

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

VOLÁTEIS LIBERADOS POR *Oryza sativa* L. E SUAS IMPLICAÇÕES NO
COMPORTAMENTO QUIMIOTÁXICO DE *Tibraca limbativentris* STAL. (HEM.,
PENTATOMIDAE) E PARASITÓIDES DE OVOS

Rita de Cássia de Melo Machado
Bióloga/Unilasalle

Dissertação apresentada como um dos requisitos
à obtenção do Grau de Mestre em Fitotecnia
Ênfase Entomologia

Porto Alegre (RS), Brasil
Março de 2011

CIP - Catalogação na Publicação

Machado, Rita de Cássia de Melo
Voláteis liberados por *Oryza sativa* L. e suas
implicações no comportamento quimiotático de *Tibraca*
limbatiiventris Stal. (Hem., Pentatomidae) e
parasitóides de ovos / Rita de Cássia de Melo
Machado. -- 2011.
ix, 81 f.

Orientador: Josué SantAna.
Coorientador: Maria Carolina Blassioli Moraes.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa
de Pós-Graduação em Fitotecnia, Porto Alegre, BR-RS,
2011.

1. Arroz. 2. Praga de planta. 3. Percevejo. I.
SantAna, Josué, orient. II. Moraes, Maria Carolina
Blassioli, coorient. III. Título.

RITA DE CÁSSIA DE MELO MACHADO
Bióloga - UNILASALLE

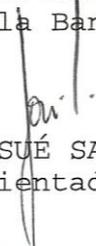
DISSERTAÇÃO

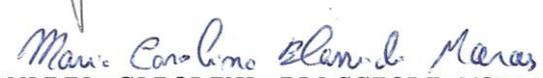
Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

MESTRE EM FITOTECNIA

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

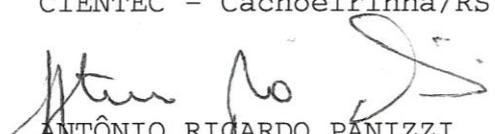
Aprovado em: 29.03.2011
Pela Banca Examinadora


JOSUÉ SANT'ANA
Orientador - PPG Fitotecnia

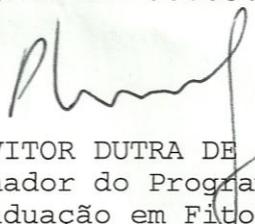

MARIA CAROLINA BLASSIOLI MORAES
Co-orientadora - EMBRAPA Recursos
Genéticos e Biotecnologia - Brasília/DF


LUIZA RODRIGUES REDAELLI
PPG Fitotecnia


LUIZ ANTÔNIO MAZZINI FONTOURA
CIENTEC - Cachoeirinha/RS


ANTÔNIO RICARDO PANIZZI
EMBRAPA Trigo
Passo Fundo/RS

Homologado em: 30.05.2011
Por


PAULO VITOR DUTRA DE SOUZA
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em Fitotecnia


PEDRO ALBERTO SELBACH
Diretor da Faculdade de
Agronomia

AGRADECIMENTOS

A Deus por permitir a realização deste sonho, e por me provar, mais uma vez, que tudo tem seu tempo.

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

Ao meu fiel companheiro, Diego pelo incentivo e compreensão nas horas de ausência.

Ao meu orientador, Dr. Josué Sant'Ana pela confiança, comprometimento e principalmente, pelo exemplo de profissionalismo.

À minha coorientadora, Dra. Maria Carolina Blassioli Moraes pela dedicação, solicitude e paciência.

Ao Msc. Jaime Vargas de Oliveira e à grande amiga Msc. Thaís Freitas por todo o auxílio na realização deste trabalho.

A toda a equipe do Laboratório de Semioquímicos de Insetos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, pela acolhida durante o tempo que estive em Brasília, principalmente aos pesquisadores Dr. Miguel Borges e Dr. Raúl Laumann pelas preciosas sugestões.

Aos colegas e professores do Laboratório de Biologia, Ecologia e Controle Biológico de Insetos pela convivência durante esses dois anos.

Aos amigos que conquistei durante o mestrado e aqueles que já faziam parte da minha vida antes, pela simples presença em todos os momentos, felizmente são tantos os nomes que se torna inviável listar todos.

À secretária do PPG- Fitotecnia, Marisa Carvalho Bello, pela atenção e carinho.

Ao CNPq pela bolsa concedida.

À UFRGS pelo curso oferecido.

A todos aqueles que de uma forma ou de outra contribuíram para o desenvolvimento desse trabalho.

VOLÁTEIS LIBERADOS POR *Oryza sativa* L. E SUAS IMPLICAÇÕES NO COMPORTAMENTO QUIMIOTÁXICO DE *Tibraca limbativentris* STAL. (HEM., PENTATOMIDAE) E PARASITÓIDES DE OVOS ¹

Autor: Rita de Cássia de Melo Machado

Orientador: Josué Sant'Ana

Coorientador: Maria Carolina Blassioli Moraes

RESUMO

O percevejo-do-colmo (*Tibraca limbativentris* Stal) é um dos insetos mais prejudiciais à cultura do arroz no Brasil, principalmente em cultivos irrigados. A estratégia de defesa da planta contra estes percevejos pode estar relacionada à emissão de compostos químicos, liberados após o ataque, prejudicando direta ou indiretamente o desempenho da praga. Desta forma, o trabalho objetivou identificar substâncias presentes nos extratos de plantas de arroz que sofreram ou não ataque do percevejo-do-colmo, bem como, as respostas comportamentais de adultos de *T. limbativentris* e dos parasitóides de ovos *Telenomus podisi* (Ashmead) e *Trissolcus basalís* (Wollaston) (Hymenoptera, Platygasteridae) a estes odores. Foram coletados voláteis de plantas da cultivar IRGA 417 sem dano e com dano de cinco adultos, machos e fêmeas do percevejo, por até 120 h. Os extratos foram analisados em cromatografia gasosa acoplada a detector de ionização de chamas (CG-DIC) e cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM). As respostas de machos e fêmeas de *Ti. limbativentris* e fêmeas dos parasitóides, foram avaliadas em olfatómetro "Y". Houve indução na liberação de compostos secundários, tais como alcoóis, aldeídos e terpenóides, após a herbivoria. Fêmeas de *Ti. limbativentris* foram significativamente atraídas por voláteis das plantas sem dano. Não houve diferença significativa entre os tratamentos em relação à preferência de machos aos odores. Quanto aos parasitóides, fêmeas de *Te. podisi* foram significativamente atraídas aos extratos de plantas danificadas por fêmeas do percevejo, enquanto que as de *Tr. basalís* responderam de forma indiferenciada aos voláteis de plantas danificadas por ambos os sexos. Supõe-se, desta forma, que as plantas de arroz liberam compostos de defesa, os quais induziram a antixenose em fêmeas de *Ti. limbativentris* atuando também na defesa indireta atraindo inimigos naturais.

¹ Dissertação de Mestrado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (81p.) Março, 2011.

VOLATILES RELEASED BY *Oryza sativa* L. AND ITS IMPLICATIONS FOR THE CHEMOTAXIC BEHAVIOR OF *Tibraca limbativentris* STAL. (HEM., PENTATOMIDAE) AND EGG PARASITOIDS¹

Author: Rita de Cássia de Melo Machado
Advisor: Josué sant'Ana
Co-advisor: Maria Carolina Blassioli Moraes

ABSTRACT

The rice stem bug (*Tibraca limbativentris* Stal) is one of the most important pests of rice plantations in Brazil, especially in irrigated fields. The plant's defensive strategy against these bugs may involve the emission of chemical compounds following herbivore attacks which directly or indirectly harm the pest's performance. The objective of this study was to identify the substances present in extracts of rice plants that had suffered herbivory by rice stem bugs and in unattacked plants, as well as the behavioral responses of *Ti. limbativentris* adults and the egg parasitoids *Trissolcus basal* and *Telenomus podisi* towards these odors. Plant volatiles were collected from the undamaged rice cultivar IRGA 417 and from the same cultivar exposed to five males and five females of *Ti. limbativentris* for up to 120 hours. The extracts were analyzed by GC-FID and GC-MS. The responses of male and female *Ti. limbativentris* and female egg parasitoids were evaluated in a "Y" olfactometer. Herbivory on rice plants by both sexes of *Ti. limbativentris* induced the release of secondary compounds such as alcohols, aldehydes and terpenoids. Female *Ti. limbativentris* were significantly more attracted to volatiles from undamaged plants, but males showed no preference. Female *Te. podisi* were significantly more attracted to the extracts of plants damaged by female rice stem bugs, while female *Tr. basal* responded indistinguishably to the volatiles from plants damaged by both sexes. It is hypothesized, therefore, that rice plants may be emitting defensive compounds, which induce the antixenosis in *Ti. limbativentris* females and may also provide indirect defense by attracting natural enemies.

¹ Master of Science dissertation in Agronomy, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (81p.) March, 2011.

SUMÁRIO	Página
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Cultura do arroz (<i>Oryza sativa</i> L.).....	3
2.1.1 Problemas fitossanitários da cultura	4
2.2 Percevejo-do-colmo (<i>Ti. limbativentris</i>)	6
2.2.1 Aspectos bioecológicos e morfológicos	6
2.2.2 Caracterização dos danos em arroz	10
2.2.3 Controle.....	11
2.2.4 Inimigos naturais.....	12
2.3 Interações inseto-planta	13
2.3.1 Mecanismos de defesa das plantas.....	14
2.3.1.1 Defesas físicas	15
2.3.1.2 Defesas químicas	15
3 MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1 Local.....	20
3.2 Plantas	20
3.3 Criação de <i>Ti. limbativentris</i>	21
3.4 Extração dos voláteis de planta	23
3.6 Análises químicas.....	25
3.7 Avaliações das respostas quimiotáticas	26
3.7.1 Bioensaios de olfatometria com <i>Ti. limbativentris</i>	26
3.7.2 Bioensaios de olfatometria com <i>Te. podisi</i> e <i>Tr. basalis</i>	28
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
4.1 Análises químicas.....	30
4.2 Avaliações das respostas quimiotáticas	41
4.2.1 Bioensaios de olfatometria com <i>Ti. limbativentris</i>	41
4.3.2 Bioensaios de olfatometria com <i>Te. podisi</i> e <i>Tr. basalis</i>	46
5 CONCLUSÕES	54
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	59
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
APÊNDICES	68

RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
1. Média da massa (μg) \pm EP dos compostos liberados a cada 24 h por plantas de arroz que não sofreram herbivoria (controle), sob o ataque de cinco machos (dano macho) ou cinco fêmeas (dano fêmea) de <i>Tibraca limbativentris</i> ao longo de 120 h de aeração.....	32

RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
1. Adultos de <i>Tibraca limbativentris</i> : A) fêmea; B) macho.....	8
2. Adultos de <i>Tibraca limbativentris</i> de cabeça para baixo em plantas de arroz.....	10
3. Cobertura de voile sobre armação de arame utilizada para proteção das plantas.....	21
4. Gaiolas de criação de <i>Tibraca limbativentris</i> confeccionadas com garrafas PET de 2 L sobre plantas de arroz.....	22
5. Caixas tipo Gerbox com os alimentos utilizados para criação das ninfas: A) frutos de <i>Ligustrum lucidum</i> ; B) vagem verde de feijão.....	22
6. Sistema utilizado para extração de voláteis de plantas de arroz. (A) 1) câmaras de aeração (B) 2) tubos de vidro contendo carvão ativado 3) adsorvente orgânico (Super Q).....	24
7. Olfatômetro: (A) 1) compressor de ar 2) fluxímetro 3) borbulhador 4) arena "Y" de vidro (B) 5) detalhe do papel filtro dobrado "em gaita", dentro de um das extremidades da arena.....	27
8. Cromatogramas dos extratos de aeração de plantas de arroz sem dano (A), com dano por herbivoria de fêmeas (B) e machos (C) de <i>Tibraca limbativentris</i> . Os números indicam os principais compostos identificados.) 4-metil-4-hidroxi-2-pentanona*, 2) (<i>E</i>)-2-hexenal, 3) NI**, 4) α -pineno, 5) canfeno, 7) 6-metil-5-hepten-2-ona (MHO), 8) decano, 9) octanal, 10) Limoneno, 11) 2-etil-hexanol*, 12) (<i>E</i>)-2-octenol* , 12) 3,5 octadien-2-ona*,13) linalol, 14) nonanal, 15) 2,6 dimetilciclohexanol*, 16) salicilato de metila (MeSA) 17) dodecano, 18) decanal, 19) benzotiazol, 20) 4-etilacetofenona, 21) tridecano, 22) undecanal, 23) α -cubebeno*, 24) tetradecano, 25) β -cariofileno, 26) NI, 27) 28) geranil acetona, 29) α -curcumeno, 30) zingiberene, 31) pentadecano, 32) α -muuroleno*, 33) β -bisaboleno, 34) β -sesquifelandreno.....	31

9. Números e percentagens de respostas comportamentais de ambos os sexos de <i>Tibraca limbativentris</i> aos extratos de plantas de arroz danificadas por machos (A) e fêmeas (B) coespecíficos aeradas por 24h.....	42
10. Números e percentagens de respostas comportamentais de ambos os sexos de <i>Tibraca limbativentris</i> aos extratos de plantas de arroz danificadas por fêmeas (A) e machos (B) coespecíficos aeradas por 48h.....	43
11. Números e percentagens de respostas comportamentais de fêmeas de <i>Telenomus podisi</i> aos extratos de plantas de arroz danificadas por fêmeas (A) e machos (B) de <i>Tibraca limbativentris</i> , aeradas por 48h.....	47
12. Números e percentagens de respostas comportamentais de fêmeas de <i>Telenomus podisi</i> aos extratos de plantas de arroz sem dano, aeradas por 48 h e hexano.....	48
13. Números e percentagens de respostas comportamentais de fêmeas de <i>Trissolcus basal</i> aos extratos de plantas de arroz danificadas por fêmeas (A) e machos (B) de <i>Tibraca limbativentris</i> aeradas por 48h.....	51
14. Números e percentagens de respostas comportamentais de fêmeas de <i>Trissolcus basal</i> aos extratos de plantas de arroz sem dano aeradas por 48 h e hexano.....	52

1 INTRODUÇÃO

As plantas desenvolveram ao longo da evolução diversos mecanismos físicos e/ou químicos de defesa contra o ataque de insetos herbívoros. Participa da defesa química, uma série de compostos decorrentes do metabolismo secundário, os quais podem atuar como atraentes ou repelentes de herbívoros, inimigos naturais e insetos polinizadores.

Os principais compostos de defesa derivados do metabolismo secundário podem ser enquadrados quimicamente nas classes de terpenóides, compostos nitrogenados e fenólicos. A especificidade dos compostos liberados depende do tipo de interação herbívoro-planta, a qual envolve a presença de indutores, principalmente compostos lipofílicos presentes nas secreções salivares dos insetos. A principal rota envolvida na ativação da maioria das defesas vegetais contra os insetos fitófagos é a rota do octadecanóide, que leva à produção de ácido jasmônico (AJ) a partir do ácido linolênico. Existem outros compostos de sinalização além do AJ, como etileno, ácido salicílico e salicilato de metila, que são induzidos após a herbivoria de insetos, sendo geralmente necessária a ação coordenada desses compostos de sinalização para a ativação completa de respostas de defesa induzida.

O percevejo-do-colmo (*Tibraca limbativentris* Stal) (Hemiptera: Pentatomidae) é um dos insetos mais prejudiciais à cultura do arroz (*Oryza sativa* L.) no Brasil, principalmente em cultivos irrigados. Em altas infestações, *Ti. limbativentris* pode provocar perdas consideráveis na produção, principalmente se o ataque ocorrer nas fases de pré-floração e formação dos grãos.

Apesar da importância desta espécie na cultura do arroz, as relações tróficas referentes aos mecanismos químicos de defesa da planta frente ao ataque do herbívoro, são desconhecidas.

