.) Março, 2018.

RESPONSES OF *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) AND *Trichogramma pretiosum* (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) TO RICE PLANTS, *Oryza sativa* (POACEAE), SUBMITTED TO HERBIVORY AND PHYTOHORMONES¹

Author: Fabiane Barbosa Lopes

Advisor: Josué Sant'Ana

ABSTRACT

Spodoptera frugiperda (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) is one of pests that occurs in rice crops (*Oryza sativa* L.). Damages caused by herbivorous and phytohormones' application can activate the signaling pathways which result in greater production of secondary metabolites, increasing plant defenses. This study aimed to evaluate the induced direct resistance (local and systemic) of rice plants caused by herbivory and by exogenous application of methyl jasmonate (MJ) and salicylic acid (SA) in the development of *S. frugiperda*. We also investigated the indirect defenses through chemotactic responses of *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera, Trichogrammatidae) submitted to the same treatments. The direct defense response was evaluated by measuring weight gain of fall armyworm larvae fed with leaves of plants pre-exposed to herbivory or treated with MJ (2 and 5 mM), SA (8 and 16 mM) or water and ethanol (control). The indirect defense was verified by chemotactic behavior of *T. pretiosum*, in tests of two-choice olfactometer, to plants submitted to herbivory and evaluated after 24, 48, 72 hours in comparison with undamaged ones, as well as, plants treated with the same phytohormones contrasted with control. The weight gain was less in immature developmental stage of *S. frugiperda* fed in leaves previous damaged by fall armyworm larvae (local resistance) and in emerged leaves after plants' damage (systemic resistance), rather than in undamaged ones. Treated leaves with MJ (2 mM and 5 mM) and SA (8 mM) were less eaten than those not treated. The parasitoids were not attracted to rice plants previous damage by *S. frugiperda*, but triggered a positive chemotactic behavior to rice plants that were sprayed with MJ (2 mM and 5 mM) and AS (8 mM). This study showed that rice plants have defense mechanisms that can be activated through an exogenous application of phytohormones, evidences were presented on the reduction of fall armyworm larvae's feeding activity, as well as, in the attraction of *T. pretiosum*.

¹ Master Dissertation in Plant Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (60p.) March, 2018.

SUMÁRIO

	Página
1 Introdução	1
2 Revisão bibliográfica	3
2.1 Cultura do arroz	3
2.2 Pragas na cultura do arroz	5
2.5 Defesa de plantas	9
2.6 Metabólitos secundários de vegetais: indução da resistência.....	10
2.7 Referências bibliográficas.....	13
3 Capítulo 1 - Respostas de <i>Spodoptera frugiperda</i> (Lepidoptera: Noctuidae) e <i>Trichogramma pretiosum</i> (Hymenoptera: Trichogrammatidae) a plantas de arroz, <i>Oryza sativa</i> (Poaceae), submetidas à herbivoria e a fitormônios.....	19
3.1 Introdução.....	20
3.2 Material e Métodos	23
3.2.1 Local de realização dos experimentos	23
3.2.3 Preparo das soluções.....	23
3.2.4 Criação de <i>Spodoptera frugiperda</i> em dieta artificial.....	24
3.2.5 Criação <i>Trichogramma pretiosum</i> e <i>Anagasta kuehniella</i>	24
3.2.6 Bioensaios.....	25
3.2.6.1 Herbivoria de <i>Spodoptera frugiperda</i> em plantas de arroz injuriadas por lagartas coespecíficas: resistência local e sistêmica.....	25
3.2.6.2 Herbivoria de <i>Spodoptera frugiperda</i> em plantas de arroz aspergidas com fitormônios.....	26

3.2.6.3 Quimiotaxia de <i>Trichogramma pretiosum</i> a plantas de arroz submetidas à herbivoria por <i>Spodoptera frugiperda</i> ou aspergidas com fitormônios.....	27
3.2.6.4 Análises estatísticas.....	29
3.3 Resultados.....	29
3.3.1 Herbivoria de <i>Spodoptera frugiperda</i> em plantas de arroz injuriadas por lagartas coespecíficas: resistência local e sistêmica	29
3.3.2 Herbivoria de <i>Spodoptera frugiperda</i> em plantas de arroz aspergidas com fitormônios.....	30
3.3.3 Quimiotaxia de <i>Trichogramma pretiosum</i> a plantas de arroz submetidas à herbivoria por <i>Spodoptera frugiperda</i>	32
3.3.4 Quimiotaxia de <i>Trichogramma pretiosum</i> a plantas de arroz aspergidas com fitormônios.....	32
3.4 Discussão	34
3.5 Considerações finais	45
3.6 Referências bibliográficas.....	46

RELAÇÃO DE FIGURAS

Página

CAPÍTULO 1

1. Ganho médio de peso (\pm EP) de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (4^o ínstar) alimentadas com folhas de plantas de arroz não danificadas (barra cinza) e as submetidas previamente a injúria (barra com listras), podendo esta ser local (RL), 72 horas após a injúria, ou sistêmica (RS), 15 dias após a injúria e utilizando folhas não presentes no momento do dano. Barras com letras distintas diferem entre si, dentro de cada tratamento, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)..... 30
2. Ganho médio de peso (\pm EP) de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (4^o ínstar) após consumo de plantas de arroz tratadas com água, dois fitormônios, metil jasmonato (MJ) e ácido salicílico (AS), em duas concentrações (milimolar) ou com água e etanol (controle). Barras com letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$)..... 31
3. Respostas quimiotáticas (%) de fêmeas de *Trichogramma pretiosum* testadas em olfatômetro em Y em relação às plantas de arroz com 24, 48 e 72 horas após a injúria por lagartas de *Spodoptera frugiperda* e as não expostas a herbivoria (controle). Valores nas barras indicam o número de insetos responsivos e, entre parênteses, os não responsivos (NR). ns = não significativo (χ^2 , $P > 0,05$)..... 32
4. Respostas quimiotáticas (%) de fêmeas de *Trichogramma pretiosum* testadas em olfatômetro em Y, submetidas a plantas de arroz tratadas com metil jasmonato (MJ), ácido salicílico (AS), em diferentes concentrações (milimolar), contrastadas com água e etanol (controle) e avaliadas 72 h após aplicação. Valores nas barras indicam o número de insetos responsivos e, entre parênteses, os não responsivos (NR). Barras seguidas de asterisco indicam diferença significativa do tratamento com fitormônio em relação ao controle (χ^2 , $P < 0,05$)..... 33

5. Respostas quimiotáticas (%) de fêmeas de *Trichogramma pretiosum* testadas em olfatômetro em Y a plantas de arroz tratadas 24 horas antes com metil jasmonato (MJ) em diferentes concentrações e contrastadas com água + etanol (controle). Valores nas barras indicam o número de insetos responsivos e, entre parênteses, os não responsivos (NR). Barra seguida de asterisco indica diferença significativa do tratamento com fitormônio em relação ao controle (χ^2 , $P < 0,05$)..... 34

1 INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos cereais mais importantes do Brasil, tanto em participação econômica quanto na alimentação humana. Um dos problemas fitossanitários desta cultura é a herbivoria causada por lagartas, em especial a *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith, 1797 (Lepidoptera: Noctuidae). O controle químico desta praga é muitas vezes feito com tecnologias de aplicação incorreta e no momento inadequado, onde o principal grupo químico disponível (piretroides) possui características que promovem a morte de inimigos naturais e aumentam a resistência de insetos pragas, diminuindo a sustentabilidade nos sistemas agrícolas. Desta forma, é necessário o estudo de novas ferramentas para que, de forma integrada com outros métodos de controle, possam minimizar o impacto deste inseto em lavouras de arroz.

Plantas podem emitir um vasto número de voláteis que atuam como defesas químicas contra insetos. Os compostos emitidos são aleloquímicos, os quais podem atuar como atraentes, repelentes e/ou apresentar efeito deterrente em herbívoros, inimigos naturais e insetos polinizadores. A biossíntese destas substâncias é ativada em situações de estresse, tanto biótico, principalmente herbivoria, quanto abiótico. Duas rotas metabólicas são as mais importantes para a produção de compostos de defesa, a do ácido jasmônico e a do ácido salicílico, sendo a primeira mais associada aos insetos mastigadores e a segunda, aos sugadores.

A aplicação exógena em plantas com fitormônios para a indução de resistência contra herbivoria e atração de inimigos naturais, pode vir a ser uma alternativa para o manejo de pragas em sistemas agrícolas, principalmente em áreas de produção integrada e orgânica. Porém, há poucos estudos que elucidem essas interações em plantas de arroz, de modo a viabilizar o uso desta tecnologia nesta cultura.

Sendo assim, o trabalho teve como objetivos avaliar a indução de resistência direta (local e sistêmica) de plantas de arroz causada pela ação da herbivoria ou pela aplicação exógena dos fitormônios metil jamonato e ácido salicílico no desenvolvimento de *S. frugiperda*, bem como, as defesas indiretas através das respostas quimiotáticas de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae), submetido aos mesmos tratamentos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cultura do arroz

O arroz irrigado pertence às poáceas e gênero *Oryza*. Este gênero possui duas espécies cultivadas, *Oryza sativa*, cultivada em todo o mundo e *Oryza glaberrima*, cultivada em alguns países da África Ocidental, sendo a primeira classificada em duas subespécies, *indica* e *japônica*. Estima-se que o gênero tenha surgido há 130 milhões de anos, disseminando-se como uma gramínea silvestre. Sua domesticação começou há 9.000 anos, ocorrendo na China o aperfeiçoamento do processo de alagamento do solo e transplântio de plântulas, o que tornou o arroz totalmente domesticado (Fonseca *et al.*, 2006).

O arroz é um dos cereais que constituem a base da alimentação humana, sendo considerado um alimento essencial para uma dieta saudável, principalmente por ser fonte primária de energia advinda dos carboidratos, além de contribuir com cerca da metade da ingestão proteica dos indivíduos (Bassinello & Naves, 2006). Este é o segundo cereal mais cultivado no mundo, ocupando uma área aproximada de 168 milhões de hectares, com produção de cerca de 741,0 milhões de toneladas de grãos em casca. Seu consumo médio mundial é de 70 kg/pessoa/ano, ficando na América Latina em torno de 30 kg/pessoa/ano (SOSBAI, 2016).

No Brasil, sexto maior produtor do cereal, a produção anual de arroz com casca está em torno de 12 milhões de toneladas nas últimas safras (SOSBAI, 2016). O Rio Grande do Sul é o principal produtor no país, abrangendo quase 70% do total da produção. Neste estado, a safra 2016/2017 atingiu uma produção total de 8,73 milhões de toneladas e uma produtividade média de 7,930 kg/ha (CONAB, 2017). No RS a área cultivada com arroz estabilizou desde a safra 2004/2005 em torno de um milhão de hectares, no entanto, no restante do Brasil esta área vem diminuindo, estando hoje em torno de 2,4 milhões de hectares (SOSBAI, 2016).

Grande parcela da produção de arroz no país é realizada em ecossistemas de várzeas (69% irrigada), sendo considerado um estabilizador da safra nacional quando comparados aos cultivos de terras altas. As várzeas da região subtropical ocorrem nos estados do sul do Brasil, no Rio Grande do Sul há, aproximadamente, 5,5 milhões de hectares de várzea, onde cerca de 1,1 milhões são utilizados para a produção (SOSBAI, 2016).

O elemento abiótico de maior importância em relação à produtividade é a temperatura, tanto para o crescimento como desenvolvimento do arroz, sendo as faixas ótimas de 20 a 35 °C para a germinação, 30 a 33 °C para a floração e de 20 a 25 °C para a maturação (SOSBAI, 2016). A ocorrência de temperaturas iguais ou abaixo de 17 °C na floração podem induzir a esterilidade das espiguetas (SOSBAI, 2016). A produtividade nesta cultura também está relacionada aos fatores bióticos, como as pragas. Perdas de produtividade de até 30% podem ser causadas por alguns organismos quando não controlados no momento certo e da forma correta (SOSBAI, 2016).

2.2 Pragas na cultura do arroz

A cultura do arroz está suscetível a uma gama de pragas desde a fase inicial de desenvolvimento até a final (Ferreira, 2006). Plantas daninhas são um dos principais fatores limitantes na produtividade, com grande diversidade de espécies infestantes e elevado índice de ocorrência. Estas competem por água, luz e nutrientes e, além disso, são potenciais hospedeiras de pragas e doenças (Cobucci & Noldin, 2006). As espécies daninhas que ocorrem com maior frequência são as do gênero *Echinochloa*, *Cyperus*, *Brachiaria*, *Sagittaria*, *Digitaria*, além do arroz vermelho (*O. sativa*), comum em áreas produtoras de arroz em diversos países do mundo (Noldin, 2000). No RS estima-se que esta daninha seja responsável por perdas de até 20% na produção de arroz, o que corresponde a aproximadamente 1,3 milhões de toneladas (SOSBAI, 2016).

Todas as fases de desenvolvimento da cultura também estão sujeitas ao ataque de fungos, vírus, bactérias e nematoides (SOSBAI, 2016). Segundo Prabhu *et al.* (2006) mais de 80 doenças estão descritas em diferentes países, no Brasil a doença mais expressiva é a brusone (*Pyricularia oryzae* Cavara, 1891), seguida por outras menos importantes, como a mancha-parda (*Drechslera oryzae* Breda de Haan, 1966), a queima-da-bainha (*Rhizoctonia solani* J.G. Kühn, 1858) e a mancha-estreita (*Cercospora oryzae* I. Miyake, 1910). De acordo com o autor, perdas de até 100% podem ocorrer em determinadas situações de severidade destas doenças.

Os insetos juntamente com plantas daninhas e doenças estão na lista das pragas que prejudicam a cultura. Dentre estas, estão a bicheira-da-raiz, *Oryzophagus oryzae* Costa Lima, 1936 (Coleoptera: Curculionidae), percevejo-

do-colmo, *Tibraca limbativentris* Stål, 1860 (Hemiptera: Pentatomidae), percevejo-do-grão, *Oebalus poecilus* Dallas, 1851 (Hemiptera: Pentatomidae), pulgão-da-raiz, *Rhopalosiphum rufiabdominale* Sasaki, 1899 (Hemiptera: Aphididae) e os lepidópteros desfolhadores (Oliveira *et al.*, 2010). Segundos os autores, somente os últimos, podem causar perdas de até 30% na produtividade.

A lagarta-das-panículas, *Pseudaletia* spp. (Lepidoptera: Noctuidae) que ocorre na fase reprodutiva, alimentando-se das folhas e da panícula, tem causado danos severos, devido ao hábito de cortar as espiguetas de arroz, diminuindo a produtividade (SOSBAI, 2016). As brocas do colmo, *Rupela albinella* Cramer, 1781 (Lepidoptera: Crambidae) e *Diatraea saccharalis* Fabricius, 1794 (Lepidoptera: Crambidae), provocam danos tanto na fase vegetativa quanto reprodutiva, causando os sintomas de “coração-morto” e “panícula-branca”, respectivamente (SOSBAI, 2016). De acordo com Ferreira (1999), a cada 10% de colmos atacados por *D. saccharalis* ocorre uma redução de até 2% na produção. A broca-do-colo, *Elasmopalpus lignosellus* Zeller, 1848 (Lepidoptera: Pyralidae) ataca a base dos colmos, também causando o sintoma de “coração morto”, sendo mais severa em anos de baixa pluviosidade, ocasionando perdas de até 100% (Ferreira, 2006). Outro lepidóptero de relevância econômica no arroz é a lagarta-da-folha, *S. frugiperda*, devido ao seu hábito filófago (SOSBAI, 2016).

2.3 *Spodoptera frugiperda* na cultura do arroz

Spodoptera frugiperda é uma espécie polífaga que tem 186 plantas hospedeiras no hemisfério ocidental, sendo nativa de regiões tropicais e

subtropicais das Américas, já sendo encontrada em países africanos (Jeger *et al.*, 2017). Ocorre em todos os estados do Brasil e tem grande importância agrícola (Ferreira, 2006). A espécie é também conhecida como lagarta-da-folha, está entre os principais insetos praga da cultura do arroz irrigado no país (Carvalho *et al.*, 2013). A introdução do milho como cultivo no sistema de rotação e a presença de *Echinochloa* spp., podem ser fatores que favoreceram a elevação da população desse inseto em áreas orizícolas (Martins & Afonso, 2007).

Segundo Sarmiento *et al.* (2002), a temperatura é o fator ambiental de maior influência sobre as fases do ciclo biológico da lagarta. Em uma temperatura média de 25 °C, o ciclo de vida foi de 30 dias. Giolo *et al.* (2002) observaram uma duração do estágio larval de $13,15 \pm 0,07$ dias em plantas de arroz. Segundo os autores, a fase de pré-pupa durou $1,90 \pm 0,04$ dias, de pupa, $8,79 \pm 0,06$ e o ciclo total de $25,81 \pm 0,13$ dias.

Os surtos do inseto estão associados às condições climáticas favoráveis, temperaturas elevadas, tempo seco e chuvas abundantes (Martins & Afonso, 2007). O ataque inicia por ocasião da emergência das plantas, podendo se estender à fase de emissão da panícula (SOSBAI, 2016). O período crítico de ataque, no arroz irrigado, ocorre entre a emergência das plântulas e a inundação da lavoura, o que pode ocasionar extensas destruições da cultura pelo corte das plantas rente ao solo (Ferreira, 2006). As lagartas também podem atacar as folhas do arroz durante a fase de perfilhamento e a fase reprodutiva, podendo ser muito prejudicial nesse último caso, devido aos danos à folha bandeira (Ferreira, 1999). Plantas infestadas a campo, com 15 a

30 dias após a emergência, resultam em perdas de 0,6% para cada lagarta/m² (Grützmacher *et al.*, 1999). Já em SOSBAI (2016) há registro de que a presença de uma lagarta de *S. frugiperda* com 1 cm ou mais, a cada quatro pontos (0,5 x 0,5 m) ao longo de linhas transversais imaginárias vistoriadas, pode ocasionar uma redução de 1% na produtividade.

O controle da lagarta-da-folha tem sido feito basicamente com uso de controle químico, principalmente os do grupo dos piretroides (AGROFIT, 2018). Contudo, outros métodos também podem ser utilizados, como inundação do solo, destruição dos restos culturais após a colheita e o uso do controle biológico (Martins & Afonso, 2007). Segundo Rosseto (1973) há 30 parasitoides (himenópteros e dípteros) relacionados à *S. frugiperda*, entre eles está o *T. pretiosum*. Esse inseto vem sendo amplamente utilizado nos Estados Unidos, China, Colômbia, França, Rússia e Nicarágua, devido a sua eficiência no controle de diferentes pragas e facilidade de multiplicação em laboratório (Cruz *et al.*, 1999). Pode ser encontrado em todo o mundo e em diversas culturas e hospedeiros e parasita, preferencialmente, em ovos de lepidópteros (Hassan, 1994). Sua capacidade de parasitismo em *S. frugiperda* pode estar relacionada com a temperatura (Bueno *et al.*, 2010). Segundo os autores, em laboratório encontraram que o maior número de ovos parasitados por fêmea foi obtida a 28 °C, sendo a taxa de parasitismo de aproximadamente 40% em condições de laboratório. No Brasil, o parasitismo natural de ovos de *S. frugiperda* por *T. pretiosum* foi registrado em cultivos de arroz (Querino *et al.*, 2016). Dequech *et al.* (2013) estudaram a ocorrência natural de espécies de

Trichogramma em milho parasitando *S. frugiperda* no Rio Grande do Sul e constataram a predominância de *T. pretiosum* compreendendo 80% do total.

2.4 Comunicação química: aleloquímicos

Estratégias que contribuam para o aumento do sucesso do controle biológico têm cada vez mais sido estudadas (Williams *et al.*, 2017). Nesse aspecto, a comunicação interespecífica é de suma importância, já que os insetos são capazes de interagir com o ambiente e com outros organismos por meio de compostos químicos (semioquímicos) (Vilela & Pallini, 2002). Estes são divididos em dois tipos: feromônios, quando intermediam relações entre organismos de mesma espécie, podendo ser sexual, de alarme, atração, dispersão, trilha, agregação, entre outros e aleloquímicos, quando essa relação se dá entre espécies diferentes (Thomazini, 2009). Os aleloquímicos, por sua vez, podem ser classificados em cairomônios, onde o emissor do sinal gera uma resposta no comportamento ou fisiologia do receptor que o favorece; alomônios, no qual o beneficiado é o emissor e os sinomônios, quando tanto emissor como o receptor do sinal são favorecidos (Taiz & Zeiger, 1998). Segundo Tumlinson *et al.* (1993), os sinomônios tem papel fundamental para a planta contra a herbivoria, pois propiciam o encontro dos parasitoides com a planta injuriada e, conseqüentemente, com seus hospedeiros.

2.5 Defesa de plantas

As plantas estão cercadas de diversos fatores potenciais causadores de injúrias e, como consequência, desenvolveram estratégias e mecanismos de defesa capazes de responder e minimizar os prejuízos ao seu metabolismo (War *et al.*, 2012). Esses mecanismos podem ser divididos em fatores pré-

formados (constitutivos) e pós-formados (induzíveis). Resistência constitutiva é definida pela presença de estruturas celulares e teciduais, bem como compostos químicos, os quais podem atuar como barreiras mesmo que não tenha havido injúrias (Karban & Baldwin, 1997). Já a resistência induzida, segundo Karban & Chen (2007), se dá pelas mudanças na planta em resposta a um dano, o que as torna menos atrativa ou palatável, quando comparada a uma não danificada. Segundo Loon *et al.* (1998) esta resistência induzida consiste na ativação de mecanismos de defesa secundário latentes da planta e pode ser um fenômeno local ou sistêmico. A diferença entre estas duas está no fato da sistêmica expressar a resposta em um tecido diferente daquele que sofreu o dano (Taiz & Zeiger, 1998; Agrawal, 2005).

2.6 Metabólitos secundários de vegetais: indução da resistência

Metabólitos secundários de plantas são compostos produzidos que não tem função direta no seu crescimento e desenvolvimento, sua biossíntese não esta ligada a produção de carboidratos, proteínas, ácidos nucleicos, lipídeos, proteínas, tampouco a processos como respiração, fotossíntese, translocação e assimilação de nutrientes (Taiz & Zeiger, 1998). Este metabolismo está associado à presença de fitormônios específicos cujo papel fundamental é a proteção da planta à pressão ambiental (fatores bióticos e abióticos) (Harborne, 1999). A ação destes hormônios pode gerar respostas que agem na atração de insetos benéficos, na competição planta-planta e na proteção contra herbívoros e outros patógenos (Mithofer & Boland, 2012). De forma geral a indução de resistência aos herbívoros pode ser classificada como direta (respostas que afetam direta e negativamente a fisiologia ou comportamento de herbívoros) ou

indireta (aumentam a eficiência de busca e a eficácia de predação/parasitismo de inimigos naturais) (Gordy *et al.*, 2015).

A síntese dos compostos de defesa pode ser desencadeada por elicitores presentes na saliva de herbívoros, ativando genes relacionados às rotas de sinalização associadas às defesas da planta (Kessler & Baldwin, 2001). O ácido jasmônico/metil jasmonato, ácido salicílico e etileno são os fitormônios mais comumente associados esta defesa (Gordy *et al.*, 2015).

Estudos sugerem que o ácido salicílico tem um papel importante na sinalização da resistência sistêmica (Durrant & Dong, 2004). Sua rota normalmente é ativada quando a planta é atacada por insetos fitossuccívoros ou por patógenos biotróficos (Glazebrook, 2005; Schweiger *et al.*, 2014). Em arroz foi observado que o ataque de *Sogatella furcifera* Horváth, 1899 (Hemiptera: Delphacidae) induziu a resistência ao fungo causador da brusone, *Magnaporthe oryza* B. Couch e que os hormônios envolvidos na defesa da planta estavam relacionados às rotas do ácido jasmônico e ácido salicílico (Kanno *et al.*, 2012).