Neste contexto, o presente estudo objetivou identificar as substâncias envolvidas na indução de defesa de plantas no sistema *Tibraca limbativentris*-arroz, bem como, as implicações da liberação destes voláteis na quimiotaxia de percevejos e nas interações tritróficas com os parasitoides de ovos, *Telenomus podisi* (Ashmead) e *Trissolcus basalus* (Wollaston) (Hymenoptera, Platygasteridae).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cultura do arroz (*Oryza sativa* L.)

O arroz (*Oryza sativa*) é uma gramínea anual, classificada no grupo de plantas C-3, adaptada a ambientes aquáticos devido à presença de aerênquima no colmo e nas raízes das plantas, possibilitando a passagem de oxigênio do ar para a camada da rizosfera (SOSBAI, 2010).

O ciclo de desenvolvimento do arroz pode ser dividido em três fases: a fase de plântula (semeadura até a emergência); a fase vegetativa (emergência até o aparecimento do colar da última folha no colmo principal) e a fase reprodutiva (diferenciação da panícula até a maturação fisiológica) (Counce *et al.*, 2000). A duração de cada fase depende, principalmente, da cultivar utilizada, época de semeadura, região de cultivo e das condições da fertilidade do solo. A duração do ciclo, para a maioria das cultivares comerciais, varia entre 100 e 140 dias (SOSBAI, 2010).

Os cereais, especialmente o arroz, o trigo e o milho, constituem a base da alimentação humana (Naves & Bassinello, 2006). Os cereais contribuem com aproximadamente 50% da ingestão energética e protéica da população (Young & Pellet, 1994). Estima-se que o arroz represente 21% da energia e 14% da proteína consumida mundialmente (Kennedy & Burlingame, 2003). Considerado o produto

de maior importância econômica em muitos países em desenvolvimento, é alimento básico para 2,4 bilhões de pessoas (Embrapa, 2008).

A forma mais consumida mundialmente é o arroz polido, considerado um alimento básico e essencial para uma dieta saudável (Embrapa, 2008). A estimativa da produção mundial do cereal na safra 2009/10 é de 710 milhões de toneladas (FAO, 2010). O Brasil é o maior produtor de arroz da América Latina e o décimo mundial (FAO, 2007) com uma produção anual entre 11 e 13 milhões de toneladas, participando com cerca de 82% da produção do MERCOSUL (SOSBAI, 2010). O cultivo do arroz está presente por todo território nacional, sendo a produção concentrada nas regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul, responsáveis por 74% de todo arroz produzido no país (Neves, 2007). No Rio Grande do Sul, a safra de 2009/10 teve uma produção de 6,7 milhões de toneladas (IRGA, 2010).

2.1.1 Problemas fitossanitários da cultura

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

Os arrozais são infestados por muitas espécies de insetos, podendo estes causarem perdas de 15 a 30% de produtividade (Martins *et al.*, 2009). De acordo

com os autores, estes organismos são enquadrados em dois grupos, no primeiro encontram-se os insetos-praga de solo, que danificam sementes, raízes e a parte basal de plantas na fase de pré-perfilhamento; no segundo os insetos-praga da parte aérea, que atacam colmos, folhas na fase vegetativa e panículas e grãos na fase reprodutiva.

Sementes e raízes são danificadas por larvas e adultos de coleópteros antes e/ou depois da inundação, já os colmos e folhas sofrem injúrias pela ação de insetos mastigadores, sugadores e raspadores, sendo os dois primeiros grupos mais importantes. Os grãos são atacados por um complexo de insetos sugadores que afetam diretamente a quantidade e a qualidade do produto (SOSBAI, 2010).

As principais espécies de percevejos ocorrentes na cultura do arroz pertencem à família Pentatomidae, na qual se destacam o *Oebalus poecilus* (Dallas) e o *Ti. limbativentris*. O primeiro é popularmente conhecido como percevejo-do-grão, encontra-se distribuído em todas as regiões produtoras de arroz do Brasil, possui vários hospedeiros alternativos e alimenta-se da parte aérea das plantas (Embrapa, 2008). Quando ocorrem após o florescimento, sugam os grãos alterando o estado de maturação fisiológica dos mesmos, o que os tornam estruturalmente enfraquecidos e quebradiços (Ferreira & Martins, 1984; Domiciano, 2001). A qualidade dos grãos pode ser afetada quando oito percevejos forem encontrados em 1000 panículas (Ferreira & Martins, 1984). Os danos são provocados por ninfas e adultos, sendo que, a cada inseto por metro quadrado há redução de 1% no rendimento de grãos (Oliveira *et al.*, 2010).

O percevejo-do-colmo, também conhecido como percevejo-marrom, percevejo-das-hastes ou percevejo-grande-do-arroz, é um dos insetos mais prejudiciais à cultura no Brasil, principalmente em cultivos irrigados (Ferreira *et al.*,

1986). A importância econômica deste inseto fica evidenciada pelo fato de ser o sistema irrigado responsável pela maior parte da produção nacional de arroz, com 1,3 milhão de hectares (Martins *et al.*, 2009).

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

2.2.1 Aspectos bioecológicos e morfológicos

As posturas de *Ti. limbativentris* contêm em média 16,6 ovos (Silva *et al.*, 2004). São inicialmente de coloração esverdeada e com a proximidade de eclosão vão escurecendo, os ovos possuem forma cilíndrica e medem aproximadamente 1 mm de comprimento e 0,8 mm de diâmetro (Ferreira *et al.*, 1997). Silva *et al.* (2004) observaram a duração do período embrionário de $6,9 \pm 1,2$ dias sob condições controladas de 26 °C, 60 % UR e 14 h de fotofase, sendo a viabilidade em torno de 90%. Resultado semelhante foi encontrado por Prando *et al.* (1993), onde os autores verificaram que o período embrionário teve uma duração média de 7,5 dias e viabilidade média de 98% ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 1\%$ UR e 14 h de fotofase).

A fase de ninfa passa por cinco ínstaes, com durações variáveis de acordo com a temperatura (Ferreira *et al.*, 1997). Botton *et al.* (1996) observaram em casa de vegetação, com condições ambientais não controladas, que a duração média em dias de *Ti. limbativentris* foi de 3,6; 6,1; 5,1; 5,2 e 10,6 para o primeiro ao quinto instar, respectivamente. Períodos mais prolongados foram registrados por Silva *et al.* (2004) a 26 °C, 60 % UR e 14 h de fotofase, nos quais a duração média foi de 5,5; 7,2; 10,4; 15,4 e 19,8 dias, para os cinco ínstaes em ordem crescente. Prando *et al.* (1993) observaram a duração para os cinco ínstaes, respectivamente de 3,0; 8,09; 10,7; 17,77 e 24,09 dias ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 1\%$ UR e 14 h de fotofase).

Ninfas de primeiro instar têm, em média, 1,5 mm de comprimento e 1,0 mm de largura, apresentam cabeça com antenas filiformes com quatro artículos, o

primeiro e o segundo segmentos do tórax são mais desenvolvidos que o terceiro e ambos de coloração marrom, o abdome possui três manchas marrons na linha média dorsal. No segundo ínstar apresentam 2,3 mm de comprimento e 1,5 mm de largura, em média. A antena assemelha-se ao 1º ínstar e possui pequenas pontuações claras na cabeça e tórax com três manchas na linha média dorsal do abdome. Ninfas de terceiro ínstar possuem, em média, 4,0 mm de comprimento e 2,2 mm de largura, cabeça marrom escura, tórax com pontuações marrons claras, abdome com três manchas dorsais de coloração marrom amarelada. As ninfas de quarto medem 5,5 mm de comprimento e 3,2 mm de largura, em média, apresentam cabeça e tórax com coloração branco amarelada, o abdome tem pontuações marrom claras nas faces dorsal e ventral. No último ínstar as ninfas apresentam, em média, 9,5 mm de comprimento e 6,5 mm de largura, cabeça branco amarelada com pontuações cinza escuras, tórax com superfície semelhante à da cabeça, as tecas alares são bem visíveis, o abdome é preto brilhante com manchas grandes no dorso (Ferreira *et al.* 1997).

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

Os adultos apresentam a cabeça triangular de coloração marrom com pontuação preta e bordas alaranjadas, olhos salientes marrons escuros contornados de branco amarelados, apresentam dois ocelos vermelho escuros localizados entre os olhos compostos. As antenas são do tipo filiforme, da mesma cor da cabeça, com cinco segmentos pilosos dos quais o terceiro é maior. O lábio tem 6,6 mm de comprimento, se estendendo um pouco além do terceiro par de

pernas, possui quatro segmentos marrons, sendo o último mais escuro. O tórax tem o pronoto bem desenvolvido, marrom com laterais amarelo brilhantes, é pontuado como as demais partes dorsais, os espinhos pronotais são pouco pronunciados, o escutelo é triangular com ápice semi-arredondado, a base apresenta três pontos, sendo um no meio e um junto a cada vértice. Os hemiélitros são do comprimento do abdome, cada um com um ponto amarelo no córion. As pernas são totalmente marrons com os tarsos dímeros nas formas jovens e trímeros nos adultos. O abdome é coberto pelo escutelo e hemiélitros, com parte do conexivo visível, este é marrom e possui quatro manchas pretas de cada lado. O corpo do adulto geralmente apresenta-se marrom claro na face dorsal e marrom escuro na face ventral, com uma mancha clara na margem do abdome (Ferreira *et al.*, 1997; Fernandes & Grazia, 1998).

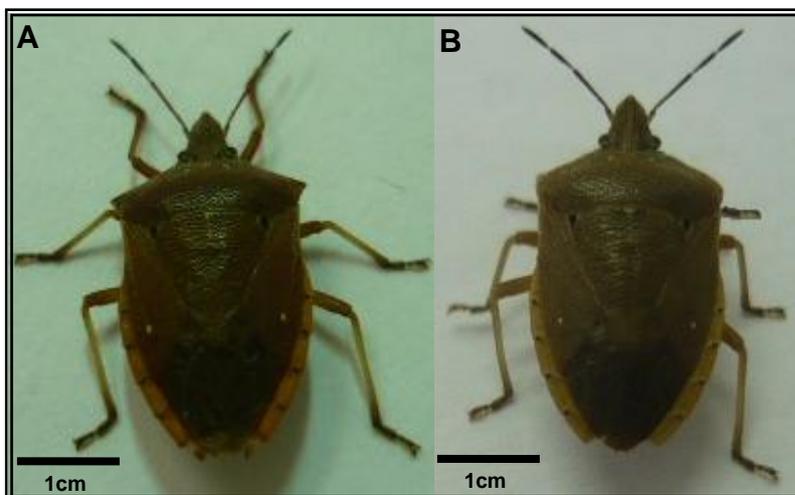


FIGURA 1. Adultos de *Tibraca limbativentris*: A) fêmea; B) macho

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

O percevejo-do-colmo hiberna no período de entressafra, em locais próximos ou dentro das lavouras, nas partes mais elevadas (Oliveira *et al.*, 2005). De acordo com os autores, os principais sítios hibernantes observados na região da depressão central do Rio Grande do Sul são o *Andropogon bicornis* L. (capim-rabo-de-burro) e o *Paspalum urvillei* Steudel (macegão), além de taipas contendo palhas de arroz e resteva.

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

Ti. limbativentris pode ocorrer em diferentes sistemas de cultivo de arroz, mesmo em condições climáticas e topográficas distintas. Este percevejo infesta lavouras, preferencialmente, em solo saturado, sem lâmina d'água oriunda da irrigação, sendo esta condição favorável para o crescimento populacional (Martins *et al.*, 2004a). Durante a fase vegetativa os insetos apresentam uma distribuição aleatória na lavoura, com a aproximação da fase reprodutiva, as novas gerações passam a apresentar distribuição agregada (Costa & Link, 1992b).

A constatação da ocorrência do inseto na lavoura e a adoção de medidas de controle são dificultadas devido ao fato de ficarem abrigados no meio dos colmos das plantas, próximo ao solo, posicionados de cabeça para baixo (Figura 2), comportamento este considerado característico da espécie durante a alimentação (Ferreira *et al.*, 1997). Nas horas mais quentes do dia, os percevejos encontram-se

na parte superior das plantas, caindo facilmente com o movimento da vegetação, fato que dificulta a sua visualização (Linck *et al.*, 2005).



FIGURA 2. Adultos de *Tibraca limbativentris* de cabeça para baixo em plantas de arroz.

2.2.2 Caracterização dos danos em arroz

Costa & Link (1992a) observaram que quando as infestações ocorrem no final da fase reprodutiva e início da fase de maturação, as perdas são maiores em termos qualitativos e quantitativos, uma vez que há um aumento no número de grãos quebrados e gessados. Este inseto pode atingir facilmente a condição de praga na cultura por causar danos severos às plantas, podendo reduzir em até 90% a produtividade de grãos (Ferreira *et al.*, 1997).

Insetos adultos e ninfas podem atacar as plantas tanto na fase vegetativa, quanto na fase reprodutiva, provocando os sintomas conhecidos como “coração morto” e “panícula branca”, respectivamente (Ferreira & Martins, 1984; Botton *et al.*, 1996; Ferreira *et al.*, 1997; Oliveira *et al.*, 2010). Os danos são oriundos da alimentação de adultos e ninfas a partir do segundo ínstar, os quais injetam saliva

nos colmos, provocando a morte do tecido interno da planta. Um período de 12 a 24 h de alimentação é suficiente para ocasionar os sintomas descritos anteriormente. No local onde o percevejo introduz os estiletes, observa-se um pequeno ponto de coloração marrom, internamente ocorre o estrangulamento do colmo, interrompendo o fluxo de seiva, resultando na morte deste, acima do ponto picado (Ferreira & Martins, 1984).

Segundo Costa & Link (1992b), o nível de dano econômico desta praga está associado à fase fenológica da planta. Os autores avaliaram a variedade IRGA 409 e observaram que durante as fases reprodutiva e vegetativa um percevejo/m² reduz a produção em 65,16 e 58,66 kg/ha, respectivamente. Em média, um percevejo por metro quadrado causa 1,2% de redução na produção de grãos (Oliveira *et al.*, 2010; SOSBAI, 2010).

2.2.3 Controle

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

A principal forma de controle de *Ti. limbativentris* ainda é o químico, os princípio ativos registrados no Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários (AGROFIT) para o controle desta praga na cultura do arroz são tiametoxam (neonicotinóide), ciflutrina (piretróide), lambda-cialotrina (piretróide) e malationa (organofosforado) (MAPA, 2010). Nos últimos anos, houve um aumento substancial na aplicação aérea de inseticidas no Rio Grande do Sul, devido principalmente ao seu baixo custo (inseticidas e equipamentos) em relação aos elevados índices de produtividade alcançados nas últimas safras (Martins *et al.*, 2009).

O uso irracional de inseticidas é o principal responsável pelo manejo inadequado das espécies pragas da cultura (Martins *et al.*, 2009), uma vez que estes produtos geralmente apresentam baixa seletividade sobre as populações de inimigos naturais (Petroski & Stanley, 2009). Rampelotti-Ferreira *et al.* (2010) demonstraram que alguns pesticidas utilizados na cultura do arroz afetam negativamente o desenvolvimento de isolados do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae*.

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

2.2.4 Inimigos naturais

Os parasitóides também podem agir como importantes agentes de controle natural de insetos na cultura do arroz, principalmente de percevejos (Martins *et al.*, 2004a). Riffel (2007) avaliando a ocorrência de parasitóides em posturas de *Ti. limbativentris* em arrozais localizados no estado de Santa Catarina, verificou a dominância de *Te. podisi* e *Trissolcus urichi* Crawford (Hymenoptera: Platygasteridae). Segundo a autora, 80% dos ovos com sintomas de parasitismo

coletados no estudo estavam parasitados por estas espécies. Estudo semelhante foi realizado por Maciel *et al.* (2007) no estado do Maranhão, no qual os autores observaram a ocorrência de três espécies de parasitóides, *Te. podisi*, *Tr. urichi* e *Oencyrtus submetallicus* Howard (Hymenoptera: Encyrtidae), com índice de parasitismo de 23,4%. Alguns entomopatógenos como *Beauveria bassiana* e *M. anisopliae* também podem estar presentes em lavouras de arroz diminuindo a população de todas as fases de desenvolvimento do percevejo-do-colmo (Rampelotti *et al.*, 2007; Martins *et al.*, 2004b).

2.3 Interações inseto-planta

Os insetos utilizam uma série de modalidades sensoriais para orientação e encontro com os hospedeiros (Loaiza & Céspedes, 2007). A visão é um importante mecanismo para a localização da planta hospedeira, sendo os principais estímulos a cor e a forma (Hardie *et al.*, 2001). A forma é muito variável ao longo do ano, a cor sofre menos variações, uma vez que a maioria das folhas é verde, embora a idade das plantas e a presença de patógenos possam exercer influência na coloração (Hardie *et al.*, 2001). Além disso, os padrões espaciais de distribuição e abundância de plantas hospedeiras podem influenciar fortemente na seleção de insetos fitófagos (Strong *et al.*, 1984).

As relações ecológicas dos insetos com diferentes organismos no ambiente ocorrem, principalmente, através da comunicação química, sendo o olfato o principal sentido nas distintas atividades relacionadas à sobrevivência das espécies (Vilela & Della-Lucia, 2001). Os compostos químicos envolvidos, denominados semioquímicos, são responsáveis por reações comportamentais específicas entre os indivíduos. Através da percepção e emissão dos semioquímicos os insetos encontram parceiros para o acasalamento, alimento, local de oviposição, se

defendem contra predadores e organizam suas comunidades. Os semioquímicos possuem duas classificações: feromônios, que são compostos mediadores de comunicação intraespecífica e aleloquímicos, substâncias que intermedeiam comportamentos de indivíduos de espécies diferentes. Os aleloquímicos possuem ainda, três classificações, kairomônios, que são infoquímicos que beneficiam o receptor do sinal e prejudicam o emissor, os allomônios que beneficiam o emissor e prejudicam o receptor e sinomônios que são infoquímicos que beneficiam o emissor e o receptor do sinal (Corrêa & Sant'Ana, 2007; Zarbin *et al.*, 2009). Os insetos fitófagos localizam os seus hospedeiros guiados, principalmente, pelos aleloquímicos liberados pelas plantas (Finch, 1986; Baur *et al.*, 1998; Dicke & Van Loo, 2000).

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

2.3.1 Mecanismos de defesa das plantas

As plantas representam a maior fonte de energia e nutrientes para uma gama de herbívoros e patógenos e, diferentemente de seus inimigos naturais, não possuem a capacidade de deslocamento, sendo assim, a forma de adaptação às adversidades ambientais é através de uma auto-proteção (Heil, 2010) desenvolvida por meio dos mecanismos de defesas físicas e químicas (Taiz & Zeiger, 2009).

2.3.1.1 Defesas físicas

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

2.3.1.2 Defesas químicas

Uma das formas de proteção das plantas contra o ataque de herbívoros é a defesa direta, caracterizada pela produção de compostos que interferem diretamente no desempenho comportamental, alimentar e/ou reprodutivo do inseto (Dicke, 1994). Estas substâncias são oriundas do metabolismo secundário e podem ser aminoácidos não protéicos, saponinas, lectinas, proteínas inativadoras de ribossomos (RIPs), quitinases, glucanases, flavonóides (Bowles, 1990), alcalóides, glucosinolatos, terpenóides e compostos fenólicos, além disto, as plantas também podem se proteger de herbívoros através da produção de inibidores de proteinase e compostos voláteis com ação repelente (Heil, 2010).

O principal mecanismo envolvido na ativação da maioria das defesas químicas contra insetos fitófagos é a rota do octadecanóide, que leva à produção de ácido jasmônico (AJ) a partir do ácido linolênico (Kessler *et al.*, 2004) que é liberado dos lipídeos da membrana plasmática (Taiz & Zeiger, 2009). O AJ é um hormônio vegetal que induz a expressão de vários genes que estão relacionados com a defesa das plantas contra situações de estresse (Soares & Machado, 2007).

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

Diversos trabalhos demonstraram a ação dos mecanismos de defesa das plantas contra a herbivoria (Turlings *et al.*, 1990; De Moraes *et al.* 1998; Turlings *et al.*, 1998; Dicke & Van Loom, 2000; Hoballah & Turlings 2001; Kessler & Baldwin 2001), porém são poucos os trabalhos com insetos fitossuccívoros (Moraes *et al.* 2005; Williams *et al.* 2005). Williams *et al.* (2005) observaram que plantas de milho (*Zea mays* L.) danificadas por *Nezara viridula* L. (Hemiptera: Pentatomidae) emitem grandes quantidades do monoterpene linalol, dos sesquiterpenos (*E*)- β -cariofileno, α -*trans*-bergamoteno e (*E,E*)- β -farneseno e do homoterpene (3*E,7E*)-4,8,12-trimetiltrideca-1,3,7,11-tetraeno. Segundo os autores, os danos causados pela alimentação de fêmeas desencadeiam uma maior emissão destes voláteis, em comparação com danos provocados por machos e ninfas.

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

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

A emissão dos voláteis induzidos por herbivoria também pode ser usada pelas plantas como uma estratégia de defesa, conhecida como indireta, os quais sinalizam aos inimigos naturais, a presença de sua presa/hospedeiro (Dicke, 1994; Dicke & Van Loom, 2000). Os voláteis responsáveis por esta sinalização são denominados HIPV's (*Herbivore-Induced Plant Volatiles*) e são liberados após a herbivoria no local do dano ou sistematicamente na planta (Dicke & Baldwin, 2010). A maioria destes compostos está nas classes dos GLV's (*Green Leaf Volatiles*) e terpenóides (Halitschke *et al.*, 2008; Arimura *et al.*, 2009).

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

Colazza *et al.* (2004a) induziram o dano de herbivoria provocado pelo percevejo *N. viridula* em leguminosas (*V. faba* e *P. vulgaris*) e observaram que plantas danificadas pela alimentação ou pela presença de posturas desta espécie emitiram maiores quantidades de linalol, (*E*)- β -cariofileno, (3*E*,7*E*)-4,8,12 trimetitridecal-1,3,7,11 tetraene, e (3*E*)-4,8-dimetilnona-1,3,7-trieno em comparação com plantas sem dano. Além disso, foi observado que fêmeas do parasitóide *Trissolcus basalis* são mais atraídas por extratos contendo (*E*)- β -cariofileno, sendo

esta substância considerada sinônimo para *Tr. basalis*. A produção destes compostos é influenciada pela idade das posturas, as quais exercem maior atratividade sobre os parasitóides com, aproximadamente, 72-96 h de idade, após este período as ninfas começam a eclodir e não são mais atrativas aos parasitóides (Colazza *et al.*, 2004b).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local

Os trabalhos referentes à coleta e identificação de extratos de plantas de arroz foram realizados na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, CENARGEN/Brasília, Laboratório de Semioquímicos de Insetos. As demais etapas foram executadas na Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Laboratório de Biologia, Ecologia e Controle Biológico de Insetos.

3.2 Plantas

Plantas e sementes da cultivar IRGA- 417 foram fornecidas pelo Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA), sediado em Cachoeirinha, RS. A semeadura foi realizada em substrato comercial Plantmax[®] adubado com NPK 5-20-20, em potes plásticos de 500 mL, com irrigação diária. As plantas receberam, quinzenalmente, adubação foliar a partir do décimo quinto dia após a emergência. Os vasos foram mantidos, nos meses de outono e inverno em câmaras de crescimento ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; fotofase de 14 h) e durante as demais estações, em casa-de-vegetação sob condições ambientais não controladas. O plantio foi efetuado semanalmente ao longo dos experimentos. Em todos os bioensaios foram utilizadas plantas com idade de 30 dias e aproximadamente 20 cm de altura. Todas as plantas foram

cobertas com tecido voile sobre uma armação de arame com 40 cm de altura e 20 cm de diâmetro (Figura 3).



FIGURA 3. Cobertura de voile sobre armação de arame utilizada para proteção das plantas.

3.3 Criação de *Ti. limbativentris*

Foi estabelecida uma criação de *Ti. limbativentris* a partir de adultos e ninfas provenientes de lavouras de arroz irrigado do estado no município de Eldorado do Sul (30°02'S; 51°23'WGR). Os adultos foram mantidos em sala climatizada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; $60 \pm 10\%$ UR; fotofase de 16 h) e colocados em gaiolas confeccionadas com garrafas PET de 2 L, cortadas nas laterais e cobertas com tecido do tipo voile (Figura 4) com touceiras de arroz (IRGA-417), as quais serviam de substrato de alimentação e oviposição.

Insetos jovens, em instares semelhantes, foram criados em caixas tipo Gerbox de 11 cm x 11 cm x 3 cm, forradas com papel filtro, e receberam como alimentação frutos de *Ligustrum lucidum* Ait. (Figura 5A) e vagens verdes de feijão (*P. vulgaris*) (Figura 5B) seguindo a metodologia adaptada de Silva *et al.* (2006). A

troca do papel filtro, bem como das fontes alimentares eram efetuadas três vezes por semana.



FIGURA 4. Gaiolas de criação de *Tibraca limbativentris* confeccionadas com garrafas PET de 2 L sobre plantas de arroz.

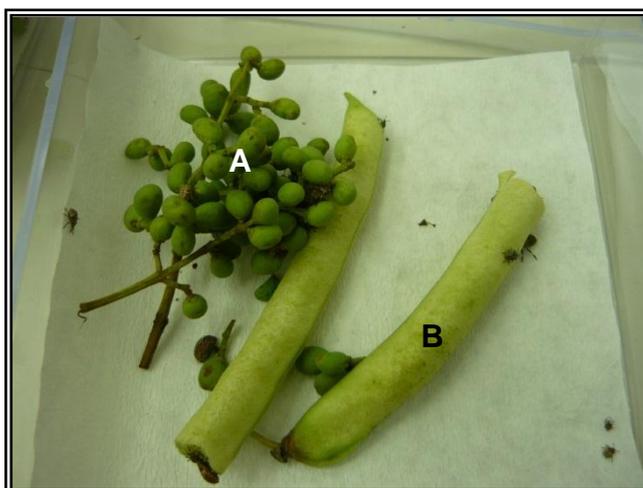


FIGURA 5. Caixas tipo Gerbox com os alimentos utilizados para criação das ninfas: A) frutos de *Ligustrum lucidum*; B) vagem verde de feijão

As gaiolas eram monitoradas diariamente para manutenção e verificação da presença de posturas. As folhas com ovos eram retiradas e colocadas em caixas Gerbox com um pedaço de algodão embebido em água destilada, mantidas em sala climatizada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; $60 \pm 10\%$ UR; fotofase de 16 h). Quando as ninfas

atingiam o segundo ínstar, o algodão era substituído pelas fontes de alimento já descritas e após atingirem a fase adulta eram transferidas para as gaiolas de criação.

3.4 Extração dos voláteis de planta

Para a coleta de voláteis foram utilizadas plantas de arroz com 30 dias de idade (estádio V8) (SOSBAI, 2010) plantadas em vasos envoltos com papel alumínio e individualizadas em câmaras de aeração, confeccionadas com cilindros de vidro os quais tinham um volume interno de 10 L (Figura 6A). Foram coletados simultaneamente voláteis de plantas sem dano por herbivoria e plantas sobre ataque de cinco machos ou cinco fêmeas de *Ti. limbativentris*, totalizando três tratamentos e nove repetições por tratamento.

No sistema de aeração o ar (purificado em filtros de carvão ativado) era impulsionado para dentro das câmaras através de compressor de ar com vazão de 1L/min por câmara (Figura 6B). Uma bomba de vácuo, por sua vez, com uma vazão de 0,8 L/min, forçava o ar a passar por um tubo de vidro com 8 cm de comprimento e 0,7 cm de diâmetro contendo 60 mg do polímero adsorvente Super Q[®] (Alltech 80/100 mesh; Alltech Associates Inc., Deerfield, IL) (Figura 6B). Todos os adsorventes orgânicos foram pré-condicionados por dessorção química através da adição de diclorometano (2 mL) e dessorção térmica a 135°C sobre fluxo de N₂ por 24 h. Todo o sistema era conectado com o auxílio de tubos de politetrafluoretileno (PTFE) (Figura 6).

As plantas foram aeradas por cinco dias consecutivos e a eluição dos compostos foi conduzida a cada 24 h, obtendo-se, desta forma, extratos com 24, 48, 72, 96 e 120 h de aeração. A eluição foi realizada com 500 µL de hexano destilado (pureza 99,8%) o extrato foi então armazenado em vials com capacidade

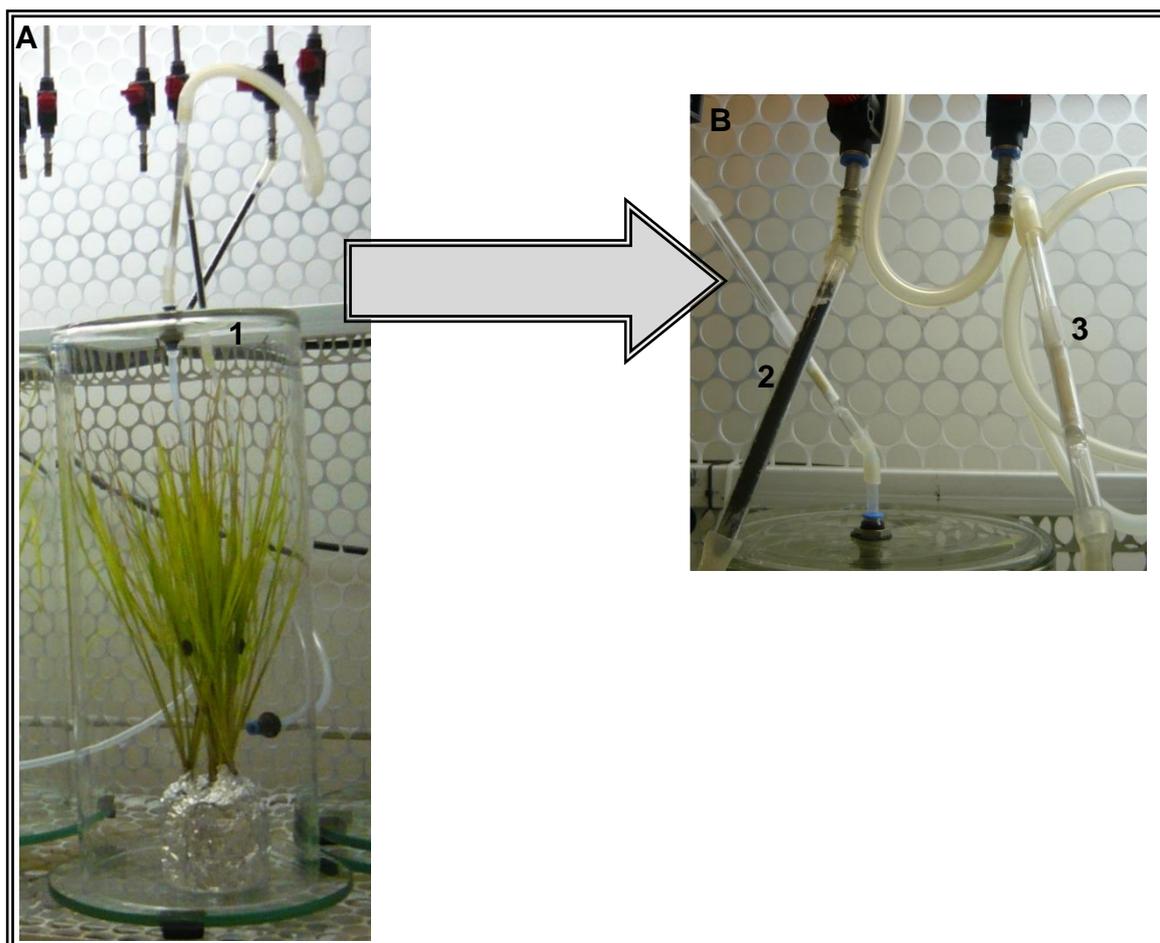


FIGURA 6. Sistema utilizado para extração de voláteis de plantas de arroz. (A) 1) câmaras de aeração (B) 2) tubos de vidro contendo carvão ativado 3) adsorvente orgânico (Super Q).

de 2 mL. Após este procedimento, a amostra coletada foi pré-concentrada a 100 μL através de um fluxo de N_2 . Os extratos foram mantidos sob refrigeração a $-20\text{ }^\circ\text{C}$.