O ácido jasmônico e seu éster, metil jasmonato, são fitormônios envolvidos especialmente em resposta a insetos mastigadores e patógenos necrotróficos (Kawazu *et al.*, 2012; Schweiger *et al.*, 2014). A produção do ácido jasmônico se dá pela rota do octadecanoide que é a principal rota na defesa contra insetos herbívoros (Taiz & Zeiger, 1998). Este hormônio é sintetizado a partir do ácido linolêico que, por sua vez, é liberado dos lipídeos da membrana plasmática. O cloroplasto e o peroxissomo são as duas organelas que participam da biossíntese deste ácido. Nos cloroplastos o ácido

linolênico é oxigenado e produz o ácido 13-hidroperóxido-octadecatrienóico (13-HPOT). O 13-HPOT é convertido, pela catálise da aleno óxido sintáse (AOS) a uma ciclopentanona, o ácido oxo-fitodienoico (OPDA) (Vick & Zimmerman, 1983).

Os jasmonatos são derivados de compostos baseados em ciclopentanonas. Estas podem se converter a oxo-pentenil-ciclopentanos (OPC) que é metabolizado nos peroxissomos, onde as enzimas das rotas da β -oxidação formarão o ácido jasmônico, que por fim pode ser metilado no citosol para formar metil jasmonato (Vick & Zimmerman, 1983). Genes induzidos por ele podem codificar enzimas-chave para as rotas do metabolismo secundário e conseqüentemente defesa de plantas (Creelman & Mullet, 1997; Taiz & Zeiger, 1998).

De acordo com Kessler *et al.* (2004), a produção de metabólitos secundários e a conseqüente resistência ao ataque de lagartas de *Manduca sexta* Linnaeus, 1763 (Lepidoptera: Sphingidae) foram menores em plantas de fumo (*Nicotiana attenuata*) nas quais foram silenciados os três genes envolvidos na rota de produção de jasmonatos. Thaler *et al.* (1996) observaram que plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) aspergidas com 0,5 mM ácido jasmônico e metil jasmonato foram menos atacadas por lagartas de *Helicoverpa zea* Boddie, 1850 (Lepidoptera: Noctuidae), sendo que este inseto tiveram um maior tempo de desenvolvimento em comparação com as que consumiram folhas de tomateiro não tratadas com este fitormônio. Segundo os autores, este fato se deve ao aumento dos níveis de polifenol

oxidase e inibidores de proteases devido à aplicação exógena dos jasmonatos, se assemelhando ao que ocorre quando há herbivoria.

Tan *et al.* (2011) observaram uma redução na taxa de crescimento de até 53% de *Spodoptera litura* Fabricius, 1775 (Lepidoptera: Noctuidae) quando alimentadas com quatro espécie de plantas, rabanete (*Raphanus sativus*), pimenta (*Capsicum annuum*), tomate e espinafre (*Ipomoea aquatica*), aspergidas com 1,5 mM de metil jasmonato. Os autores também constataram um aumento das proteínas polifenol oxidase e inibidor de tripsina nas plantas com este fitormônio. Da mesma forma, foi constatada uma menor taxa de crescimento e menor ganho de peso em lagartas de *S. frugiperda* quando alimentadas com cinco cultivares americanas de arroz (Cocodrie, Jackson, Lemont, Rosemont, e Tequing) aspergidas com 2 mM de ácido jasmônico em relação a plantas não tratadas (Stout *et al.*, 2009).

A resistência indireta de plantas de arroz foi comprovada por Lou *et al.* (2005) os quais observaram taxas maiores de parasitismo de ovos da cigarrinha *Anagrus nilaparvate* Pang et Wang, 1905 (Hymenoptera: Mymaridae) pelo parasitoide *Nilaparvata lugens* Stål, 1854 (Hemiptera: Delphacidae) após a aplicação de 1 ou 10 mM de ácido jasmônico neste vegetal.

2.7 Referências bibliográficas

AGRAWAL, A. A. Future directions in the study of induced plant responses to herbivory. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 115, n. 1, p. 97-105, 2005

AGROFIT. **Base de dados de produtos agrotóxicos e fitossanitários**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2018. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/agrofit>>. Acesso em: 27 jan. 2018.

BASSINELLO, P. Z.; NAVES, M. V. Importância na nutrição humana. In: SANTOS, A. B.; STONE, L. F.; VIEIRA, N. R. A. (Org.). **A cultura do arroz no Brasil**. 2. ed. rev. ampl. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006. cap. 1.

BUENO, R. C. O. et al. Biological characteristics and parasitism capacity of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae) on eggs of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 54, n. 2, p. 322-327, 2010.

CARVALHO, R. A. et al. Investigating the molecular mechanisms of organophosphate and pyrethroid resistance in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*. **PLoS One**, São Francisco, v. 8, n. 4, p.1-11, 2013.

COBUCCI, T.; NOLDIN, J. A. Plantas daninhas e seu manejo. In: SANTOS, A. B.; STONE, L. F.; VIEIRA, N. R. A. (Org.). **A cultura do arroz no Brasil**. 2. ed. rev. ampl. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006. cap. 16.

CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO.
Acompanhamento da safra brasileira de grãos: safra 2016/2017. Brasília, 2017. (Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos, v.4, n.11).

CREELMAN, R. A.; MULLET, J. E. Biosynthesis and action of jasmonates in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 48, n. 1, p. 355–381, 1997.

CRUZ, I.; FIGUEIREDO, M.L.C.; MATOSO, M. J. **Controle biológico de *Spodoptera frugiperda* utilizando o parasitoide de ovos *Trichogramma***. Sete Lagoas, MG: EMBRAPA, 1999. (EMBRAPA-CNPMS Circular Técnica, 30).

DEQUECH, S. T. B. et al. Population fluctuation of *Spodoptera frugiperda* eggs and natural parasitism by *Trichogramma* in maize. **Acta Scientiarum**, Maringa, v. 35, n. 3, p. 295-300, 2013.

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

FERREIRA, E. Pragas e seu controle. In: SANTOS, A. B.; STONE, L. F.; VIEIRA, N. R. A. (Org.). **A cultura do arroz no Brasil**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 1999. p. 197-261.

FERREIRA, E. Fauna prejudicial. In: SANTOS, A. B.; STONE, L. F.; VIEIRA, N. R. A. (Org.). **A cultura do arroz no Brasil**. 2. ed. rev. ampl. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006. cap. 14.

FONSECA, J. R. et al. Recursos genéticos. In: SANTOS, A. B.; STONE, L. F.; VIEIRA, N. R. A. (Org.). **A cultura do arroz no Brasil**. 2. ed. rev. ampl. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006. cap. 8.

GIOLO, F. P. et al. Parâmetros biológicos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) oriundas de diferentes localidades e hospedeiros. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 8, n. 3, p. 219-224, 2002.

GLAZEBROOK, J. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 43, n. 1, p. 205-227, 2005.

GORDY, J. W. et al. Comparative effectiveness of potential elicitors of plant resistance against *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) in four crop plants. **PLoS One**, São Francisco, v. 10, n. 9, p. 1-14, 2015.

GRÜTZMACHER, A. D. et al. Danos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) e seus efeitos sobre a produção de grãos na cultivar de arroz irrigado Embrapa 6-Chuí. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.5, n. 2, p. 135-141, 1999.

HARBORNE J. B. Classes and functions of secondary products, In: WALTON, N.J.; BROWN D.E. (Ed.). **Chemicals from plants: perspectives on secondary plant products**. London: Imperial College Press, 1999. p. 1-25.

HASSAN, S.A. Strategies to select *Trichogramma* species for use in biological control. In: WAJNBERG, E.; HASSAN, S.A. (Ed.) **Biological control with egg parasitoids**. Wallingford: C.A.B. International, 1994. p. 55-72.

JEGER, M. et al. Pest categorisation of *Spodoptera frugiperda*. **EFSA Journal**, Parma, v. 15, n. 7, p. 1-32, 2017

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

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

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

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

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

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

LOON, L. C.; BAKKER, P.A. H. M; PIETERSE, C. M. J. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 36, n. 1, p. 453-483, 1998.

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

MARTINS, J. F.S.; AFONSO, A. P. S. **Importância econômica de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith)(Lepidoptera: Noctuidae) como praga do arroz no Brasil**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2007. 31 p.

MITHOFER, A.; BOLAND, W. Plant defense against herbivores: chemical aspects. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 63, n. 1, p. 431-450, 2012.

NOLDIN, J. A. Red rice status and management in the Americas. In: BAKI, B. B.; CHIN, D. V.; MORTIMER, M. **Wild and weedy rice in rice ecosystems in Asia: a review**. Los Baños: International Rice Research Institute, 2000. p. 21-24.

OLIVEIRA, J. V. et al. **Manual de insetos associados à cultura do arroz irrigado**. 8. ed. Cachoeirinha, RS: Instituto Rio Grandense do Arroz, 2010. 56 p.

PRABHU, A. S.; FILIPPI, M. C. Doenças e seu controle. In: SANTOS, A. B.; STONE, L. F.; VIEIRA, N. R. A. (Org.). **A cultura do arroz no Brasil**. 2. ed. rev. ampl. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006. cap. 15.

QUERINO, R. B.; SILVA, N. N. P.; ZUCCHI, R. A. Natural parasitism by *Trichogramma* spp. in agroecosystems of the Mid-North, Brazil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 46, n. 9, p. 1521-1523, 2016.

ROSSETO, C.J. **Resistência de plantas a insetos**. Piracicaba: ESALQ, 1973. 171 p.

SARMENTO, R. A. et al. Revisão da biologia, ocorrência e controle de *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) em milho no Brasil. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.18, n.2, p. 41-48, 2002.

SCHWEIGER, R. et al. Interactions between the jasmonic and salicylic acid pathway modulate the plant metabolome and affect herbivores of different feeding types. **Plant, Cell & Environment**, Oxford, v. 37, n. 7, p. 1574-1585, 2014.

SOSBAI. Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil. In: REUNIÃO TÉCNICA DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 31., 2016, Bento Gonçalves. [Anais...] Bento Gonçalves, 2016. 199 p.

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

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Plant defenses: surface protection and secondary metabolites. In: _____. **Plant Physiology**. 2nd ed. Sunderland: Sinauer, 1998. cap. 13.

TAN, C. et al. Methyl jasmonate induced responses in four plant species and its effect on *Spodoptera litura* Fab. performance. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, Taiwan, v. 14, n. 3, p. 263-263, 2011.

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

THOMAZINI, M. J. A comunicação química entre os insetos: obtenção e utilização de feromônios no manejo de pragas. In: GONCALVES, R. C.; OLIVEIRA, L. C. (Ed.). **Embrapa Acre: ciência e tecnologia para o desenvolvimento sustentável do Sudoeste da Amazônia**. Rio Branco, AC: Embrapa Acre, 2009. p. 338-354.

TUMLINSON, J. H.; TURLINGS T. C. J.; LEWIS W. J. Semiochemically mediated foraging behavior in beneficial parasitic insects. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, New York, v. 22, n. 3/4, p. 385-391, 1993.

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

VILELA, E. F.; PALLINI, A. Uso dos semioquímicos no controle biológico de pragas. In: PARRA, J.R.P. (Ed.). **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 529-542.

WAR, A. R. et al. Mechanisms of plant defense against insect herbivores. **Plant Signaling & Behavior**, London, v. 7, n. 10, p. 1306-1320, 2012.

WILLIAMS, L.; RODRIGUEZ-SAONA, C.; CONTE, S. C. C. Methyl jasmonate induction of cotton: a field test of the 'attract and reward' strategy of conservation biological control. **AoB Plants**, Oxford, v. 9, n. 5, p. 1-15, 2017.

3 CAPÍTULO 1

**RESPOSTAS DE *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) E
Trichogramma pretiosum (HYMENOPTERA: TRICHOGRAMMATIDAE) A
PLANTAS DE ARROZ, *Oryza sativa* (POACEAE), SUBMETIDAS À
HERBIVORIA E A FITORMÔNIOS**

3.1 Introdução

Plantas estão suscetíveis a uma gama de insetos-praga durante todo o seu desenvolvimento. Para compensar sua vida sésil, desenvolveram diferentes estratégias e mecanismos de defesas constitutivas (pré-formadas) e induzidas (pós-formadas), sendo as últimas de ação direta e/ou indireta (Schweiger *et al.*, 2014). As diretas estão relacionadas um conjunto de características que afetam negativamente a fisiologia ou o comportamento de insetos herbívoros e as indiretas, definidas como fatores que aumentam a eficiência de busca e a eficácia de predação/parasitismo de inimigos naturais, devido à emissão de voláteis ativados pela planta em resposta ao ataque de herbívoros (Tamiru & Khan, 2017). A resistência induzida pode ser um fenômeno local, quando a resposta é expressa em um tecido igual ao que sofreu o dano ou sistêmico, quando a resposta é expressa em um tecido diferente (Moreira *et al.*, 2009).