Após a eluição, os tubos com adsorventes foram pré-condicionados por duas horas, antes de serem colocados novamente na câmara de aeração, seguindo o mesmo procedimento descrito anteriormente.

Para as análises de cromatografia gasosa acoplada a detector por ionização de chamas (CG-DIC) e cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) uma alíquota de 20 μL de cada extrato foi separada e nesta adicionou-se 2 μL do padrão interno Tetracosano (1 mg/ml) ($\text{C}_{24}\text{H}_{50}$) (Fluka

Analytical, Steinheim, 98% de pureza). Aos 80 μL restantes do extrato foram adicionados 100 μL de hexano.

3.6 Análises químicas

Os extratos foram injetados em CG-DIC (Shimadzu 17A, coluna DB-5, comprimento 30 m x diâmetro interno 0,25 mm x espessura do filme 0,25 μm ; JandWScientific, Folsom, CA, USA) através de um auto-injetor (AOS-Shimadzu), modo splitless e hélio como gás de arraste. A temperatura inicial da rampa foi de 50°C por 2 minutos com um aumento gradual 5 °C/min até a temperatura 180 °C, seguido de um segundo aumento gradual de 10 °C/min até 250 °C por 20 min. A temperatura do detector foi de 270 °C e a do injetor foi 250°C. Os dados foram coletados através do software Class-CG e processados com o software Origin 5.0 (Originlab Corporation, Northampton, MD, USA). A quantificação dos compostos, em cada período de 24h, foi relativa à área do padrão interno (Tetracosano concentração final de 0,01 mg/mL).

Para análise qualitativa dos compostos, amostras foram injetadas em um cromatógrafo gasoso acoplado a um detector seletivo de massas (Agilent 5975 MSD) com ionização por impacto de elétrons (energia de ionização de 70 eV) com analisador quadrupolar. Os extratos também foram injetados no modo splitless e hélio foi usado como gás de arraste. O programa de temperatura e a coluna foram idênticos aos usados na análise por CG-DIC. O padrão de fragmentação dos compostos foi comparado com do padrão dos dados da biblioteca de espectro de massas (NIST-Wileydatabase, 2000). As identificações, quando possível foram confirmadas por comparação dos tempos de retenção e espectros de massas com padrões autênticos e cálculo dos índices de Kovats. Para cálculo do índice de retenção de Kovats, uma mistura de padrões de alcanos (C9 a C24) foi usada, 1 μL

da solução injetado no CG-EM nas mesmas condições cromatográficas descritas anteriormente (Apêndice 1).

3.7 Avaliações das respostas quimiotáticas

3.7.1 Bioensaios de olfatométrica com *Ti. limbativentris*

Foram avaliadas as respostas de um grupo de machos e fêmeas virgens, oriundos da criação em laboratório, com idade entre 15 e 30 dias e outro de machos e fêmeas com idade e status de cópula desconhecidos, procedentes de lavoura de arroz do município de Eldorado do Sul (30°05'02"S, 51°36'57"O) coletados durante todo o desenvolvimento da cultura. Antes do início dos experimentos todos os insetos foram individualizados em caixas tipo Gerbox e mantidos desta forma, durante 24 h sem receber alimentação.

O comportamento de *Ti. limbativentris* foi observado em olfatômetro "Y" de vidro de dupla escolha, com diâmetro de 4 cm, arena inicial de 17 cm, bifurcada em dois braços de 22 cm cada (Figura 7A). Os testes foram conduzidos em sala climatizada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$ e $60 \pm 10\%$ UR) durante a fotofase sob luz fluorescente (60W, luminância igual a 290 lux). O fluxo de ar, previamente filtrado com carvão ativo, foi conduzido para dentro do sistema com o auxílio de um propulsor conectado a um fluxímetro, a uma taxa de 0,79 L/min (Figura 7A).

Antes do início dos experimentos, os insetos foram aclimatados por 1 h na sala de testes. Após este período, machos ou fêmeas, individualmente, foram acondicionados na extremidade inicial da arena com o auxílio de um pincel número 10. Os insetos foram submetidos à escolha entre dois tratamentos (extratos de plantas com ou sem herbivoria), posicionados nas extremidades de cada braço da arena. Alíquotas de 20 μL de extratos das plantas que sofreram herbivoria por machos ou fêmeas durante 24 e 48 h foram contrastadas com extrato de plantas

sem dano (controle) aeradas pelos mesmos períodos de tempo. Os tratamentos foram impregnados em papel filtro de dimensões 1,5 X 12 cm dobrado em forma de gaita. Aguardaram-se 5 min para evaporação do solvente, e então o papel foi posicionado em uma das extremidades do olfatômetro (Figura 7B).

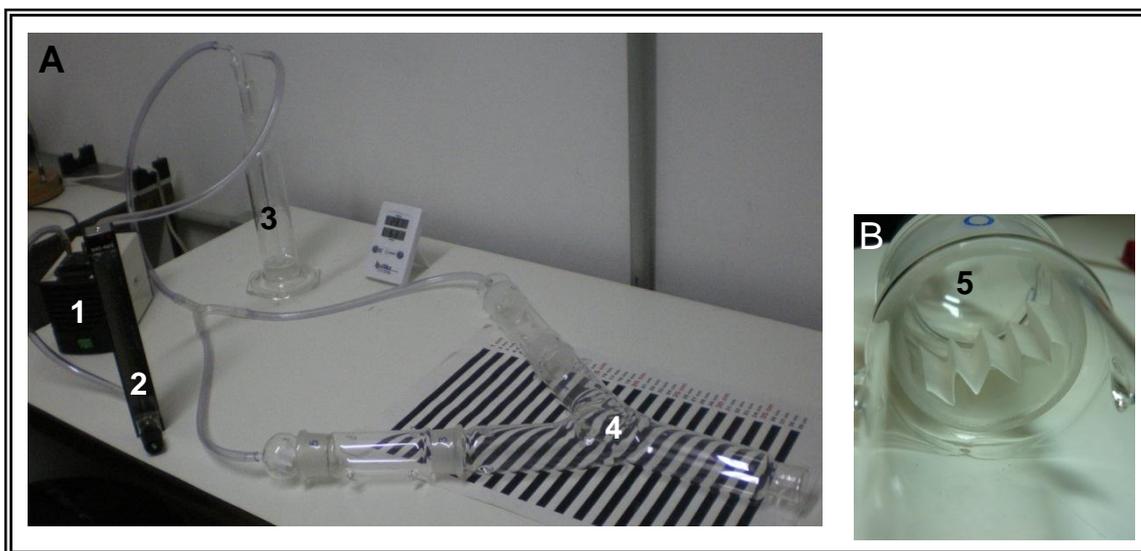


FIGURA 7. Olfatômetro: (A) 1) compressor de ar 2) fluxímetro 3) borbulhador 4) arena “Y” de vidro (B) 5) detalhe do papel filtro dobrado “em gaita”, dentro de um das extremidades da arena.

As respostas foram consideradas positivas quando os insetos percorreram, pelo menos, 4 cm dentro dos braços contendo os tratamentos e permanecerem nesta área por, no mínimo, 1 min. Foram considerados não responsivos os insetos que não se movimentaram nos primeiros 10 min. ou quando não percorreram pelo menos 4 cm em nenhum dos dois braços da arena, em 15 min.

A arena foi invertida (rotação de 180°), a cada três repetições e a cada seis, foi lavada com sabão neutro e hexano, e posteriormente seca em estufa de esterilização a 150 °C. Após este procedimento, os papéis filtro, contendo os extratos de plantas, foram renovados. Foram realizadas, no mínimo, 30 repetições para cada tratamento e cada inseto foi observado por no máximo 15 min.

3.7.2 Bioensaios de olfatometria com *Te. podisi* e *Tr. basalis*

Cartelas contendo posturas de *E. heros* e *N. viridula* parasitadas por *Te. podisi* e *Tr. basalis* foram fornecidas pelo Dr. Adeney de Freitas Bueno da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Soja, sediada em Londrina, RS.

As posturas foram mantidas em câmara climatizada do tipo B.O.D sob condições controladas ($21 \pm 1^\circ\text{C}$ e $60 \pm 10\%$ UR fotofase 14 h) até a emergência. Os insetos foram acondicionados em garrafas PET de 500 mL com o fundo removido e substituído por parafilme, mantidos sob as mesmas condições das posturas até a realização dos bioensaios. Para a alimentação dos parasitoides, perfurou-se o parafilme com uma agulha histológica impregnada com mel puro.

Foram avaliadas fêmeas, de ambas as espécies, com idade entre 2 e 6 dias. Antes do início dos testes os insetos foram individualizados e aclimatados, por 1 h em tubos de vidro com 0,5 cm de diâmetro e 3,5 cm de comprimento.

Foi utilizado olfatômetro "Y" de vidro de dupla escolha, com diâmetro de 1 cm, arena inicial de 15 cm, bifurcada em dois braços de 17 cm cada. Os testes foram conduzidos em sala climatizada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$ e $60 \pm 10\%$ UR) durante a fotofase sob luz fluorescente (60W, luminância igual a 290 lux). O fluxo de ar, previamente filtrado com carvão ativo, foi conduzido para dentro do sistema com o auxílio de um propulsor conectado a um fluxímetro, a uma taxa de 0,79 L/min.

O protocolo experimental foi semelhante ao descrito no item 3.7.1. No entanto, neste bioensaio somente foram utilizados extratos de plantas aeradas por 48 h. Foram contrastadas as respostas dos parasitoides aos extratos de plantas sem danos, tanto com voláteis liberados por plantas danificadas por machos como por fêmeas. Também se registrou a quimiotaxia destes organismos ao extrato de plantas não danificadas em relação ao solvente hexano. O volume estado foi de

10 μ L impregnados em papel filtro de dimensões 1 X 6 cm. Foram realizadas, no mínimo, 30 repetições para cada tratamento, com inversão da arena a cada duas repetições. Cada inseto foi observado por até 10 min.

3.8 Análises estatísticas

Para a análise das concentrações dos compostos liberados pelas plantas nos diferentes tratamentos foram calculadas médias, variâncias e erros padrões, sendo os resultados comparados pelo teste de Kruskal Wallis e submetidos ao contraste de Dunn, com 95% de confiabilidade.

Nos experimentos comportamentais, os dados foram comparados pela análise do Qui-quadrado, com 95% de confiabilidade, através do software Bioestat® 5.0.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análises químicas

Os perfis cromatográficos dos extratos de plantas de arroz, de um mesmo tratamento, após 24, 48, 72, 96 e 120 horas de aeração foi semelhante, não havendo diferenças significativas em relação à quantidade de substâncias liberadas ($P > 0,05$). No entanto, foram observadas diferenças quantitativas nos extratos obtidos através da aeração de plantas de arroz com e sem dano por *Ti. limbativentris* (Figura 8).

As substâncias liberadas em maior quantidade por plantas que sofreram herbivoria por machos e/ou fêmeas em relação ao controle (sem herbivoria) estão listadas na Tabela 1.

A quantidade observada de (*E*)-2-hexenal (Apêndice 2) foi maior tanto em plantas atacadas por machos como por fêmeas em comparação ao controle, não diferindo entre os sexos ($H = 15,11$; $gl = 2$; $P < 0,05$) (Tabela 1).

Este aldeído é comumente encontrado em diversas espécies vegetais como soja (Moraes, 2008b), alfafa (Blackmer *et al.*, 2004), milho e feijão (Turlings *et al.*, 1990; 1998; Colazza *et al.*, 2004a). Apesar de estar presente em algumas espécies de Heteroptera (Aldrich, 1988; Moraes *et al.*, 2008c), não ocorre em *Ti. limbativentris* (Borges *et al.*, 2006), sustentando a hipótese de que o aumento na produção deste composto após o dano pode estar relacionado com a indução de defesa das plantas contra herbivoria.

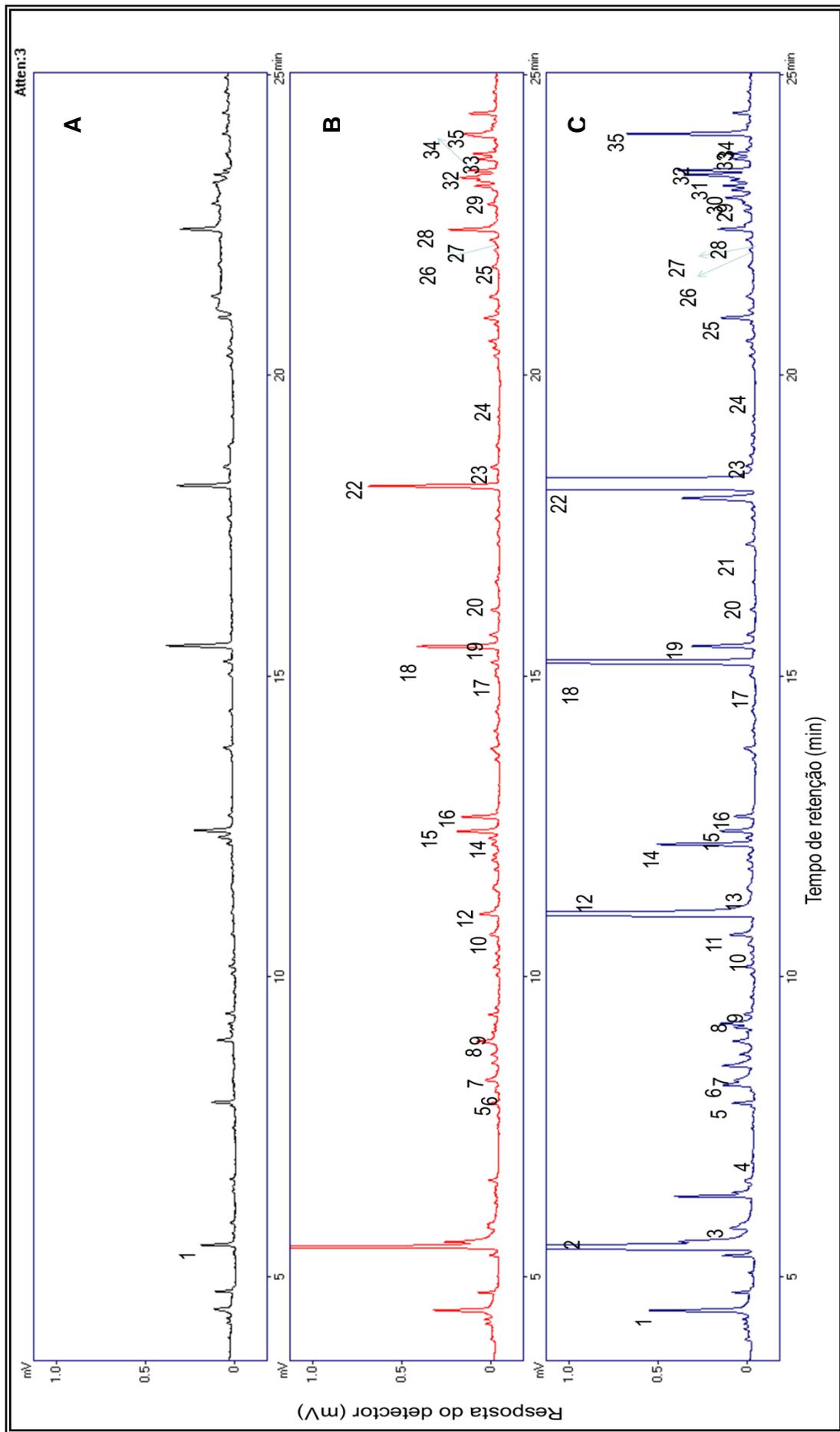


FIGURA 8. Cromatogramas dos extratos de aeração de plantas de arroz sem dano (A), com dano por herbivoria de fêmeas (B) e machos (C) de *Tibraca limbativentris*. Os números indicam os principais compostos identificados. 1) 4-metil-4-hidroxi-2-pentanona*, 2) (E)-2-hexenal, 3) NI**, 4) α -pineno, 5) canfeno, 7) 6-metil-5-hepten-2-ona (MHO), 8) decano, 9) octanal, 10) Limoneno, 11) 2-etil-hexanol*, 12) (E)-2-octenol*, 13) 3,5 octadien-2-ona*, 14) linalol, 15) nonanal, 16) 2,6 dimetilciclohexanol*, 17) salicilato de metila (MeSA) 18) dodecano, 19) decanal, 20) 4-etilacetofenona, 21) tridecano, 22) undecano, 23) α -cubebeno*, 24) tetradecano, 25) β -cariofileno, 26) NI, 27) 28) geraniil acetona, 29) α -curcumeno, 30) zingiberene, 31) pentadecano, 32) α -muuroleno*, 33) β -bisaboleno, 34) β -sesquifelandreno, *Compostos identificados por comparação com dados da biblioteca de espectro de massas ** não identificado

TABELA 1. Média da massa (μg) \pm EP dos compostos liberados a cada 24 h por plantas de arroz que não sofreram herbivoria (controle), sob o ataque de cinco machos (dano macho) ou cinco fêmeas (dano fêmea) de *Tibraca limbativentris* ao longo de 120 h de aeracão.

Compostos	Controle	Dano macho	Dano fêmea
(E)-2-hexenal	0,030 \pm 0,015a*	0,108 \pm 0,031b	1,435 \pm 0,442b
6-Metil-5-hepten-2-ona	0,007 \pm 0,002a	0,054 \pm 0,020b	0,078 \pm 0,029b
Octanal	0,004 \pm 0,001a	0,024 \pm 0,008b	0,144 \pm 0,086b
(E)-2-octen-1-ol	0,109 \pm 0,045a	0,299 \pm 0,112ab	1,860 \pm 0,896b
(E,E)-3,5-octadien-2-ona	0,007 \pm 0,002a	0,042 \pm 0,012b	0,724 \pm 0,680b
Linalol	0,050 \pm 0,019a	0,261 \pm 0,099ab	0,450 \pm 0,173b
Nonanal	0,026 \pm 0,009a	0,057 \pm 0,018ab	0,189 \pm 0,073b
Salicilato de metila	0,488 \pm 0,318a	0,582 \pm 0,505ab	2,869 \pm 2,248b
Decanal	0,022 \pm 0,006a	0,068 \pm 0,015b	0,176 \pm 0,062b
Benzotiazol	0,001 \pm 0,0004a	0,006 \pm 0,002ab	0,020 \pm 0,008b
β -cubebeno	0,008 \pm 0,002a	0,034 \pm 0,010ab	0,091 \pm 0,031b
Geranil acetona	0,012 \pm 0,003a	0,054 \pm 0,018ab	0,088 \pm 0,029b
α -curcumeno	0,013 \pm 0,003a	0,075 \pm 0,027ab	0,125 \pm 0,038b
α -zingibereno	0,043 \pm 0,035a	0,077 \pm 0,031ab	0,158 \pm 0,068b
α -muuroleno	0,165 \pm 0,060a	0,938 \pm 0,357b	1,440 \pm 0,504b
β -bisaboleno	0,006 \pm 0,001a	0,032 \pm 0,010ab	0,066 \pm 0,024b
β -sesquifelandreno	0,001 \pm 0,0004a	0,013 \pm 0,003b	0,039 \pm 0,013b

*médias seguidas de letras distintas nas linhas diferem pelo teste Kruskal Wallis e contraste de Dunn, a um nível de significância de 5%.

A liberação desta substância pela planta danificada está relacionada à rota do octadecanóide, sendo este um dos principais mecanismos envolvido na ativação das defesas químicas de plantas contra insetos fitófagos (Kessler *et al.*, 2004). Este ácido sob a ação das enzimas lipoxigenase e hidroperoxidoliase, gera

o (*Z*)-3-hexenal o qual sofre uma isomerização, resultando em (*E*)-2-hexenal (Hatanaka, 1993; Matsui *et al.*, 2000; D'Auria *et al.*, 2006; Matsui, 2006).

Gomi *et al.* (2010) observaram que plantas de arroz infestadas pela cigarrinha *Sogatella furcifera* (Horváth) (Hemiptera: Delphacidae) apresentam grandes quantidades de (*E*)-2-hexenal, sendo o acúmulo deste um dos responsáveis pela inibição do desenvolvimento da bactéria *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo). De forma semelhante, Yan & Wang (2006) constataram um aumento de (*E*)-2-hexenal em extratos de plantas de milho atacadas por *Mythimna separata* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae), em relação a plantas sem dano. Em trabalhos com esta mesma cultura, foi verificado que mesmo plantas danificadas mecanicamente na presença de substâncias salivares do herbívoro liberaram este composto imediatamente após a injúria (Turlings *et al.*, 1998).

De acordo com Tumlinson *et al.* (1993) o (*E*)-2-hexenal pode atuar na defesa indireta de plantas de milho, promovendo a atratividade do parasitóide *Cotesia marginiventris* (Cresson) (Hymenoptera: Braconidae) em plantas sob o ataque de *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepdoptera:Noctuidae). Além disso, este aldeído também pode atuar na comunicação de plantas danificadas com seus coespecíficos que não sofreram dano, estimulando assim os mecanismos de defesa antes mesmo da presença do herbívoro (Arimura *et al.*, 2001).

Plantas de arroz infestadas por machos e fêmeas do percevejo-do-colmo emitiram uma maior quantidade de 6-metilept-5-en-2-ona (Apêndice 3) do que no extrato controle ($H = 13,26$; $gl = 2$; $P < 0,05$) (Tabela 1).

Esta substância ocorre em diversas espécies de angiospermas (Knudsen *et al.*, 2006) e em plantas de interesse agrícola como soja (Moraes *et al.*, 2008b), milho (Solé *et al.*, 2010), fava (Webster *et al.*, 2008; Webster *et al.*, 2010), trigo

(Piesik *et al.*, 2008) e tomate (Carbonell-Barrachina *et al.*, 2006). No entanto, também está presente em *Ti. limbativentris* (Borges *et al.*, 2006).

Desta forma, as diferenças observadas neste trabalho em relação à quantidade desta cetona em plantas com e sem dano, podem estar associadas tanto a presença dos insetos, como aos mecanismos de defesa da planta, 6-metilept-5-en-2-ona também foi observado nos extratos de plantas sem dano.

Segundo Fujii *et al.*, (2010), plantas de arroz volatilizam este composto, principalmente durante o estágio vegetativo, fase em que foram realizados os testes neste trabalho. Entretanto, sua liberação também está associada à presença de afídeos em diferentes espécies vegetais, podendo, inclusive, atuar na repelência de herbívoros, em conjunto com outras substâncias (Dewhirst & Pickett 2010). Piesik *et al.* (2008) também registraram a ação de repelência desta substância em fêmeas de *Cephus cinctus* Norton (Hymenoptera: Cephidae).

A quantidade de octanal (Apêndice 4) liberada pelas plantas variou entre os tratamentos, sendo produzido em maior quantidade após o dano ($H = 19,55$; $gl = 2$; $P < 0,05$) (Tabela 1). Sua ocorrência foi relatada em diversas espécies vegetais (Knudsen *et al.*, 2006), como coentro (Kohara *et al.*, 2006), milho (Solé *et al.*, 2010) e fava (Webster *et al.*, 2008; Webster *et al.*, 2010).

Ti. limbativentris não apresenta este aldeído dentre seus componentes feromonais (Borges *et al.*, 2006), desta forma, pode-se supor que o incremento significativo após o dano está relacionado com os mecanismos de defesa da planta. O octanal já foi relatado como substância de defesa por Moayeri *et al.* (2007) os quais constataram que plantas de pimentão danificadas pelos herbívoros *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) e *Myzus persicae* (Sulzer)

(Hemiptera: Aphididae) produziram octanal, enquanto que nas plantas sem dano, este não foi encontrado.

O (*E*)-2-octenol foi liberado em maior quantidade pelas plantas danificadas, sendo este aumento significativo após o dano por fêmeas na comparação com plantas controle ($H = 6,80$; $gl = 2$; $P < 0,05$) (Tabela 1). Este álcool tem sua ocorrência registrada em espécies das famílias Oleaceae (Pherobase, 2010) e Orchidaceae (Knudsen *et al.*, 2006), além disso já foi identificado em algumas espécies de Heteroptera (Aldrich *et al.*, 1993; Moraes *et al.*, 2008c), porém não é encontrado em *Ti. limbativentris* (Borges *et al.*, 2006). Scutareanu *et al.* (2003) observaram que pereiras parcialmente infestadas por *Cacopsylla pyricola* e *Ca. pyri* L. (Foester) (Homoptera: Psyllidae) liberaram este álcool. Segundo os autores este composto não foi observado em extratos de plantas sem dano, além disso, as plantas infestadas com fêmeas emitiram maiores quantidades em comparação com as que continham machos.

A liberação do linalol (Apêndice 5) foi significativamente maior após o dano por fêmeas ($H = 11,10$; $gl = 2$; $P < 0,05$) (Tabela1). Este volátil já foi registrado em espécies de Heteroptera (Aldrich, 1988; Moraes *et al.*, 2008c), porém não foi identificado em *Ti. limbativentris* (Borges *et al.*, 2006).

Este monoterpene é um dos mais comuns nos vegetais, ocorrendo em aproximadamente 70% das espécies de angiospermas (Knudsen *et al.*, 2006). Plantas de arroz liberam este composto em todas as fases de desenvolvimento (Fujii *et al.*, 2010). Os terpenóides possuem duas vias de biossíntese, a primeira ocorre no citoplasma, e é denominada via do mevalonato, a segunda ocorre nos plastídios, chamada de via plastidial, a qual é produzido o linalol (Arimura *et al.*, 2009). A enzima envolvida na biossíntese deste composto é a linalol-sintase, uma

terpeno-sintase, que converte geranyl difosfatase em linalol (Dudareva & Pichersky, 2000). A presença deste volátil pode ser induzida com a pulverização de ácido jasmônico em plantas de arroz (Obara *et al.*, 2002; Lou *et al.*, 2005).

Blackmer *et al.* (2004) verificaram que plantas de alfafa danificadas pelo percevejo *L. hesperus* liberaram maiores quantidades deste monoterpeno em comparação às sem dano. Um aumento significativo na produção de linalol em plantas de fava e feijão após dano por herbivoria e presença de posturas de *N. viridula*, foi observado por Colazza *et al.* (2004a,b). Resultado semelhante foi constatado em plantas de milho sob o ataque de *L. hesperus* (Rodriguez-Saona *et al.*, 2002). Williams *et al.* (2010) observaram que este composto apresentou ação de repelência em machos deste heteróptero. Na defesa indireta, linalol foi identificado como sinomônio no sistema tritrófico envolvendo plantas de milho, o herbívoro *M. separata* e o parasitóide *Campoletis chloridae* Uchida (Hymenoptera: Ichneumonidae) (Yan & Wang, 2006).

Assim como o (*E*)-2-octenol, uma maior quantidade de linalol foi registrada em plantas danificada por fêmeas. Williams *et al.* (2005) também observaram um aumento significativo na emissão de linalol em plantas de milho após o dano por fêmeas de *N. viridula* em comparação com plantas sem dano. O mesmo efeito foi observado em algodoeiro, no qual a herbivoria de fêmeas de *L. hesperus* estimulou uma maior produção de linalol (Rodriguez-Saona *et al.*, 2002). Conforme observado pelos autores, essas diferenças possivelmente estão relacionadas com a presença de indutores nos compostos salivares dos insetos, induzindo respostas específicas ao herbívoro.

Nonanal (Apêndice 6) foi liberado em maior quantidade pelas plantas que sofreram herbivoria por fêmeas ($H = 8,81$; $gl = 2$; $P < 0,05$) (Tabela 1), é encontrado

em diversas famílias vegetais (Knudsen *et al.*, 2006). Dentre as plantas de importância agrícola, já foi identificado em soja (Moraes *et al.*, 2009), milho (Solé *et al.*, 2010), batata (Weissbecker *et al.*, 1999), abóbora (Cossé & Baker, 1999) e coentro (Kohara *et al.*, 2006).

Sua ocorrência também foi constatada em espécies de Heteroptera (Aldrich *et al.*, 1993; Moraes *et al.*, 2008c), inclusive em *Ti. limbativentris* (Borges *et al.*, 2006). Este aldeído já foi registrado como um composto de defesa em plantas de batata danificadas por *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae) (Bolter *et al.*, 1997).

O éster salicilato de metila (Apêndice 7) esteve presente nos três tratamentos, havendo, em relação ao controle, uma produção significativamente maior nas plantas que sofreram herbivoria por fêmeas ($H = 6,10$; $gl = 2$; $P < 0,05$) (Tabela 1). Este composto não ocorre em *Ti. limbativentris* (Borges *et al.*, 2006) e está presente em aproximadamente 57% das espécies de angiospermas (Knudsen *et al.*, 2006), tais como soja (Moraes *et al.*, 2009), milho (Solé *et al.*, 2010), vagem (Webster *et al.*, 2010), tabaco (Kessler & Baldwin 2001) e feijão-fava (Arimura *et al.*, 2001). Plantas de arroz também produzem este composto durante todos os estádios de desenvolvimento (Fujii *et al.*, 2010).

Alguns trabalhos têm demonstrado que esta substância está envolvida nos mecanismos de defesa de diferentes espécies vegetais contra herbivoria. Plantas de alfafa liberaram salicilato de metila após o dano por *L. hesperus*, já em plantas sem dano, este volátil não foi identificado (Blackmer *et al.*, 2004). Frati *et al.* (2009) avaliaram plantas de vagem que sofreram herbivoria por *L. hesperus*, de acordo com os autores, as plantas danificadas emitiram maiores quantidades desta substância quando comparadas com aquelas sem dano. Ensaios comportamentais

evidenciaram ainda que salicilato de metila apresenta ação repelente em machos de *L. hesperus* (Williams *et al.*, 2010).

Segundo Moraes *et al.* (2009), a aplicação exógena de *cis*-jasmona em plantas de soja aumenta significativamente a liberação deste composto. Do mesmo modo, plantas de arroz pulverizadas com ácido jasmônico aumentaram a produção de salicilato de metila em comparação às plantas que não foram tratadas (Lou *et al.*, 2005).

O decanal (Apêndice 8) foi volatilizado em quantidade significativamente maior pelas plantas que sofreram herbivoria ($H = 22,22$; $gl = 2$; $P < 0,05$) (Tabela 1). Sua ocorrência já foi registrada em soja (Moraes *et al.*, 2009), milho (Solé *et al.*, 2010), vagem (Webster *et al.*, 2010), coentro (Kohara *et al.*, 2006) e em todos estádios fenológicos do arroz (Fujii *et al.*, 2010).