As defesas das plantas estão relacionadas ao metabolismo secundário, que atua na proteção destas à pressão ambiental (fatores bióticos e abióticos), assim como no controle do seu crescimento (Harborne, 1999). O ácido jasmônico, metil jasmonato, ácido salicílico e etileno são fitormônios associados a defesas diretas e indiretas de plantas, sendo moléculas sinalizadoras as quais minimizam ou inibem a injúria causada pelos herbívoros (Gordy *et al.*, 2015).

Thaler *et al.* (1996) observaram que plantas de tomateiro aspergidas com 0,5 mM de ácido jasmônico e metil jasmonato foram menos atacadas por lagartas de *H. zea*, sendo que estas tiveram um maior tempo de

desenvolvimento em comparação com as que consumiram folhas de tomateiro não tratadas com este fitormônio. Tan *et al.* (2011) observaram uma redução na taxa de crescimento de até 53% de *S. litura* quando alimentadas com quatro espécie de plantas, rabanete, pimenta, tomate e espinafre, aspergidas com 1,5 mM de metil jasmonato. Os autores também constataram um aumento das proteínas polifenol oxidase e inibidor de tripsina nas plantas com este fitormônio.

Da mesma forma, foi constatada uma menor taxa de crescimento e menor ganho de peso em lagartas de *S. frugiperda* quando alimentadas com cinco cultivares americanas de arroz (Cocodrie, Jackson, Lemont, Rosemont, e Tequing) aspergidas com 2 mM de ácido jasmônico em relação a plantas não tratadas (Stout *et al.*, 2009). Resultado semelhante foi também constatado com esta mesma espécie e fitormônio em algodão e soja (Gordy *et al.*, 2015). A defesa indireta em plantas de arroz com ácido jasmônico foi registrada por Lou *et al.* (2005), os quais observaram que a aplicação de 1 ou 10 mM deste hormônio aumentou as taxas de parasitismo em ovos da cigarrinha *N. lugens* pelo parasitoide *A. nilaparvate*.

O ácido salicílico também tem um papel importante na sinalização da resistência (Durrant & Dong, 2004). Sua rota normalmente é ativada quando a planta é atacada por insetos fitossuccívoros ou por patógenos biotróficos (Glazebrook, 2005; Schweiger *et al.*, 2014). Em arroz, o ataque de *S. furcifera* na cultura induziu a resistência ao fungo causador da brusone, *M. oryza* (Kanno *et al.*, 2012).

Em lavoura de arroz irrigado *S. frugiperda*, também chamada de lagarta-da-folha, é definida como uma praga de ocorrência ocasional, que em determinados anos pode atingir níveis populacionais elevados (SOSBAI, 2016). O ataque inicial se dá por ocasião da emergência das plântulas podendo se estender até o período de emissão da panícula (Ferreira, 1999). O parasitoide de ovos *T. pretiosum*, é importante agente de controle natural de *S. frugiperda* (Sá & Parra, 1994; Beserra *et al.*, 2002) e está associado ao controle de praga de diversas culturas, incluindo o arroz (Ko *et al.* 2014). Martinazzo *et al.* (2007) avaliaram as liberações de *T. pretiosum* para controle biológico de *S. frugiperda* em lavoura de milho localizada região oeste do estado do Paraná e concluíram que as liberações deste diminuíram o número de plantas danificadas, sendo eficiente para o controle da praga. Mais recentemente, em lavoura de milho orgânico, liberações de *T. pretiosum* tiveram um sucesso de parasitismo de quase 80% (Figueiredo *et al.*, 2015). Segundo os autores, o impacto deste parasitoide resultou em um aumento de produtividade de 19,4% e o ganho de US \$ 96,5/ha.

Não há na literatura registros de trabalhos que tenham verificado a influência da aplicação exógena de metil jasmonato e ácido salicílico na interação tritrófica (arroz - *S. frugiperda* - *T. pretiosum*). Sendo assim, este trabalho objetivou avaliar a indução de resistência direta (local e sistêmica) de plantas de arroz causada pela ação da herbivoria ou pela aplicação exógena dos fitormônios metil jamonato e ácido salicico no desenvolvimento de *S. frugiperda*, bem como, as defesas indiretas, através das respostas quimiotáxicas com *T. pretiosum* submetidos aos mesmos tratamentos.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Local de realização dos experimentos

Os trabalhos foram conduzidos no Laboratório de Etologia e Ecologia Química de Insetos (LEEQI) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e Laboratório de Biologia, Ecologia e Controle Biológico de Insetos (BIOECOLAB) da Faculdade de Agronomia da UFRGS.

3.2.2 Semeadura e cultivo das plantas

Sementes da cultivar IRGA 424 foram adquiridas no Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA), sediado em Cachoeirinha, RS. Estas foram semeadas em copos plásticos de 200 mL contendo uma mistura de composto orgânico e vermiculita na proporção de 3:1, sendo as plantas mantidas em vasos em casa-de-vegetação de vidro do Departamento de Plantas de Lavoura da Universidade Federal do Rio Grande do Sul ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; $70 \pm 10\%$ U.R; fotofase de 12 horas). O plantio foi efetuado semanalmente ao longo dos experimentos e os vasos irrigados diariamente. As plantas utilizadas nos bioensaios estavam no estágio V4 (Counce *et al.*, 2000).

3.2.3 Preparo das soluções

Foram preparadas soluções de metil jasmonato (95%, Sigma-Aldrich) para obtenção de 2 mM e 5 mM e de ácido salicílico (99%, Sigma-Aldrich) para obtenção de 8 mM e 16 mM dos fitormônios. Para isso, foram utilizados 70% de água destilada e 30% de etanol 98% (Sigma-Aldrich) num volume total de 200 mL de solução. A solução controle foi composta apenas de água e etanol, nas mesmas proporções.

3.2.4 Criação de *Spodoptera frugiperda* em dieta artificial

As lagartas utilizadas nos experimentos foram advindas da criação estabelecida e mantida no Laboratório de Biologia e Controle Biológico de Insetos (BIOECOLAB) da UFRGS em câmara climatizada (25 ± 2 °C, 70 ± 10 % U.R., fotofase de 14 horas) por, aproximadamente, 40 gerações. Os adultos, 10 casais, eram acondicionados em gaiolas confeccionadas com tubos cilíndricos policloreto de polivinila (PVC) (20 X 15 cm) com orifícios nas laterais. A extremidade inferior da gaiola continha um prato plástico esférico (2 x 15 cm) e a superior, um tecido tipo voile branco, fixado com atilho. Internamente as gaiolas eram revestidas com papel sulfite pardo. Foram fornecidas para os adultos solução de mel a 70% e água destilada, as quais foram renovadas a cada dois dias.

As posturas eram coletadas diariamente, acondicionadas em tubos de vidro e mantidas em câmara climatizada até a eclosão. Após, dez lagartas de primeiro ínstar eram colocadas conjuntamente em copos plásticos (50 mL), contendo dieta artificial proposta por Bowling (1967), sendo estes cobertos com plástico filme. Transcorridos sete dias as lagartas eram individualizadas em potes plásticos (100 mL) contendo a mesma dieta. Após 15 dias, as pupas eram recolhidas para reinício do ciclo da criação.

3.2.5 Criação *Trichogramma pretiosum* e *Anagasta kuehniella*

O parasitoide *T. pretiosum* foi obtido de uma criação já estabelecida no BIOECOLAB por, aproximadamente, 27 gerações. Os adultos eram mantidos em frascos de vidro (500 mL), tampados e alimentados com gotículas de mel puro, depositadas na parte interna dos tubos. Para multiplicação dos

parasitoides, eram oferecidos ovos de *Anagasta kuehniella* Zeller, 1879 (Lepidoptera: Pyralidae), mantida conforme a metodologia de Parra (1997). As lagartas foram criadas em uma dieta a base de farinha de trigo (1 kg) e levedura de cerveja (200 g). Os ovos do hospedeiro eram inviabilizados em luz ultravioleta por 45 minutos e expostos aos parasitoides em cartela de cartolina azul-celeste colados com goma arábica a 10% (Asuper radex®).

3.2.6 Bioensaios

3.2.6.1 Herbivoria de *Spodoptera frugiperda* em plantas de arroz injuriadas por lagartas coespecíficas: resistência local e sistêmica

Para as análises dos bioensaios de resistência foram utilizadas duas gaiolas (45 x 30 x 30 cm) contendo 10 plantas de arroz (V4) cada, sendo uma infestada com *S. frugiperda* (duas lagartas de quarto ínstar/planta, com peso de 10 a 20 mg) e outra não. Após 24 horas, estas eram retiradas das plantas. Foi considerada como planta injuriada, somente as que sofreram herbivoria e que, conseqüentemente, propiciaram o ganho de peso de lagartas expostas a estas.

a) Avaliação resistência local (RL)

Passadas 72 horas após as 24 horas de permanência das lagartas com as plantas, como descrito no item anterior, pedaços de folhas injuriadas (V4) foram retiradas (100 mg) e expostas novamente a herbivoria em placas de Petri (9 cm Ø) com algodão umedecido. Porções de folhas retiradas de plantas não injuriadas (100 mg) também foram expostas a estes imaturos da mesma forma, sendo considerado o tratamento controle. As lagartas utilizadas eram de quarto ínstar de *S. frugiperda* e foram retiradas da dieta artificial antes do início dos

testes e submetidas a um jejum de três horas, sendo posteriormente pesadas com o auxílio de uma balança analítica UniBloc (calibração Interna Shimadzu, modelo ATX224). Somente as que pesavam entre 10 e 20 mg foram utilizadas nos experimentos.

As lagartas eram expostas a mesma folha por 24 horas. Transcorrido este período era oferecido outro pedaço de folha com mesmo peso (100 mg) e do mesmo tratamento. Este procedimento foi repetido por mais dois dias consecutivos, totalizando 72 horas de herbivoria. No final deste período, o peso final das lagartas foi novamente registrado. Foram feitas 40 repetições/tratamento.

b) Avaliação resistência sistêmica (RS)

Neste bioensaio utilizaram-se folhas de plantas no estágio V6, sem sintomas de injúrias, oriundas de plantas que nunca tinham sido danificadas ou previamente danificadas, seguindo o mesmo protocolo da RL. Neste último caso, foram utilizados pedaços de folhas emergidas com 15 dias após a injúria. A análise da resistência sistêmica foi avaliada da mesma forma descrita no bioensaio anterior. Sendo feitas 40 repetições/tratamento.

3.2.6.2 Herbivoria de *Spodoptera frugiperda* em plantas de arroz aspergidas com fitormônios

Foram utilizados grupos de plantas de arroz (V4) submetidos aos seguintes tratamentos: a) água e etanol (controle); b) apenas água c) metil jasmonato (2 e 5 mM) e d) de ácido salicílico (8 e 16 mM). As aplicações foram feitas com frasco de plástico com válvula spray 70 mL até que houvesse escorrimento nas folhas, aproximadamente 20 mL/planta. As plantas com

mesmo tratamento eram mantidas isoladas em gaiolas (45 x 30 x 30 cm) dentro da casa de vegetação, sob condições não controladas. Três dias após as aplicações, pedaços de folhas eram recortados (100 mg) e utilizados nos bioensaios. Todos os experimentos foram realizados em placas de Petri (9 cm Ø) com algodão umedecido.

O protocolo experimental relacionado às características das lagartas e a condução do bioensaio de herbivoria, segue o descrito no item 2.2.6.1.

3.2.6.3 Quimiotaxia de *Trichogramma pretiosum* a plantas de arroz submetidas à herbivoria por *Spodoptera frugiperda* ou aspergidas com fitormônios

O comportamento quimiotáxico de *T. pretiosum* foi observado em olfatômetro “Y” de vidro de dupla escolha, com diâmetro de 1 cm, arena inicial de 12 cm, bifurcada em dois braços de 5 cm cada. Em cada braço foi acoplado um frasco de vidro (29,5 x 12,5 cm Ø), onde foram alocadas as plantas a serem avaliadas.

Fêmeas de *T. pretiosum* com até 24 horas de idade, foram colocadas individualmente em tubos cilíndricos de vidro (0,5 x 3 cm), revestidos com papel filtro (1 x 3,7 cm) para utilização nos testes. Cada tubo foi posicionado na extremidade inicial da arena e os insetos expostos aos odores. O fluxo de ar carreando os voláteis foi previamente filtrado com carvão ativo e conduzido para dentro do sistema com o auxílio de um propulsor conectado a um fluxímetro, a uma taxa de 0,6 L/min.

O comportamento de *T. pretiosum* frente a voláteis de plantas de arroz injuriadas por *S. frugiperda* foi registrado. Neste caso, plantas de arroz (V4),

foram submetidas à herbivoria de lagartas de quarto ínstar por 24 horas, posteriormente os insetos foram retirados e as plantas avaliadas 24, 48 e 72 horas após a injúria. Plantas de arroz não injuriadas (controle), com as mesmas idades, respectivamente, foram contrastadas, duas a duas, com as previamente atacadas.

Também foram registradas as respostas quimiotáxicas dos parasitoides a voláteis de plantas de arroz aspergidas com água e etanol (controle) em contraste com a água e as contendo metil jasmonato (2 ou 5 mM) ou ácido salicílico (8 ou 16 mM). Todas as plantas foram testadas 72 horas após a aplicação dos fitormônios ou controle, sendo somente as com a presença do MJ, também avaliadas após 24 horas.

Os testes foram conduzidos em sala climatizada durante a fotofase, sob luz fluorescente (60W, luminância igual a 290 lux). O olfatômetro foi invertido no sentido horizontal (rotação 180°) a cada três repetições e, a cada seis, lavado com sabão neutro e etanol e seco em estufa de esterilização a 150 °C. Após este procedimento, eram renovados os tratamentos.

Em todos os bioensaios de olfatometria, as respostas foram consideradas positivas quando os insetos percorreram, pelo menos, 4 cm dentro dos braços contendo os tratamentos e permaneceram nesta área por, no mínimo, um minuto. Foram considerados não responsivos os que não se movimentaram nos primeiros 5 minutos ou quando não percorreram pelo menos 4 cm em algum dos dois braços do olfatômetro, em 10 minutos. Foram feitas 40 repetições/tratamento.

3.2.6.4 Análises estatísticas

Os dados relativos ao ganho de peso das lagartas nos testes de herbivoria, obtidos pela diferença entre os pesos iniciais e finais de *S. frugiperda*, foram transformados utilizando \log^{+10} e submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk. Desta forma foi aplicada análise de variância (ANOVA) e Teste de Tukey ao nível de 5% de significância. O software utilizado foi o SAS 9. Para os bioensaios de olfatométrica, os resultados da primeira escolha foram comparados pelo teste de Qui-quadrado ($\alpha =$ com o auxílio do software BioEstat 5.0.

3.3 Resultados

3.3.1 Herbivoria de *Spodoptera frugiperda* em plantas de arroz injuriadas por lagartas coespecíficas: resistência local e sistêmica

O ganho de peso de lagartas alimentadas com folhas de plantas não danificadas (controle) foi em torno de duas vezes maior do que daquelas que se alimentaram com folhas que apresentavam injúria local (resistência local - RL) ($F = 88,024$; $gl = 1$; $P < 0,001$). No bioensaio em que foi avaliada a resistência sistêmica (RS), o ganho de peso de *S. frugiperda* foi, aproximadamente, três vezes menor em plantas previamente danificadas em relação às sem injúrias ($F = 169,07$; $gl = 1$; $P < 0,001$) (Figura 1).

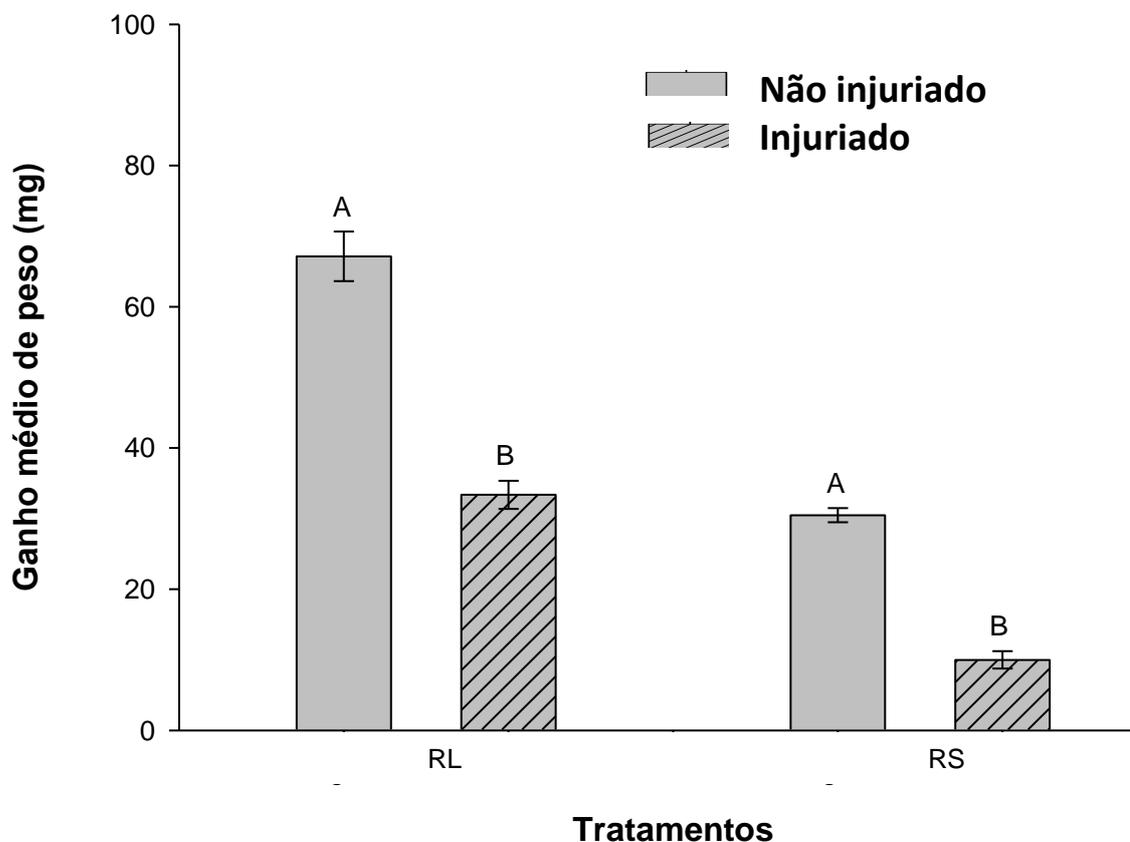


FIGURA 1. Ganho médio de peso (\pm EP) de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (4^o ínstar) alimentadas com folhas de plantas de arroz não danificadas (barra cinza) e as submetidas previamente a injúria (barra com listras), podendo esta ser local (RL), 72 horas após a injúria, ou sistêmica (RS), 15 dias após a injúria e utilizando folhas não presentes no momento do dano. Barras com letras distintas diferem entre si, dentro de cada tratamento, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

3.3.2 Herbivoria de *Spodoptera frugiperda* em plantas de arroz

aspergidas com fitormônios

As lagartas se alimentaram menos de folhas tratadas com MJ (2 e 5 mM) e AS (8 mM) do que as aspergidas com AS (16 mM) e etanol diluído em água (controle) ($P < 0,0001$), as quais não diferiram entre si ($F = 0,62$; $P <$

0.4333). O ganho de peso observado em lagartas alimentadas por plantas tratadas com metil jasmonato nas duas concentrações não diferiu entre si ($P = 0,7984$), assim como, entre os tratamentos com MJ e AS (8 mM) ($P = 0,0690$). O aumento de peso de lagartas alimentadas com plantas tratadas apenas com água foi significativamente maior do que das que consumiram folhas aspergidas com fitormônios, bem como, com etanol diluído em água ($F = 125.04$, $P < 0,001$) (Figura 2).

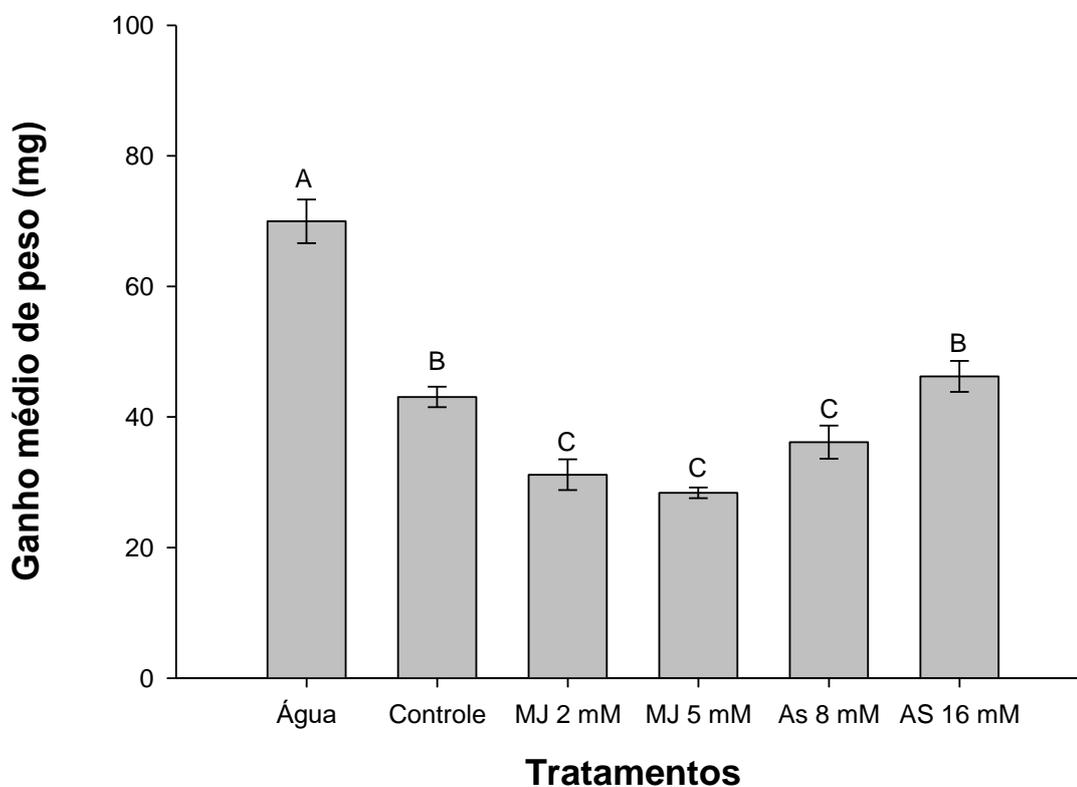


FIGURA 2. Ganho médio de peso (\pm EP) de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (4^o instar) após consumo de plantas de arroz tratadas com água, dois fitormônios, metil jasmonato (MJ) e ácido salicílico (AS), em duas concentrações (milimolar) ou com água e etanol (controle). Barras com letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

3.3.3 Quimiotaxia de *Trichogramma pretiosum* a plantas de arroz submetidas à herbivoria por *Spodoptera frugiperda*

Quando fêmeas de *T. pretiosum* foram expostas a plantas previamente injuriadas por lagartas de *S. frugiperda* em contraste com as não danificadas, não houve diferença entre respostas quimiotáticas do parasitoide frente aos diferentes períodos testados após herbivoria ($P > 0,05$) (Figura 3).