Este aldeído ocorre também em diversas espécies de Heteroptera (Aldrich, 1988; Aldrich *et al.*, 1993; Moraes *et al.*, 2008c), tal como em *Ti. limbativentris* (Borges *et al.*, 2006). O decanal foi identificado como um composto de defesa em plantas de batata danificadas por *Le. decemlineata* (Bolter *et al.*, 1997). Além disso, também foi emitido em plantas de pimentão danificadas pelos herbívoros *M. persicae* e *Te. urticae*, enquanto que em extratos de plantas sem dano, não foi registrada a presença deste composto (Moayeri *et al.*, 2007).

A liberação do benzotiazol (Apêndice 9) pelas plantas de arroz avaliadas apresentou um incremento significativo após a herbivoria por fêmeas, em relação ao controle ($H = 12,53$; $gl = 2$; $P < 0,05$) (Tabela 1). Não há registro deste composto em *Ti. limbativentris* (Borges *et al.*, 2006). Este álcool ocorre nas famílias Brassicaceae, Cactaceae, Hydrangeaceae, Myrsinaceae, Onagraceae, Rosaceae (Knudsen *et al.*, 2006). Hu *et al.* (2009) verificaram que plantas do gênero *Populus*

liberam grandes quantidades deste composto após dano mecânico. Os autores constataram que as mesmas utilizam benzotiazol em conjunto com outros voláteis na comunicação intraespecífica, estimulando a defesa química de plantas que não sofreram herbivoria.

A quantidade de α -zingibereno (Apêndice 10) emitida variou entre os tratamentos, plantas danificadas por fêmeas liberaram uma quantidade significativamente maior desta substância em comparação com as plantas sem dano ($H = 10,39$; $gl = 2$; $P < 0,05$) (Tabela 1). Este sesquiterpeno está presente nas famílias Orchidaceae, Geraniaceae e Verbenaceae (Knudsen *et al.*, 2006). Sua ocorrência também foi registrada em pimentão (Moayeri *et al.*, 2007), batata (Weissbecker *et al.*, 2000) e arroz, principalmente durante a fase vegetativa (Fujii *et al.*, 2010).

Possivelmente a produção deste sesquiterpeno, assim como outras substâncias relatadas anteriormente, está relacionada com a indução de defesa contra a herbivoria, uma vez que *Ti. limbativentris* não apresenta α -zingibereno dentre seus componentes feromonais (Borges *et al.*, 2006). Weissbecker *et al.* (2000) constataram que plantas de batata injuriadas por *Le. decemlineata* emitiram α -zingibereno e este composto foi atrativo ao predador *Perillus bioculatus* (Fabr.) (Heteroptera: Pentatomidae) em conjunto com biciclogermacreno. Plantas de pimentão danificadas por *Te. urticae* e *M. persicae* também produzem uma quantidade maior de α -zingibereno, em relação às não injuriadas (Moayeri *et al.* 2007).

As plantas de arroz liberaram o β -bisaboleno (Apêndice 11) em maior quantidade após a herbivoria por fêmeas de *Ti. limbativentris* ($H = 6,90$; $gl = 2$; $P < 0,05$) e β -sesquifelandreno (Apêndice 12) ($H = 30,53$; $gl = 2$; $P < 0,05$) após

herbivoria de ambos os sexos, em relação ao controle (Tabela 1). Estas substâncias não estão presentes no percevejo-do-colmo (Borges *et al.*, 2006). O primeiro sesquiterpeno ocorre em plantas das famílias Amaryllidaceae, Arecaceae, Oleaceae, Orchidaceae e Vitaceae e o segundo, em espécies de Arecaceae, Fabaceae e Geraniaceae (Knudsen *et al.*, 2006). Cheng *et al.* (2007) observaram um incremento na produção destes compostos em plantas de arroz que foram pulverizadas com o indutor jasmonato de metila, sugerindo que as plantas produzam estes sesquiterpenos em maior quantidade para proteção contra herbivoria.

Do mesmo modo, Yan & Wang (2005) verificaram a emissão de β -sesquifelandreno em plantas de milho danificadas por *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), enquanto que nas plantas sem dano não foi encontrado.

Os sesquiterpenos β -cubebeno ($H = 6,97$; $gl = 2$; $P < 0,05$), o α -Curcumeno (Apêndice 13) ($H = 8,45$; $gl = 2$; $P < 0,05$) e o geranil acetona (Apêndice 14) ($H = 6,48$; $gl = 2$; $P < 0,05$) foram produzidos em quantidade significativamente maiores após o dano por herbivoria de fêmeas e o (*E,E*)-3,5-octadien-2-one ($H = 10,13$; $gl = 2$; $P > 0,05$) e o α -Muuroleno ($H = 11,06$; $gl = 2$; $P < 0,05$) por ambos os sexos do percevejo-do-colmo, em comparação com as plantas sem dano (Tabela 1). Estes compostos são encontrados em diversas espécies vegetais (Knudsen *et al.*, 2006), mas não ocorrem em *Ti. limbativentris* (Borges *et al.*, 2006). β -cubebeno, α -Curcumeno e (*E,E*)-3,5-Octadien-2-one não são registrados em arroz (Lou *et al.*, 2005; Cheng *et al.*, 2007; Fujii *et al.*, 2010), por outro lado, o geranil acetona e α -Muuroleno tiveram sua ocorrência registrada nesta cultura (Cheng *et al.*, 2007; Fujii *et al.*, 2010). O aumento na produção após o dano por herbivoria destes últimos

cinco compostos sugere que os mesmos podem estar relacionados com a defesa contra a herbivoria, uma vez que não ocorrem no percevejo.

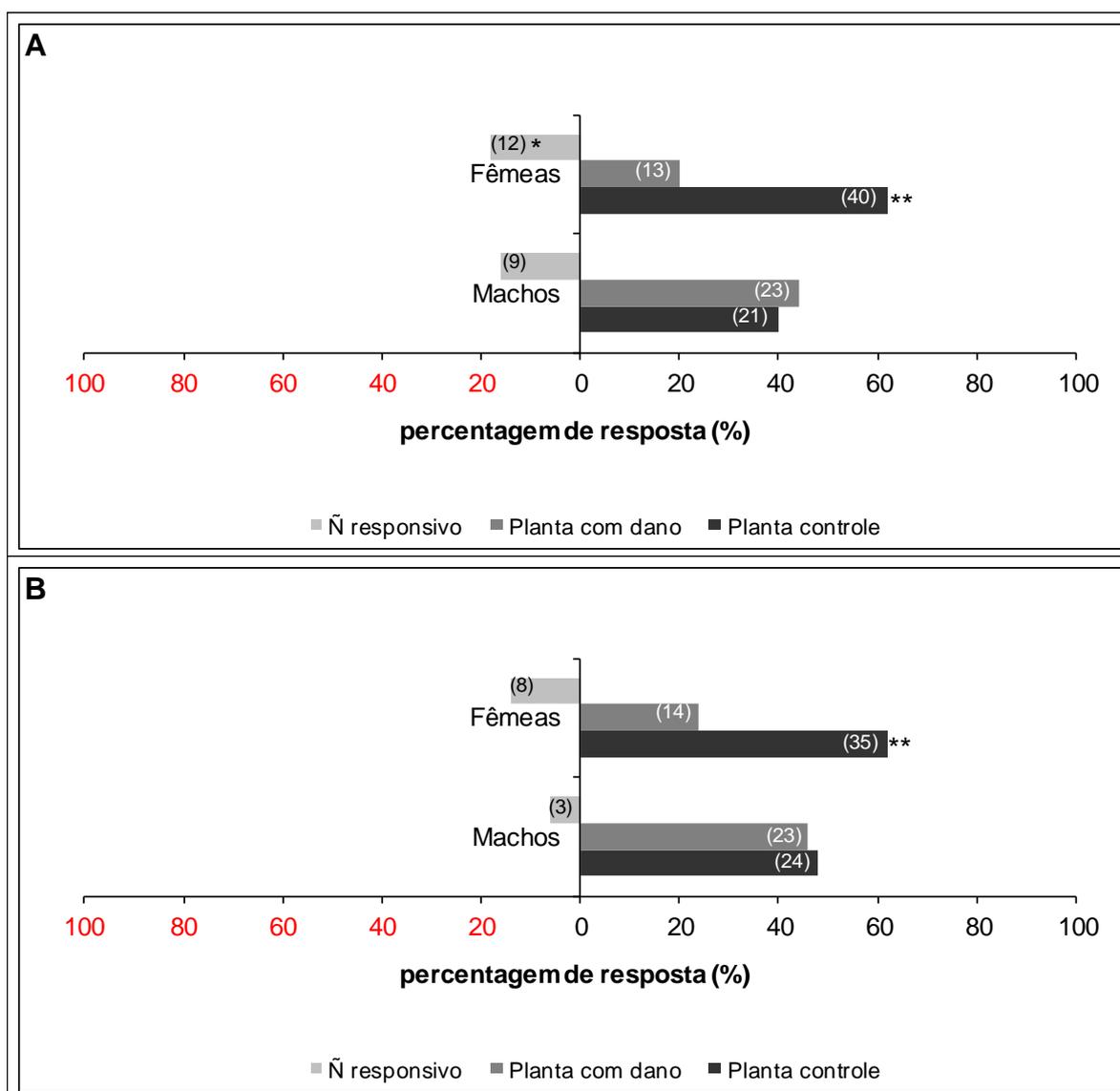
4.2 Avaliações das respostas quimiotáticas

4.2.1 Bioensaios de olfatomетria com *Ti. limbativentris*

As respostas comportamentais de *Ti. limbativentris*, do mesmo sexo, criados em laboratório e coletados no campo, aos extratos obtidos após 24 h de aeração de plantas sem dano e plantas danificadas por fêmeas ou machos não diferiram significativamente pela análise de Qui-quadrado ($P > 0,05$). Desta forma, os resultados descritos neste item são relativos à junção das respostas de insetos oriundos do laboratório e campo.

Fêmeas de *Ti. limbativentris* foram significativamente mais atraídas pelos voláteis de plantas sem dano, tanto em comparação com os extratos de plantas danificadas por machos ($\chi^2 = 27,50$; $g\ l = 1$; $P < 0,0001$) (Figura 9A), como por fêmeas ($\chi^2 = 18,00$; $g\ l = 1$; $p < 0,0001$) (Figura 9B), aeradas por 24. Os machos não apresentaram preferência por nenhum dos tratamentos ($P > 0,05$). (Figura 9).

O mesmo padrão de resposta foi observado quando foram comparados os extratos de plantas aeradas por 48 h. As fêmeas foram mais responsivas pelos extratos de plantas sem dano tanto quando submetidas ao extrato de plantas danificadas por machos ($\chi^2 = 9,60$; $g\ l = 1$; $P < 0,0001$) (Figura 10A), como por fêmeas ($\chi^2 = 6,00$; $g\ l = 1$; $P < 0,0001$) (Figura 10B), enquanto que os machos também não apresentaram preferência entre os tratamentos ($P > 0,05$) (Figura 10).

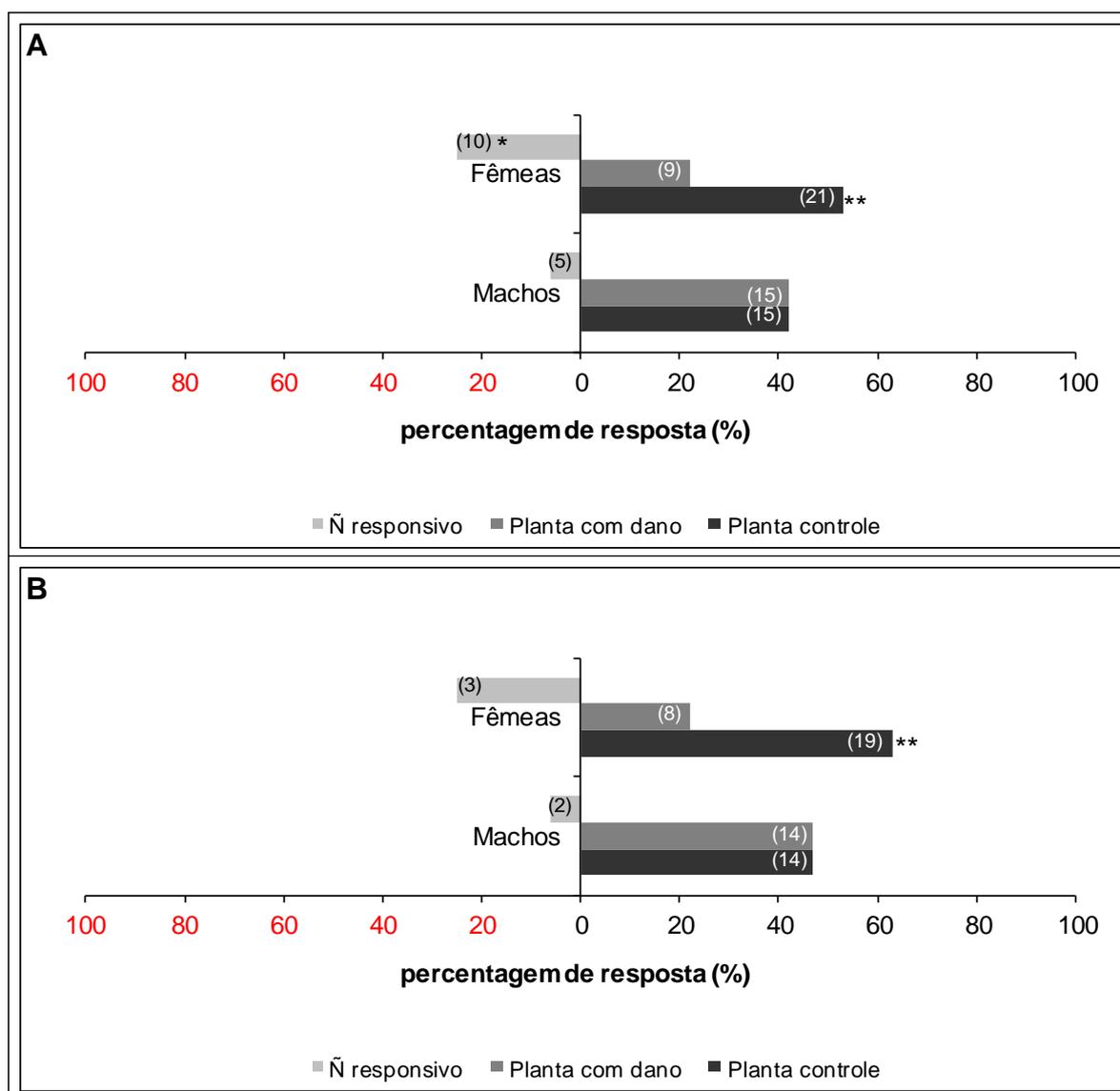


*Algarismos dentro das barras referem-se ao número de indivíduos não responsivos ou que responderam aos tratamentos.

** diferença significativa através da análise do Qui-quadrado ($\alpha = 0,05$).

FIGURA 9. Números e percentagens de respostas comportamentais de ambos os sexos de *Tibraca limbativentris* aos extratos de plantas de arroz danificadas por machos (A) e fêmeas (B) coespecíficos aeradas por 24 h.

O comportamento sexual e de orientação, em insetos fitófagos, é influenciado pelas características das plantas hospedeiras (Landolf & Phillips, 1997; Reddy & Guerrero, 2004).



*Algarismos dentro das barras referem-se ao número de indivíduos não responsivos ou que responderam aos tratamentos.

** diferença significativa através da análise do Qui-quadrado ($\alpha = 0,05$).

FIGURA 10. Números e percentagens de respostas comportamentais de ambos os sexos de *Tibraca limbativentris* aos extratos de plantas de arroz danificadas por machos (A) e fêmeas (B) coespecíficas aeradas por 48 h.