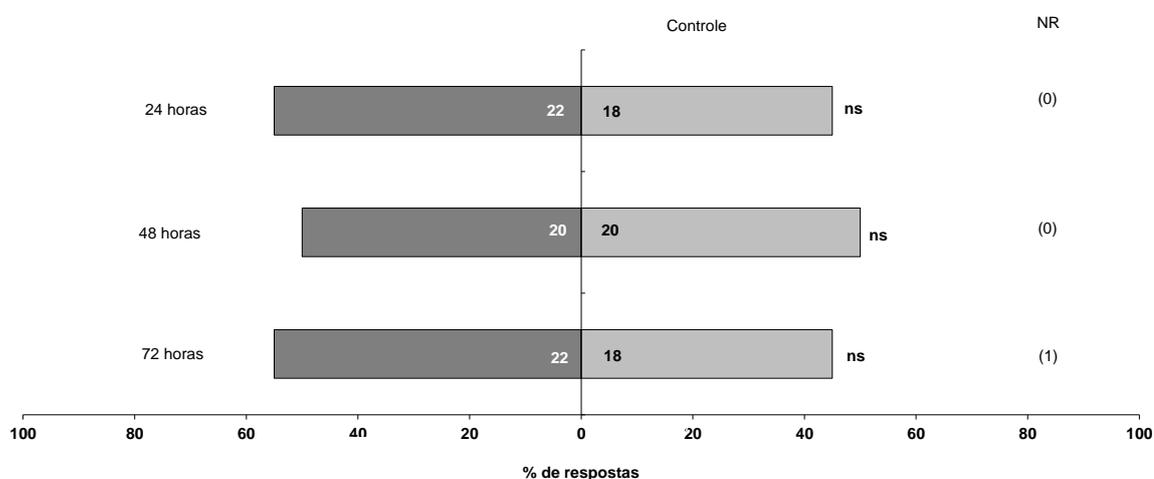


FIGURA 3. Respostas quimiotáticas (%) de fêmeas de *Trichogramma pretiosum* testadas em olfatómetro em Y em relação às plantas de arroz com 24, 48 e 72 horas após a injúria por lagartas de *Spodoptera frugiperda* e as não expostas a herbivoria (controle). Valores nas barras indicam o número de insetos responsivos e, entre parênteses, os não responsivos (NR). ns = não significativo (χ^2 , $P > 0,05$).

3.3.4 Quimiotaxia de *Trichogramma pretiosum* a plantas de arroz aspergidas com fitormônios

Não houve diferença significativa entre o tratamento água e o controle ($\chi^2 = 0,800$; gl = 1; $P = 0.3711$). A primeira escolha de fêmeas de *T. pretiosum* foi significativamente maior para plantas de arroz tratadas com MJ 2 mM ($\chi^2 =$

28,8; gl = 1; $P \leq 0,0001$), MJ 5 mM ($\chi^2 = 24,2$; gl = 1; $P \leq 0,0001$), AS 8 mM ($\chi^2 = 5,0$; gl = 1; $P = 0,0253$) e avaliadas 72 horas após a aplicação, quando contrastadas com as tratadas com água e etanol (controle) nas mesmas condições (Figura 4). Também foi observada quimiotaxia positiva do parasitoide para o MJ 5 mM em relação a plantas avaliadas 24 horas após a aplicação com este fitormônio ($\chi^2 = 5,000$; gl = 1; $P = 0,0253$) (Figura 5).

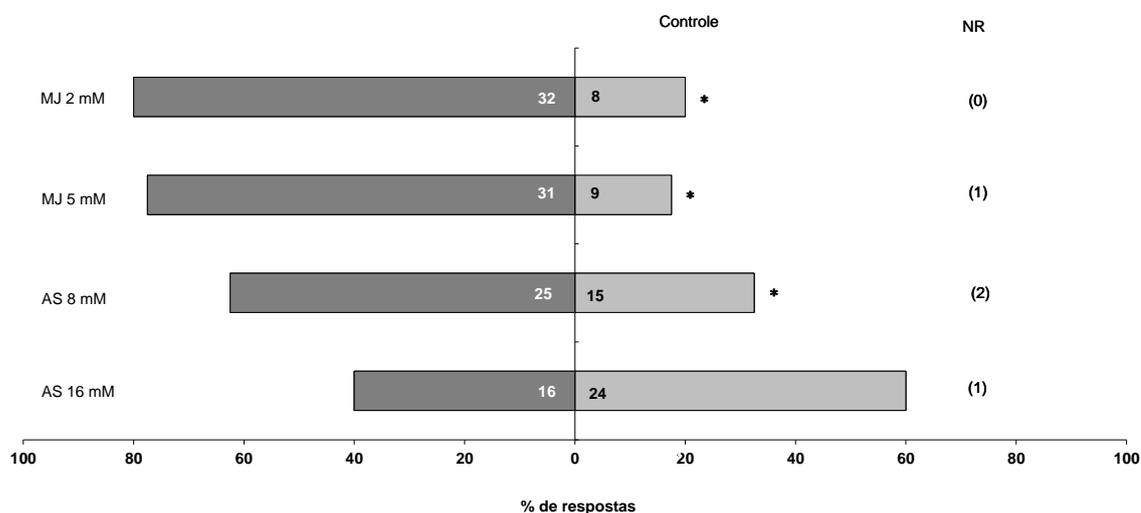


FIGURA 4. Respostas quimiotáticas (%) de fêmeas de *Trichogramma pretiosum* testadas em olfatómetro em Y, submetidas a plantas de arroz tratadas com metil jasmonato (MJ), ácido salicílico (AS), em diferentes concentrações (milimolar), contrastadas com água e etanol (controle) e avaliadas 72 h após aplicação. Valores nas barras indicam o número de insetos responsivos e, entre parênteses, os não responsivos (NR). Barras seguidas de asterisco indicam diferença significativa do tratamento com fitormônio em relação ao controle (χ^2 , $P < 0,05$).

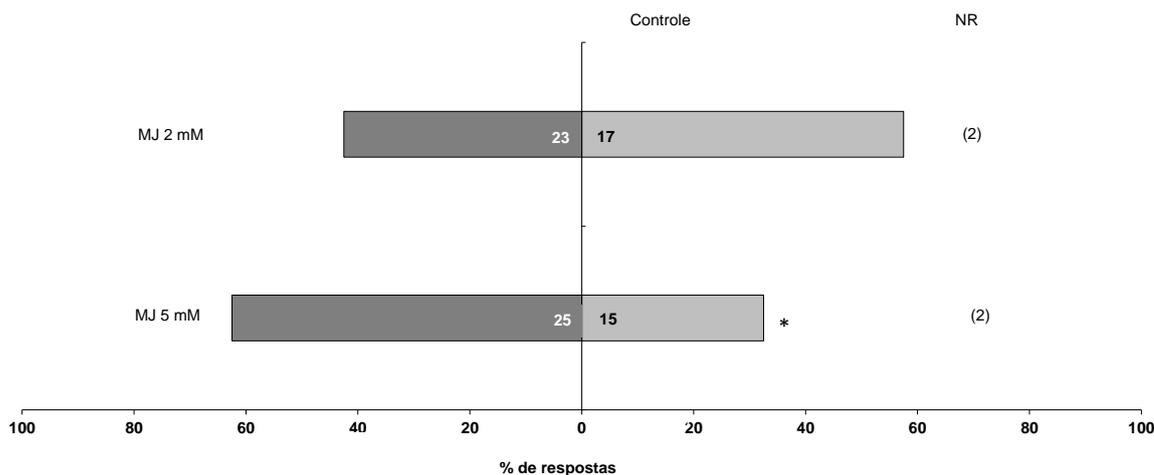


FIGURA 5. Respostas quimiotáticas (%) de fêmeas de *Trichogramma pretiosum* testadas em olfâmetro em Y a plantas de arroz tratadas 24 horas antes com metil jasmonato (MJ) em diferentes concentrações e contrastadas com água + etanol (controle). Valores nas barras indicam o número de insetos responsivos e, entre parênteses, os não responsivos (NR). Barra seguida de asterisco indica diferença significativa do tratamento com fitormônio em relação ao controle (χ^2 , $P < 0,05$).

3.4 Discussão

Lagartas de *S. frugiperda* tiveram menor ganho de peso quando se alimentaram tanto de folhas injuriadas como daquelas recém-emergidas, oriundas de plantas que tinham sido expostas à herbivoria previamente. Este resultado evidenciou a ocorrência de resistência local e sistêmica de plantas de arroz frente ao ataque deste herbívoro. Em bioensaio semelhante, Tan *et al.* (2011) observaram uma redução nas taxas relativas de crescimento de lagartas de *S. litura* quando foi oferecido a estas, folhas de tomateiro (Known-You 301) e de pimenteira (Known-You Green Star) de plantas previamente danificadas por este lepidóptero, em relação às não injuriadas.

Como as plantas normalmente apresentam respostas sistêmicas frente à herbivoria, os mecanismos de defesa química se manifestam em todas as suas partes, tanto nos órgãos vegetativos, como nos reprodutivos (Agrawal *et al.*, 2005). Esta resistência em escala sistêmica, assim como o constatado no presente estudo, também já tinha sido observada em arroz por Stout *et al.* (2009) em outras cultivares (“Rosemont”, “A301”, “Jackson”, e “Lemont”). De acordo com os autores, lagartas de *S. frugiperda* de quarto ínstar tiveram uma menor taxa de crescimento quando foram alimentadas com folhas de plantas que tinham sido previamente danificadas.

Estes resultados indicam que quando uma planta de arroz é exposta à herbivoria ela se torna mais resistente a um próximo ataque, podendo esta resistência continuar se expressando ao longo do crescimento da planta, mesmo na ausência do herbívoro. Um exemplo prático da ação dos mecanismos de defesa de plantas de arroz foi registrado por Kanoo *et al.* (2005) os quais constataram que plantas previamente infestadas com a cigarrinha *S. furcifera* tiveram uma menor incidência da doença fúngica causada pelo patógeno *Magnaporthe grisea* (B. Couch) do que as que não haviam sido infestadas, sendo o efeito mantido por um período de até 15 dias, mesmo na ausência deste hemíptero.

De acordo com Moraes (1998), a ativação de defesa das plantas é desencadeada com o contato de substâncias da secreção oral dos herbívoros durante a alimentação. Tan *et al.* (2011) complementam que este fato desencadeia um sistema de respostas onde há o acúmulo endógeno de fitormônios, em especial de ácido jasmônico, que é uma das principais

moléculas de sinalização para a expressão e emissão de compostos orgânicos voláteis do metabolismo secundário e de síntese de proteínas envolvidas na defesa das plantas, podendo causar repelência e/ou diminuição da palatibilidade de herbívoros.

Assim como a herbivoria, o tratamento de plantas com fitormônio também resultou na ativação dos mecanismos de defesa de plantas de arroz, evidenciado pelo menor ganho de peso de lagartas de *S. frugiperda*, ou seja, imaturos alimentados com folhas aspergidas com os fitormônios, com exceção do AS 16 mM, tiveram uma diminuição de ganho de peso de até 35% em relação ao consumo alimentar de folhas tratadas com água e etanol.

Houve um maior ganho de peso de lagartas que se alimentaram com folhas tratadas com água em relação as que foram expostas ao tratamento controle (água e etanol), evidenciando a ação do etanol na herbivoria. Este etanol também pode ser considerado um ativador dos mecanismos de defesa secundária de plantas (Adie *et al.*, 2007). Segundo os autores, o etanol pode agir de forma sinérgica ao AJ ativando as defesas da planta contra patógenos necrotróficos, no entanto, também pode ser antagonista as rotas do AS. Nakazato *et al.* (2000) observaram que a indução de enzimas associadas à defesa, como peroxidase, fitoalexinas e de lignina, podem ser ativadas por etileno, atuando na diminuição da herbivoria. Em trabalho com arroz Nakazato *et al.* (2000) evidenciaram o aumento na produção de fitoalexinas através da aplicação de metionina, substância precursora de etileno na planta.

Sendo assim, podemos inferir que o etanol presente no controle interferiu negativamente na alimentação das lagartas, atuando nos

mecanismos de defesa da planta. No entanto, este não foi o fator predominante nas respostas das lagartas na interação da planta com os fitormônios, pois houve um incremento significativo na diminuição de ganho de peso com a aplicação de MJ e AS (8 mM).