Segundo Landolt & Phillips (1997), os insetos podem usar sinais químicos das plantas para localizar sítios de alimentação, oviposição e cópula. Os bioensaios de olfatométrica evidenciaram que os voláteis de plantas de arroz influenciam o comportamento quimiotático de fêmeas de *Ti. limbativentris*, uma vez que estas foram capazes de responder de forma diferenciada aos extratos de

plantas sem dano. As análises químicas (item 4.2) evidenciaram diferenças quantitativas nos compostos liberados por plantas com e sem a presença do percevejo-do-colmo, os quais provavelmente foram os responsáveis pelo comportamento seletivo evidenciado nas fêmeas.

De acordo com Dicke & Van Loon (2000), uma planta infestada por coespecíficos é menos atrativa aos herbívoros em comparação com um hospedeiro inexplorado. Segundo os autores, esta seria uma estratégia evolutiva para reduzir ou mesmo evitar a competição intraespecífica, maximizando o potencial biótico dos organismos.

Fрати *et al.* (2008) avaliaram em olfâmetro de dupla escolha a resposta do percevejo *Lygus rugulipennis* Poppius (Heteroptera: Miridae) aos voláteis de plantas de fava com e sem a presença de coespecíficos e constataram que as fêmeas foram significativamente mais atraídas pelos voláteis de plantas não injuriadas, semelhantemente ao que foi verificado no presente estudo.

De forma controversa, Blackmer *et al.* (2004), observaram em experimentos de olfatométrica que fêmeas do percevejo *Ly. hesperus* não evitaram as plantas danificadas de alfafa, mesmo tendo sido comprovado, através de análises químicas, que houve indução de voláteis de defesa após o dano. Entretanto, neste estudo, os autores utilizaram ar como controle em todos os tratamentos, não tendo sido confrontado plantas com e sem injúrias, conforme foi realizado no presente trabalho. Portanto, *Ly. hesperus* pode ter respondido aos voláteis da planta, independentemente do dano.

Os machos não foram atraídos por nenhum dos tratamentos, sugerindo que o direcionamento destes não é influenciado pelas mudanças na composição da mistura de voláteis liberados pela planta na presença do herbívoro. Desta forma,

pode-se inferir que a seletividade química das antenas de machos do percevejo-do-colmo aos voláteis de plantas de arroz é menor do que a de fêmeas.

Em bioensaios de eletroantenografia com os herbívoros *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) e *Lygocoris pabulinus* (L.) (Hemiptera: Miridae) foi observado que as respostas eletrofisiológicas a voláteis de plantas das fêmeas são mais pronunciadas que nos machos (Chinta *et al.*, 1994; Groot *et al.*, 1999).

A percepção química aos compostos liberados por plantas, de modo geral, é realizada por machos e fêmeas (Metcalf & Metcalf, 1992). Segundo os autores, os insetos utilizam esta percepção para desempenhar, principalmente, três funções biológicas distintas. Para machos e fêmeas, os voláteis secundários teriam o objetivo de orientar os parceiros sexuais para possíveis sítios de alimentação e cópula. Já as fêmeas, utilizariam este recurso para localizar, além destes, sítios de oviposição, os quais estariam relacionados a hospedeiros adequados para sua prole. Sendo assim, as diferenças encontradas neste trabalho ocorreram devido à seleção mais criteriosa do hospedeiro pelas fêmeas.

As respostas indiferenciadas observadas em machos também podem ser decorrentes da presença das substâncias 6-metil-5-hepten-2-ona, nonanal e decanal registradas em maior quantidade nos extratos de plantas danificadas por ambos os sexos. Estas substâncias compõem o feromônio de defesa de *Ti. limbativentris* (Borges *et al.*, 2006). Os compostos feromonais de defesa em adultos de pentatomídeos são produzidos por glândulas metatorácicas, presentes no esterno, próximas as regiões coxais do segundo par de pernas (Borges & Aldrich, 2001). Estas glândulas liberam substâncias que geralmente desencadeiam comportamentos de alarme e/ou defesa, podendo atuar também na agregação (Borges & Aldrich, 2001; Laumann *et al.*, 2009). Sendo assim, a presença em maior

quantidade destas substâncias nos extratos de planta que sofreram herbivoria pode ter influenciado no direcionamento de machos no olfatômetro, pois os mesmos poderiam estar relacionando a presença destes odores com possíveis sítios de cópula e/ou alimentação.

Desta forma um mesmo estímulo pode ter sido, no presente estudo, interpretado de forma diferenciada entre os sexos de uma mesma espécie. Para fêmeas de *Ti. limbativetris* a percepção de hospedeiros inexplorados seria mais relevante do que a de compostos que indicariam a presença de coespecíficos, não ocorrendo em machos.

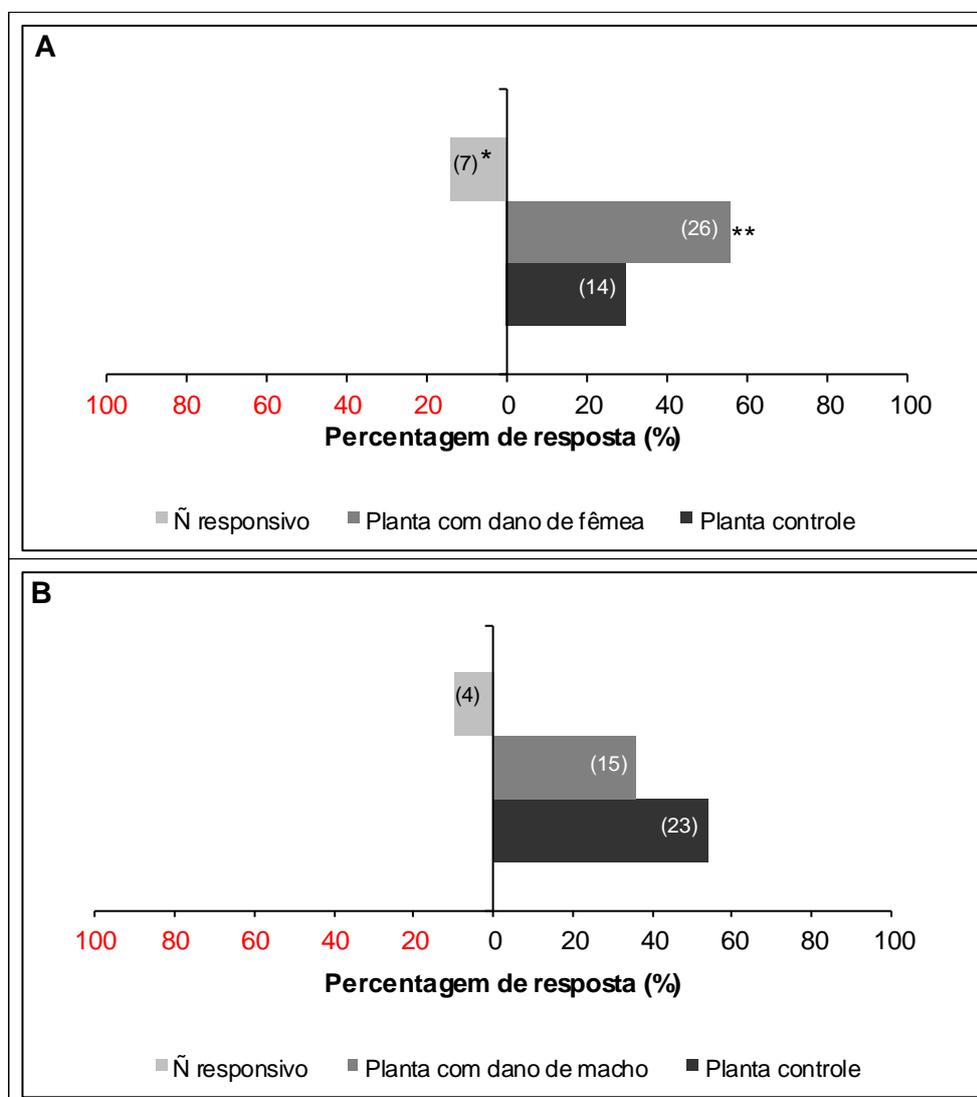
4.3.2 Bioensaios de olfatométrica com *Te. podisi* e *Tr. basalis*

Fêmeas de *Te. podisi* foram significativamente mais atraídas aos voláteis emitidos pelas plantas danificadas por fêmeas ($\chi^2 = 7,20$; gl = 1; P = 0,0139) (Figura 11A), porém não responderam aos voláteis de plantas danificadas por machos aeradas por 48 h ($\chi^2 = 3,36$; gl = 1; P = 0,1083) (Figura 11B).

Quando foram contrastados extratos de plantas sem dano aeradas por 48 h e hexano, os insetos foram significativamente mais atraídos pelos extratos de plantas ($\chi^2 = 7,14$; gl = 1; P = 0,0162) (Figura 12), indicando que os voláteis liberados pelo arroz influenciam o direcionamento do parasitóide.

Telenomus podisi é considerado um importante agente de controle biológico (Okuda & Yeargan, 1988) e ocorre em diferentes agroecossistemas, parasitando ovos de percevejos da família Pentatomidae (Barcelos *et al.*, 1994; Corrêa-Ferreira & Moscardi, 1995; Torres *et al.*, 1996), com registros em campo para *E. heros*, *N. viridula*, *Piezodorus guildinii* (Westwood), *Podisus connexivus* Bergroth, *Dichelops melacanthus* (Dallas) e *Euschistus servus* (Say) (Correa-Ferreira & Moscardi, 1995; Borges *et al.*, 1998; 1999; Ehler, 2002; Silva *et al.*, 2008; Laumann *et al.*, 2010;

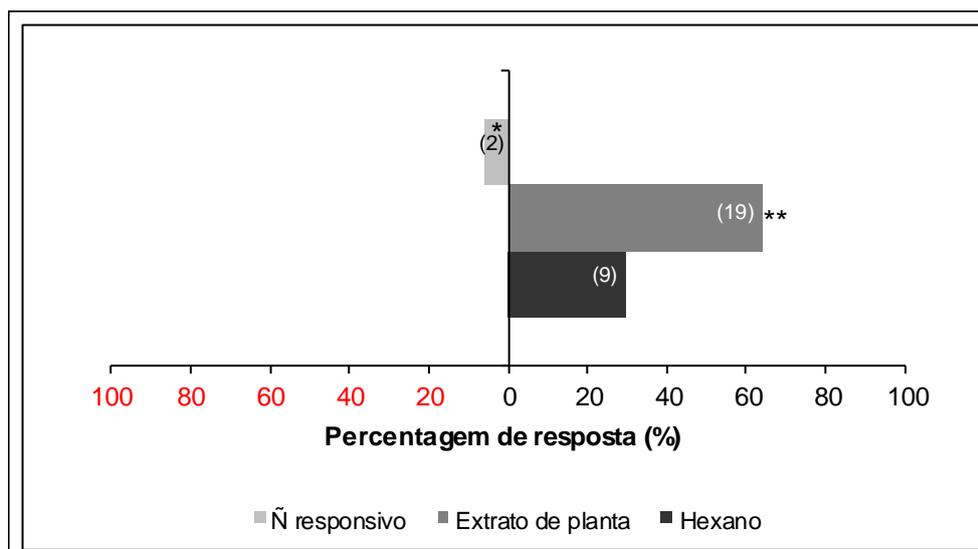
Tillman, 2010), *P. maculiventris* e *E. obscurus* (Bruni, et al., 2000). Trabalhos recentes notificaram a sua ocorrência também em ovos de *Ti. limbativentris* (Maciel et al., 2007; Riffel, 2007; Riffel et al., 2010).



*Algarismos dentro das barras referem-se ao número de indivíduos não responsivos ou que responderam aos tratamentos.

** diferença significativa através da análise do Qui-quadrado ($\alpha = 0,05$).

FIGURA 11. Números e percentagens de respostas comportamentais de fêmeas de *Telenomus podisi* aos extratos de plantas de arroz danificadas por fêmeas (A) e machos (B) de *Tibraca limbativentris*, aeradas por 48 h.



*Algarismos dentro das barras referem-se ao número de indivíduos não responsivos ou que responderam aos tratamentos.

**diferença significativa através da análise do Qui-quadrado ($\alpha = 0,05$).

FIGURA 12. Números e porcentagens de respostas comportamentais de fêmeas de *Telenomus podisi* aos extratos de plantas de arroz sem dano, aeradas por 48 h e hexano.

As pistas químicas possuem um papel extremamente importante na orientação de parasitóides fêmeas (Bin *et al.*, 1993). Estas podem ser obtidas através da interceptação de mensagens químicas intraespecíficas (feromônios) de espécies hospedeiras (Borges *et al.*, 1999; Laumann *et al.*, 2009) ou de substâncias indicadoras da presença do organismo a ser parasitado, tais como voláteis secundários emitidos pela planta, principalmente durante o ataque do herbívoro (Nordlund & Lewis, 1981; Moraes *et al.*, 2005; 2009).

No presente estudo, as fêmeas de *Te. podisi* responderam aos extratos de plantas que sofreram herbivoria por fêmeas, mas também reconhecem os voláteis emitidos por plantas sem dano. Desta forma, é possível que estes atuem como indicadores da presença do herbívoro-hospedeiro, evidenciando a interação tritrófica no sistema arroz-*Ti. limbativentris* - *Te. podisi*.

Interações tritróficas mediadas por voláteis de plantas têm sido constatadas em sistemas como milho-*Heliothis virescens*/*Helicoverpa zea*-*Cardiochiles nigriceps* (De Moraes *et al.*, 1998); batata-*Le. decemlineata*- *Pe. bioculatus* (Weissbecker *et al.*, 1999); milho-*Spodoptera littoralis*-*Co. marginiventris*/*Ca. sonorensis* (Hoballah & Turlings, 2001); feijão/vagem-*N. viridula*-*Tr. basalis* (Colazza *et al.*, 2004a,b); feijão/soja-*E. heros*-*Te. Podisi* (Moraes *et al.*, 2005); pimenta-*Te. urticae*/*M. persicae*-*Macrolophus caliginosus* (Moayeri *et al.*, 2007); soja-*E. heros*-*Te. podisi* (Moraes *et al.*, 2008b).

Em relação aos pentatomídeos, Moraes *et al.* (2009) avaliaram a indução de defesa de soja através da aplicação exógena de *cis*-jasmona e verificaram que as plantas tratadas com o fitormônio foram atrativas ao parasitoide. Dentre os compostos emitidos pelas plantas pulverizadas, esteve presente o salicilato de metila. Considerando que esta substância, e outras como, octenol, linalol, nonanal, benzotiazol, β -cubebeno, geranilacetona, α -Curcumeno, α -zingibereno e β -Bisaboleno, foram identificadas entre os voláteis produzidos em maior quantidade após a herbivoria por fêmeas de *Ti. limbativentris*, em relação ao controle, é provável que a ação destes compostos em conjunto, tenha sido a responsável pela atração do parasitoide.

Esse aumento na emissão de voláteis em plantas injuriadas por fêmeas, também pode ser devido ao fato destas, por necessitarem de uma maior demanda de recursos para a viabilização da prole, permanecerem se alimentando por um período de tempo mais longo do que os machos, ou ainda, podem apresentar uma maior capacidade de consumo, desta forma, estimulando uma maior resposta de defesa da planta hospedeira.

Apesar de não terem sido observadas diferenças estatísticas entre extratos com danos de machos e fêmeas (Tabela 1), a relevância do aumento numérico na quantidade de alguns voláteis constatada no extrato com a presença de fêmeas pode ter afetado o comportamento do parasitóide, uma vez que estas alterações podem ter desencadeado mudanças na percepção eletrofisiológica em antenas de fêmeas de *Te. podisi*, quando expostas a estes dois tratamentos.