Tian *et al.* (2013) também haviam constatado que o ganho de peso de *H. zea* foi reduzido de 55 a 75% em quatro variedades de tomateiro tratadas com 2,5 mM de metil jasmonato. Boughton *et al.* (2006) observaram menor crescimento da população e menores índices de fecundidade de *Myzus persicae* Sulzer, 1776 (Hemiptera: Aphididae) em afídios expostos a tomateiros tratados com MJ 5 mM, em relação ao controle. A aplicação desta mesma concentração de jasmonato em arroz também resultou na indução de defesa de plantas, evidenciado pelo menor número de ovos de *Lissorhoptrus oryzophilus* Kuschel, 1951 (Coleoptera: Curculionidae) presentes em plantas nestas condições (Hamm *et al.*, 2010).

Em relação à *S. frugiperda*, a ação deterrente de plantas de arroz aspergidas com fitormônios registrada no nosso estudo vai ao encontro com os resultados observados por Stout *et al.* (2009) os quais encontraram uma redução média de 19,2% nas taxas de crescimento da lagarta-do-cartucho em *O. sativa* tratadas com os ácido jasmônico 2 mM em relação as que se alimentaram das plantas controle, previamente aspergidas com água e etanol. Sanches *et al.* (2017) observaram que os fitormônios também podem alterar a quimiotaxia de *S. frugiperda*, ou seja, os autores constataram, em testes de olfatométria, que lagartas preferiram plantas de cana-de-açúcar (*Saccharum*

officinarum) não tratadas, quando em contraste com as tratadas com 1 mM de AJ.

Resultados contraditórios aos registrados no presente estudo em arroz foram observados por Gordy *et al.* (2015). Segundo os mesmos, o ganho de peso de lagartas *S. frugiperda* com a aplicação de ácido jasmônico, 1 e 2 mM nas culturas de soja ('Clifford') e algodão ('LA1110017') foi reduzido quando contrastados com plantas não tratadas. Contudo, não observaram o mesmo em plantas de arroz ('CL131') e milho (*Zea mays*) ('Trucker's Favorite Yellow') expostas a estes tratamentos. De acordo com os autores, estas diferenças de respostas estão relacionadas à composição das camadas cuticulares entre dicotiledôneas e monocotiledôneas, sendo que as da última absorveriam menos os fitormônios. Como no nosso estudo a defesa das plantas de arroz foi ativada com a presença de fitormônios, provavelmente outros fatores tais como a concentração e tipo de hormônio utilizado, o tipo de cultivar, bem como, o tempo entre a aplicação do fitormônio e o teste (48 horas) em relação ao utilizado em nossos bioensaios (72 horas), podem ter sido fatores relevantes que justificariam as diferenças entre os resultados obtidos.

A aplicação de fitormônios pode simular mecanismos de defesa semelhantes à herbivoria, ou seja, estes compostos podem desencadear a síntese de proteínas de defesa, tais como, polifenol oxidase, peroxidase, inibidores de proteinase e lipoxygenase (Bhonwong *et al.*, 2008). Essas proteínas estão associadas com o aumento da resistência da planta aos herbívoros, tanto em relação aos mecanismos de não preferência, como os de antibiose, reduzindo a palatabilidade, desempenho e reprodução (Thaler *et al.*,

1996; Tremacoldi, 2009). Sendo assim, provavelmente, a diminuição de peso de *S. frugiperda* em plantas aspergidas com estes hormônios vegetais está relacionada à ativação de uma ou mais proteínas de defesa das plantas de arroz, as quais podem ter sido responsáveis pela diminuição da alimentação.

Bhonwong *et al.* (2008) observaram que a superexpressão do gene responsável pela biossíntese de polifenol oxidase em tomate resultou em maiores ganhos de peso e maior consumo de folhas por *Helicoverpa armigera* Hübner, 1809 (Lepidoptera: Noctuidae) e *Spodoptera exigua* Hübner, 1808 (Lepidoptera: Noctuidae) quando comparada às alimentadas por plantas controle (sem manipulação gênica). Além disso, plantas de arroz com a proteína *COI1* silenciada, necessária para a expressão de genes indutores da rota do ácido jasmônico, apresentaram menos inibidores de proteases, tornando-as mais palatáveis em relação a plantas não modificadas (Ye *et al.*, 2012).

Ao contrário do observado nos outros tratamentos com fitormônios, aplicação exógena de AS 16 mM não resultou em diminuição do ganho de peso de lagartas. É provável que o excesso de AS utilizado no nosso estudo possa ter prejudicado as rotas biossintéticas envolvidas no mecanismo de defesa direta das plantas de arroz em relação a *S. frugiperda*, uma vez que com 8 mM o resultado foi diferente. É importante enfatizar que a mesma concentração deste fitormônio foi utilizada por Freitas (2017) a qual constatou que o AS alterou a emissão de compostos orgânicos voláteis da planta de arroz nas cultivares BR-IRGA 409 e Cocodrie, avaliadas em diferentes estádios de desenvolvimento. Este tratamento induziu a emissão de salicilato de metila de

forma semelhante à herbivoria e modificou o comportamento ou desenvolvimento dos insetos em estudo, diminuindo a preferência do *T. limbativentris* a plantas de arroz, aumentando a atração de *T. podisi*, bem como, prolongando o tempo necessário para *Oebalus pugnax* Fabricius, 1775 (Hemiptera: Pentatomidae) atingir a fase adulta. Sendo assim, a concentração aplicada pode desencadear diferentes respostas em função dos organismos e fatores avaliados.

Convém salientar que o AS está associado a insetos sugadores e a fungos necrotróficos (Kawazu *et al.*, 2012; Schweiger *et al.*, 2014). Porém, através da aplicação exógena, este fitormônio também pode influenciar a alimentação de insetos mastigadores, possivelmente causadas pela indução de genes sinérgicos às rotas do MJ e AS. As rotas de sinalização de ácido salicílico e ácido jasmônico interagem antagonicamente em dicotiledôneas, mas em monocotiledôneas pouco se sabe sobre isto. Em bioensaios com arroz, Tamaoki *et al.* (2013) constataram que mais da metade dos genes regulados pelo AS também são regulados pelo AJ. Isto sugere que um sistema de defesa comum é ativado por ambas as rotas, sendo uma explicação para a efetividade na diminuição de ganho de peso em *S. frugiperda* com este fitormônio na concentração de 8 mM.

No presente estudo não foi constatada a defesa indireta de plantas de arroz após a herbivoria por *S. frugiperda*, ou seja, fêmeas de *T. pretiosum* não foram atraídas por plantas que sofreram herbivoria prévia, transcorridas até 72 horas da injúria. Freitas (2017) já tinha observado em bioensaios de olfatometria que o parasitoide *T. podisi* também não se direcionou de forma

positiva para plantas de arroz cv. BR-IRGA 409 previamente infestadas com *T. limbiventris* em relação às sadias.

Contudo, sabe-se que a herbivoria induz a emissão de uma mistura de voláteis de diferentes classes químicas pelas plantas que servem de pistas para os parasitoides, caracterizando uma defesa indireta de plantas (Fatouros, 2008; Moraes *et al.*, 2009; Willians *et al.*, 2017). Este tipo de defesa é desencadeado da mesma maneira que a direta, ou seja, ocorre um aumento de fitormônios endógenos na planta. Como consequência, há um incremento da produção de voláteis secundários que podem afetar o comportamento desses parasitoides (Tan *et al.*, 2011). Alguns desses compostos, como salicilato de metila e MJ, já foram testados a campo em plantas de brócolis (*Brassica oleracea*) e os resultados mostraram maior abundância de insetos da família Trichogrammatidae em relação a plantas sem as respectivas substâncias (Simpson *et al.*, 2010). Yuan *et al.* (2008) registraram que fêmeas *Cotesia marginiventris* Cresson, 1865 (Hymenoptera: Braconidae) foram significativamente mais atraídas por plantas de arroz previamente injuriadas por *S. frugiperda* em olfatômetro. Comportamento semelhante foi registrado para o parasitoide *A. nilaparvatae*, o qual foi mais atraído por plantas de arroz previamente infestadas pela cigarrinha marrom *N. lugens* do que as sem a presença deste inseto (Lou *et al.*, 2005).

Desta forma, a ausência de respostas de *T. pretiosum* observada neste estudo frente à herbivoria, pode estar associada a outras questões, como, por exemplo, o tipo de inseto avaliado e seu ínstar, a densidade da infestação, tempo de herbivoria e o período transcorrido entre o dano e a realização dos

testes. Por exemplo, o tempo de herbivoria no presente estudo foi de 24 horas e com duas lagartas por plantas. Guerrieri *et al.* (1999) observaram que plantas de feijão requereram um nível de infestação de 40 pulgões de *Acyrtosiphon pisum* Harris, 1776 (Hemiptera: Aphididae) e de, pelo menos, 48 a 72 h para produzir compostos orgânicos voláteis detectáveis a seu parasitoide *Aphidius colemani* Viereck, 1912 (Hymenoptera: Braconidae). Girling *et al.* (2011) em ensaios de olfatômetro com *B. oleracea* investigaram as respostas comportamentais do parasitoide *Cotesia vestalis* Haliday, 1834 (Hymenoptera: Braconidae) à compostos voláteis orgânicos de plantas que sofreram herbivoria em diferentes níveis de *Plutella xylostella* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Plutellidae) e *C. vestalis*. De acordo com os autores, 70% das fêmeas preferiram plantas infestadas com 10 larvas, em contraste com as que continham cinco.

Além disso, os compostos voláteis orgânicos de plantas induzidos por herbívoros são misturas complexas, variando de forma quantitativa e qualitativa entre espécies de plantas e dentro da mesma espécie (Poelman *et al.*, 2009). Assim, cada espécie e/ou cultivar tem sua especificidade em relação à produção de voláteis. A IRGA 424 não se mostrou atrativa após a herbivoria de *S. frugiperda*, o que pode ser uma característica desta cultivar de arroz para esta determinada espécie de hospedeiro, nas condições em que o experimento foi conduzido. Um exemplo da influência destes fatores na quimiotaxia de parasitoides foi registrado por Poelman *et al.* (2009). Os autores avaliaram a preferência de *Cotesia glomerata*, Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Braconidae) e *Cotesia rubecula* Marshall, 1994 (Hymenoptera: Braconidae) a três diferentes

cultivares de *B. oleracea* (Christmas Drumhead, Rivera, Badger Shipper), com e sem injúrias por *Pieris rapae* Linnaeus, 1758 (Lepidoptera: Pieridae). Segundo os mesmos, a cultivar mais atrativa foi a Christmas Drumhead previamente danificada. Este tratamento também foi o que evidenciou maiores índices de parasitismo de *P. rapae* a campo. Além disso, este foi o tratamento que apresentou as mudanças mais significativas nas concentrações de metil salicilato e outros compostos emitidos, na análise dos voláteis frente as outras cultivares.

Ao contrário do que se observou em relação à herbivoria, a aplicação exógena de fitormônios em plantas de arroz, de forma geral, influenciou de forma positiva a atração de fêmeas de *T. pretiosum*, quando as plantas foram avaliadas 72 h após a aplicação dos fitormônios. Este resultado indica uma mudança no perfil químico destas em resposta aos indutores de defesa. Isto não ocorreu para plantas controle quando contrastadas com água, ou seja, os voláteis liberados pelo arroz quando aplicado o etanol não gerou respostas de atratividade aos parasitoides. Assim, temos que os fitormônios que geraram as respostas quimiotáticas positivas ao *T. pretiosum*.

Respostas semelhantes em olfatômetro foram encontradas por Bruinsma *et al.* (2009) quando plantas não tratadas de couve foram contrastadas a plantas tratadas com AJ 1 mM, em túnel de vento. Os três parasitoides avaliados pelos autores, ou seja, *C. rubecula*, *C. glomerata* e *Diadegma semiclausum* Helleín, 1949 (Hymenoptera: Ichneumonidae), preferiram voláteis das plantas tratadas com este hormônio. O parasitoide de ovos *Telenomus podisi* Ashmead, 1893 (Hymenoptera: Platygasteridae) também preferiu plantas

tratadas com cis-jasmonato (CJ), uma derivado do ácido jasmônico, a plantas não tratadas de soja (*Glycine max*) (Moraes *et al.*, 2009). Bayram & Tongă (2018) avaliaram o efeito CJ aplicado em trigo a campo e constataram que plantas tratadas com este fitormônio atraíram mais parasitoides de afídeos e coccinelídeos do que as não aspergidas. Por outro lado, Williams *et al.* (2017), em algodão, não encontraram efeito do tratamento MJ no parasitismo de *T. podisi* em ovos de *Euschistus servus* Say, 1832 (Hemiptera: Pentatomidae).

Estes resultados evidenciam, mais uma vez, as especificidades existentes em sistemas tritróficos e deixam clara a relevância do tipo de espécie, de planta e de fitormônio em estudo em relação às respostas de defesa das plantas (Rodriguez-Saona *et al.*, 2014). Além disso, pouco se sabe sobre o tempo necessário entre aplicação e indução de resistência (direta e indireta), seja por elicitores, herbívoros ou danos mecânicos em relação à expressão genotípica das plantas. Sendo assim, mais estudos avaliando estes fatores devem ser desenvolvidos para responder tais questões.

Quando foram feitos bioensaios com as duas concentrações de metil jasmonato em plantas de arroz e a quimiotaxia do parasitoide avaliada 24 horas após o dano, constatou-se respostas positivas apenas para o MJ 8 mM, o que confirma a importância da concentração aplicada e o tempo de ação do composto nos mecanismos de defesa indireta da planta de arroz. Moraes *et al.* (2009) constataram que o parasitoide *T. podisi* preferiu plantas de soja com 96 horas após a aspersão com cis-jasmonato do que as com 72 horas, em relação às plantas controle. Essas diferenças de respostas provavelmente estão relacionadas as variações qualitativas e quantitativas dos voláteis produzidos

pelas plantas em relação ao tempo e a fatores associados com a percepção dos parasitoides a esses odores.

O uso de elicitores de resistência em plantas é uma estratégia promissora para o manejo de pragas. No entanto, é importante avaliar o impacto desta ferramenta nas populações de herbívoros e inimigos naturais em sistemas agrícolas específicos, bem como, a influência destes fitormônios nos fatores de rendimento da cultura em questão. O manejo criterioso de áreas cultivadas com a utilização destes compostos pode auxiliar na redução do uso de agrotóxicos, aumentando a sustentabilidade, principalmente em sistemas de produção orgânica e integrada.

3.5 Considerações finais

Os resultados deste estudo sugerem que o MJ (2 e 5 mM) e AS (8 mM) desempenham um papel importante na fisiologia de defesa da planta de arroz, tanto pelo efeito deterrente em lagartas de *S. frugiperda* (defesa direta), como pela maior atratividade de *T. pretiosum* a plantas submetidas a estes hormônios (defesa indireta).

É relevante salientar que este foi o primeiro trabalho a investigar a influência destes fitormônios na interação tritrófica (arroz - *S. frugiperda* - *T. pretiosum*). Por ter um caráter inovador, muitas questões ainda precisam ser avaliadas para validar sua implementação no manejo de pragas.

Ao longo deste trabalho foi possível observar que são muitos os fatores bióticos e abióticos que podem interferir nas interações tróficas com uso de fitormônios. Sendo assim, bioensaios de campo são necessários para que seja

possível mensurar o real impacto desta ferramenta nos níveis de infestação de diferentes tipos de praga da cultura, durante todos os estágios fenológicos da planta, bem como, a influência destas substâncias na presença e efetividade do controle de pragas por inimigos naturais. Além disso, é importante que sejam considerados os fatores de rendimento da cultura, com a aplicação destes indutores, para possibilitar a utilização criteriosa, através de uma análise do custo-benefício deste método.

3.6 Referências bibliográficas

- ADIE, B. et al. Modulation of plant defenses by ethylene. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v. 26, n. 2, p. 160-177, 2007.
- AGRAWAL, A. A. Future directions in the study of induced plant responses to herbivory. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 115, n. 1, p. 97-105, 2005
- BAYRAM, A.; TONGA, A. Cis -Jasmone treatments affect pests and beneficial insects of wheat (*Triticum aestivum* L.): the influence of doses and plant growth stages. **Crop Protection**, Guildford, v. 105, p. 70-79, 2018.
- BESERRA, E. B. B.; DIAS, C.T. S.; PARRA, J. R. P. Distribution and natural parasitism of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) eggs at different phenological stages of corn. **The Florida Entomologist**, Gainesville, v. 85, n. 4, p. 588-593, 2002.
- BHONWONG, A. et al. Defensive role of tomato polyphenol oxidases against cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*) and beet armyworm (*Spodoptera exigua*). **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 35, n. 1, p. 28-38, 2008.
- BOUGHTON, A. J.; HOOVER, K.; FELTON, G. W. Impact of chemical elicitor applications on greenhouse tomato plants and population growth of the green peach aphid, *Myzus persicae*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 120, n. 3, p. 175-188, 2006.
- BOWLING, C. C. Rearing of two lepidopterous pests of rice on common artificial diet. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v. 60, n. 6, p. 1215-1216, 1967.

- BRUINSMA, M. et al. Jasmonic acid-induced volatiles of *Brassica oleracea* attract parasitoids: effects of time and dose, and comparison with induction by herbivores. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 60, n. 9, p. 2575-2587, 2009.
- COUNCE, P. A.; KEISLING, T.C.; MITCHELL, A.J. A uniform, objective, and adaptative system for expressing rice development. **Crop Science**, Madison, v. 40, n. 2, p. 436-443, 2000.
- DURRANT, W. E; DONG, X. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 42, p. 185-209, 2004.
- FATOUROS, N. E. et al. Foraging behavior of egg parasitoids exploiting chemical information. **Behavioral Ecology**, Cary, v. 19, n. 3, p. 677-689, 2008.
- FERREIRA, E. Pragas e seu controle. In: SANTOS, A. B.; STONE, L. F.; VIEIRA, N. R. A. (Org.). **A cultura do arroz no Brasil**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 1999. p. 197-261.
- FIGUEIREDO, M.L.C. et al. Biological control with *Trichogramma pretiosum* increases organic maize productivity by 19.4%. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 35, n. 3, p. 1175-1183, 2015.
- FONSECA, J. R. et al. Recursos genéticos. In: SANTOS, A. B.; STONE, L. F.; VIEIRA, N. R. A. (Org.). **A cultura do arroz no Brasil**. 2. ed. rev. ampl. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006. cap. 8.
- FREITAS, T. F. S. **Ecologia química de pentatomídeos em *oryza sativa* (Poaceae)**: implicações no manejo com feromônio sexual sintético e nas interações tritróficas mediadas por fitormônios. 2017. 116 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017.
- GIRLING, R. D. et al. Parasitoids select plants more heavily infested with their caterpillar hosts: a new approach to aid interpretation of plant headspace volatiles. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, London, v. 278, n. 1718, p. 2646-2653, 2011.
- GLAZEBROOK, J. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 43, n. 1, p. 205-227, 2005.
- GORDY, J. W. et al. Comparative effectiveness of potential elicitors of plant resistance against *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) in four crop plants. **PLoS One**, São Francisco, v. 10, n. 9, p. 1-14, 2015.

GUERRIERI, E. et al. Induction and systemic release of herbivore-induced plant volatiles mediating in-flight orientation of *Aphidius ervi*. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 25, n. 6, p. 1247-1261, 1999.

HAMM, J. C.; STOUT, M. J.; RIGGIO, R. M. Herbivore- and elicitor-induced resistance in rice to the rice water weevil (*Lissorhoptrus oryzophilus* Kuschel) in the laboratory and field. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 36, n. 2, p. 192-199, 2010.

HARBORNE J. B. Classes and functions of secondary products, In: WALTON, N.J.; BROWN D.E. (Ed.). **Chemicals from plants: perspectives on secondary plant products**. London: Imperial College Press, 1999. p. 1-25.

KANNO, H. et al. Some aspects of induced resistance to rice blast fungus, *Magnaporthe grisea*, in rice plant infested by white-backed planthopper, *Sogatella furcifera*. **Applied Entomology and Zoology**, Tokyo, v. 40, n. 1, p. 91-97, 2005.

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

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

KO, K. et al. Evaluation for potential *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) strains for control of the striped stem borer (Lepidoptera: Crambidae) in the Greater Mekong subregion. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 107, n. 3, p. 955-963, 2014.

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

MARTINAZZO, T. et al. Liberação de *Trichogramma pretiosum* para controle biológico de *Spodoptera frugiperda* na cultura do milho. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Porto Alegre, v. 2, n. 2, p. 1657-1660, 2007.

MORAES, C. M. et al. Herbivore-infested plants selectively attract parasitoids. **Nature**, New York, v. 393, n. 6685, p. 570-573, 1998.

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

MOREIRA, X.; SAMPEDRO, L.; ZAS, R. Defensive responses of *Pinus pinaster* seedlings to exogenous application of methyl jasmonate: concentration effect and systemic response. **Environmental and Experimental Botany**, New York, v. 67, n. 1, p. 94-100, 2009.

NAKAZATO, Y. et al. Methionine-induced phytoalexin production in rice leaves. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, Tokyo, v. 64, n. 3, p. 577-583, 2000.

PARRA, J.R.P. Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para a produção de *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997. p. 121-150.

POELMAN, E. H. et al. Field parasitism rates of caterpillars on *Brassica oleracea* plants are reliably predicted by differential attraction of *Cotesia* parasitoids. **Functional Ecology**, Oxford, v. 23, n. 5, p. 951-962, 2009.

RODRIGUEZ-SAONA, C.; BLAAUW, B. R.; ISAACS, R. Manipulation of natural enemies in agroecosystems: habitat and semiochemicals for sustainable insect pest control. In: LARRAMENDY, M. L.; SOLONESKI, S. **Integrated pest management and pest control: current and future tactics**. London: IntechOpen, 2014. p. 89-127.

SÁ, L. A. N.; PARRA, J. R. P. Natural parasitism of *Spodoptera frugiperda* and *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) eggs in corn by *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in Brazil. **The Florida Entomologist**, Gainesville, v. 77, n. 1, p. 185-362, 1994.

SANCHES, P. A. et al. Direct and indirect resistance of sugarcane to *Diatraea saccharalis* induced by jasmonic acid. **Bulletin of Entomological Research**, Cambridge, v. 107, n. 6, p. 828-838, 2017.

SCHWEIGER, R. et al. Interactions between the jasmonic and salicylic acid pathway modulate the plant metabolome and affect herbivores of different feeding types. **Plant, Cell & Environment**, Oxford, v. 37, n. 7, p. 1574-1585, 2014.

SIMPSON, M. et al. Insect attraction to synthetic herbivore-induced plant volatile-treated field crops. **Agricultural and Forest Entomology**, Oxford, v. 13, n. 1, p. 45-57, 2010.

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

TAMAOKI, D. et al. Jasmonic acid and salicylic acid activate a common defense system in rice. **Plant Signaling & Behavior**, London, v. 8, n. 6, p. 1-3, 2013.

TAMIRU, A.; KHAN, Z. R. Volatile semiochemical mediated plant defense in cereals: a novel strategy for crop protection. **Agronomy**, Madison, v. 7, n. 3, p. 58-66, 2017.

TAN, C. et al. Methyl jasmonate induced responses in four plant species and its effect on *Spodoptera litura* Fab. performance. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, Taiwan, v. 14, n. 3, p. 263-263, 2011.

TIAN, D. et al. Roles of ethylene and jasmonic acid in systemic induced defense in tomato (*Solanum lycopersicum*) against *Helicoverpa zea*. **Planta**, Berlin, v. 239, n. 3, p. 577-589, 2013.

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

TREMACOLDI, C. R. **Proteases e inibidores de proteases na defesa de plantas contra pragas**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2009. 46 p.

WILLIAMS, L.; RODRIGUEZ-SAONA, C.; CONTE, S. C. C. Methyl jasmonate induction of cotton: a field test of the 'attract and reward' strategy of conservation biological control. **AoB Plants**, Oxford, v. 9, n. 5, p. 1-15, 2017.

YE, M. et al. Silencing COI1 in rice increases susceptibility to chewing insects and impairs inducible defense. **PLoS One**, São Francisco, v. 7, n. 4, p. 1-11, 2012.

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