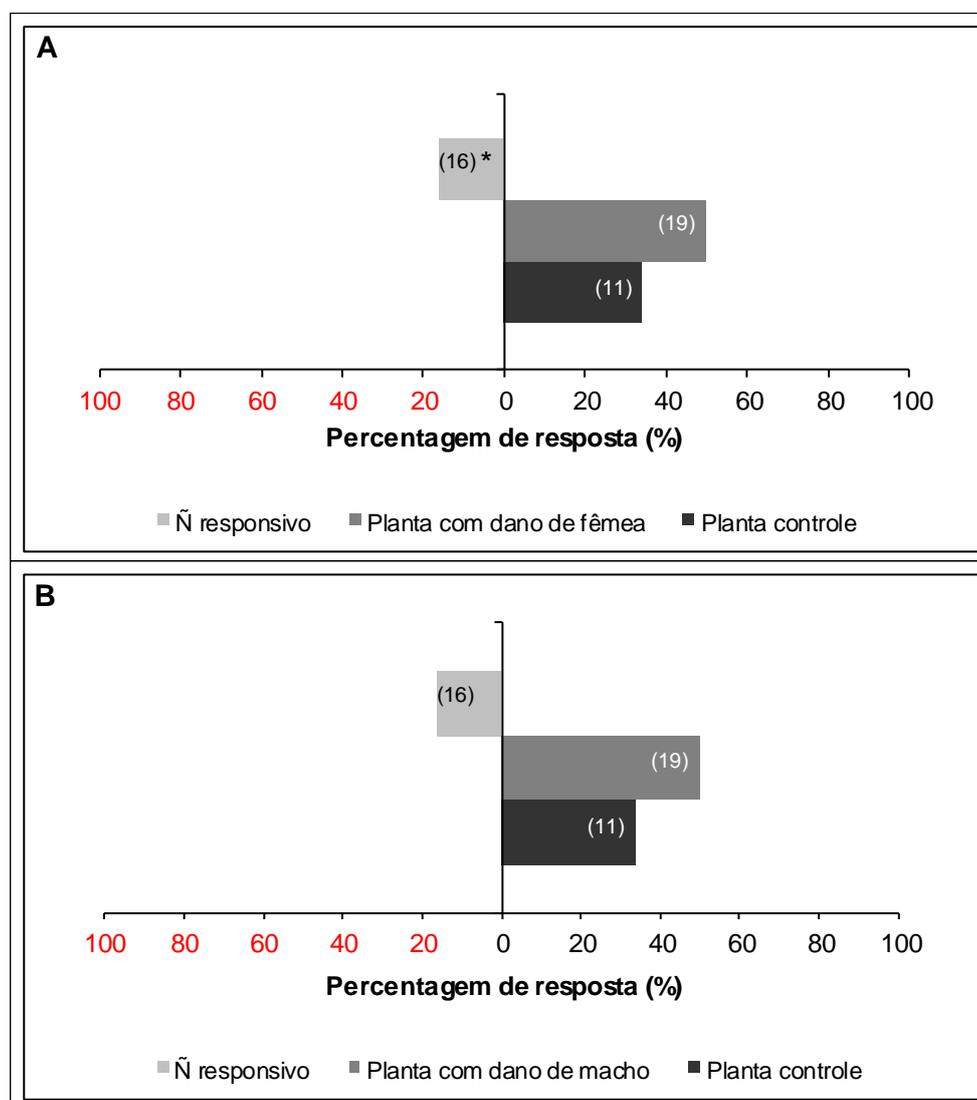
Moraes *et al.* (2005) também verificaram que apenas os voláteis induzidos pela herbivoria de fêmeas de *E. heros* em plantas de soja e feijão guandu induziram a atratividade de fêmeas de *Te. podisi*, corroborando o observado no presente trabalho.

As mudanças na composição química de extratos de plantas danificadas por machos e fêmeas podem estar relacionadas às interações diferenciadas entre as enzimas presentes na saliva de ambos os sexos, principalmente compostos lipofílicos. Estes indutores podem desencadear alterações fisiológicas produzindo compostos químicos específicos, como por exemplo, a enzima β -Glucosidase, indutor identificado para a espécie *Pi. brassicae* (Arimura *et al.*, 2009).

O padrão de respostas do parasitóide *Tr. basalis* diferiu de *Te. podisi*, visto que as fêmeas não foram atraídas pelos voláteis de plantas danificadas por fêmeas ou machos ($\chi^2 = 4,26$; gl = 1; P = 0,0707) (Figura 13). No entanto, estas foram significativamente mais atraídas pelos extratos de planta sem dano em relação ao hexano ($\chi^2 = 7,69$; gl = 1; P = 0,0055) (Figura 14).

Apesar de *Tr. basalis* ter preferência por posturas de *N. viridula*, este parasitóide apresenta comportamento generalista, podendo parasitar ovos de diversos hospedeiros (Corrêa-Ferreira, 1986; 1993), como dos pentatomídeos *Plautia affinis* (Dallas) e *Agonoscelis rutila* (Fabricius), (Colazza *et al.*, 1999; Loch,

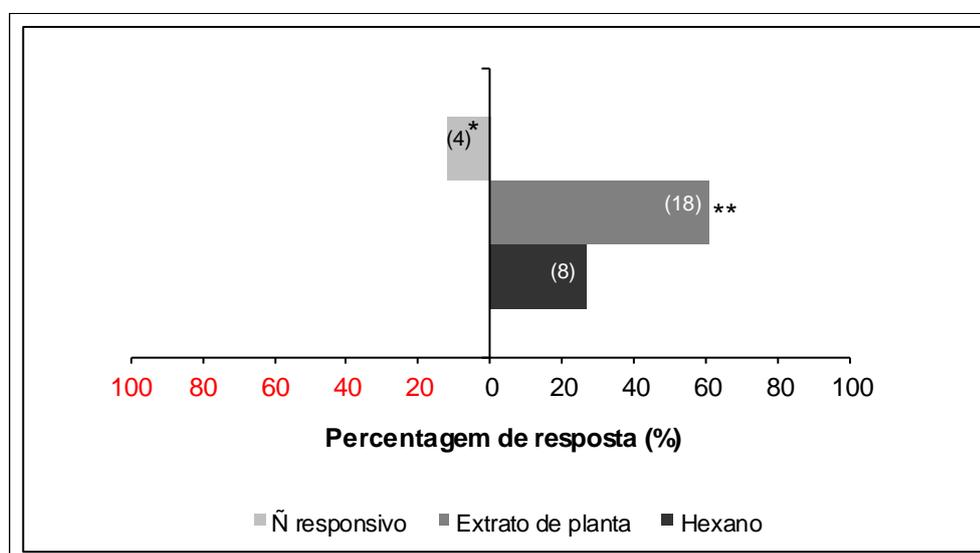
2000; Colazza *et al.*, 2009). Embora apresente comportamento generalista, a sua ocorrência não foi observada a campo em posturas de *Ti. limbativentris*, sendo *Te. podisi* e *Tr. urichi* as únicas espécies registradas em ovos do percevejo-do-colmo (Maciel *et al.*, 2007; Riffel, 2007; Riffel *et al.*, 2010).



*Algarismos dentro das barras referem-se ao número de indivíduos não responsivos ou que responderam aos tratamentos.

FIGURA 13. Números e percentagens de respostas comportamentais de fêmeas de *Trissolcus basalis* aos extratos de plantas de arroz danificadas por fêmeas (A) e machos (B) de *Tibraca limbativentris* aeradas por 48 h.

Existem poucos trabalhos a respeito dos mecanismos de defesa indireta relacionados à *Tr. basalis*. Colazza *et al.* (2004 a,b) observaram que fêmeas de *Tr. basalis* foram significativamente mais atraídas por plantas de feijão e fava danificadas pela alimentação ou pela presença de posturas de *N. viridula*, em relação às sem danos. Segundo os autores, dentre as diversas substâncias presentes nos extratos de plantas de feijão e fava, o sesquiterpeno (*E*)- β -cariofileno foi o principal composto responsável pela maior atratividade de *Tr. basalis*, atuando, desta forma, como sinomônio.



*Números dentro das barras referem-se ao número de indivíduos não responsivos ou que responderam aos tratamentos.

**diferença significativa através da análise do Qui-quadrado ($\alpha = 0,05$).

FIGURA 14. Números e porcentagens de respostas comportamentais de fêmeas de *Trissolcus basalis* aos extratos de plantas de arroz sem dano aeradas por 48 h e hexano.

A ausência desta substância nos extratos de plantas danificadas utilizados no presente estudo pode ter sido uma das razões pelas quais não se observou respostas significativamente diferentes deste parasitóide aos extratos de arroz com e sem dano. Sendo assim, os voláteis liberados após a herbivoria pelo percevejo-do-colmo, parecem não atuar como sinomônio nesta espécie. Por outro lado, a

resposta positiva ao extrato de plantas sem dano em relação ao hexano é um indicativo de que *Tr. basalís* utiliza pistas químicas liberadas pela planta no seu direcionamento.

5 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos no presente trabalho e nas condições sob as quais foram realizados os experimentos, foi possível concluir que:

- a herbivoria de *Tibraca limbativentris*, em plantas de arroz, induz mudanças quantitativas na emissão de voláteis secundários.
- as fêmeas do percevejo-do-colmo são mais atraídas pelos voláteis de plantas de arroz sem dano, tanto em comparação com os extratos de plantas danificadas por machos, como por fêmeas de *Tibraca limbativentris*.
- os machos do percevejo-do-colmo não distinguem voláteis de plantas de arroz sem dano dos danificados por ambos os sexos de *Tibraca limbativentris*.
- os voláteis liberados pelas plantas de arroz que sofreram herbivoria por *Tibraca limbativentris* atraem fêmeas de *Telenomus podisi*.
- a orientação quimiotática de *Trissolcus basalís* não é influenciada pelas substâncias presentes nos extratos de plantas de arroz que sofreram herbivoria por *Tibraca limbativentris*.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo mais aprofundado das relações tróficas entre os insetos e as plantas pode gerar subsídios para o conhecimento de alternativas menos poluentes no controle de pragas.

A utilização de indutores que aperfeiçoem a expressão dos mecanismos naturais de defesa da planta frente ao ataque de herbívoros pode ser uma ferramenta viável no manejo de insetos de importância agrícola, principalmente em sistemas de produção integrada e orgânica. Estas substâncias não somente poderiam incrementar a produção de compostos com ação inseticida ou deterrente da planta, como também poderiam atuar na liberação de voláteis secundários, responsáveis pela atratividade de inimigos naturais.

Esta estratégia de controle pode, em conjunto com as demais, poderá auxiliar a viabilização de uma agricultura mais sustentável.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

AGRAWAL, A. A. Induced responses to herbivory and increased plant performance. **Science**, New York. v. 279, n.5354, p.1201-1202, 1998.

ALDRICH, J.R. Chemical ecology of Heteroptera. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto. n.33, p.211–238, 1988.

ALDRICH, J.R. *et al.* Male-specific volatiles from Nearctic and Australasian true bugs (Heteroptera: Coreidae and Alydidae). **Journal of Chemical Ecology**, New York. v.19, n.12, p. 2767-2781, 1993.

ARIMURA, G. *et al.* Plant–plant interactions mediated by volatiles emitted from plants infested by spider mites. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford. n.29, p.1049–1061, 2001.

ARIMURA, G; MATSUI, K; TAKABAYASHI, J. Chemical and Molecular Ecology of Herbivore-Induced Plant Volatiles: Proximate Factors and Their Ultimate Functions. **Plant & Cell Physiology**, Oxford.v.50, n.5, p.911–923, 2009.

BARCELOS, J.A.V. *et al.* Performance em duas dietas e descrição dos adultos de *Brontocoris tabidus* (Signoret) (Heteroptera: Pentatomidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina. v.23, p.519-524, 1994.

BAUR, R; *et al.* Contact chemoreception related to host selection and oviposition behavior in the monarch butterfly, *Danaus plexippus*. **Physiological Entomology**, Oxford. v.23, n.1, p.7- 19, 1998.

BIN, F. *et al.* Source of an egg kairomone for *Trissolcus basal* a parasitoid of *Nezara viridula*. **Physiological Entomology**, Oxford. v.18, n.1, p.7-15, 1993.

BIRKETT, M. A *et al.* New roles for *cis*-jasmone as an insect semiochemical and in plant defense. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington. v.97, p.9329-9334, 2000

BJÖRKMAN, C.; DALIN, P.; AHRNE, K. Leaf trichome responses to herbivory in willows: induction, relaxation and costs. **New Phytologist**, Oxford. v.179, n.1, p. 176-184, 2008.

BLACKMER, J. L. *et al.* Behavioral response of *Lygus hesperus* to conspecifics and headspace volatiles of alfalfa in a y-tube olfactometer. **Journal of Chemical Ecology**, New York. v.30, n.8, p.1547-1564, 2004.

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

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

BORGES, M. *et al.* Semiochemical and physical stimuli involved in host recognition by *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae) toward *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae). **Physiological Entomology**, Oxford. v.24, p.227-233, 1999.

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

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

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

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

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

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

BRUNI, R; *et al.* Influence of host pheromone on egg parasitism by scelionid wasps: comparison of phoretic and nonphoretic parasitoids. **Journal of Insect Behavior**, New York. v.13, p.165-173, 2000.

CARBONELL-BARRACHINA, A. A; AGUSTÍ, A; RUIZ, J. J. Analysis of flavor volatile compounds by dynamic headspace in traditional and hybrid cultivars of Spanish tomatoes. **European Food Research and Technology**, New York. v. 222, p.536–542, 2006.

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

CHINTA, S. *et al.* Olfactory reception of potential pheromones and plant odors by tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae). **Journal of Chemical Ecology**, New York. v.20, p.3251–3267, 1994.

COLAZZA, S; SALERNO, G; WAJNBERG, E. Volatile and contact chemicals released by *Nezara viridula* (Heteroptera : Pentatomidae) have a kairomonal effect on the egg parasitoid *Trissolcus basalís* (Hymenoptera : Scelionidae). **Biological Control**, San Diego. v.16, n.3, p.310-317, 1999.

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

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

COLAZZA, S. *et al.* The response of *Trissolcus basalís* to footprint contact kairomones from *Nezara viridula* females is mediated by leaf epicuticular waxes. **Naturwissenschaften**, New York. v.96, n.8, p.975-981, 2009.

CORRÊA-FERREIRA, B. S. Ocorrência natural do complexo de parasitóides de percevejos da soja no Paraná. **Anais da Sociedade de Entomologia do Brasil**, Londrina. v.15, n.2, p.189-199, 1986.

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

CORRÊA-FERREIRA, B.S; MOSCARDI, F. Seasonal occurrence and host spectrum of egg parasitoids associated with soybean stink bugs. **Biological Control**, San Diego. v.5, p.196-202, 1995.

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

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

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

COSSÉ, A. A; BAKER, T. C. Electrophysiologically and behaviorally active volatiles of buffalo gourd root powder for corn rootworm beetles. **Journal of Chemical Ecology**, New York. v.25, n.1, 1999.

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

D'AURIA, J.C; *et al.* Characterization of a BAHD acyltransferase responsible for producing the green leaf volatile (Z)-3-hexen-1-yl acetate in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Journal**, Oxford.n.49, p.194–207. 2006.

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

DEWHIRST, S. Y; PICKETT, J. A. Production of semiochemical and allelobiotic agents as a consequence of aphid feeding. **Chemoecology**, Switzerland. v.20, p.89–96, 2010.

DICKE, M. Local and systemic production of volatile herbivore-induced terpenoids - their role in plant-carnivore mutualism. **Journal of Plant Physiology**, Jena, v. 143, n. 4-5, p. 465-472, 1994.

DICKE, M.; VAN LOON, J.J.A. Multitrophic effects of herbivore-induced plant volatile in an evolutionary context. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam , v. 97, n.3, p.237-249, 2000.

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

DOMICIANO, N. L. Manejo de Pragas. In: **Arroz Irrigado: práticas de cultivo**. Londrina: IAPAR, 2001. p. 101-118.

DUDAREVA, N; PICHERSKY, E. Biochemical and molecular genetic aspects of floral scents. **Plant Physiology**, Rockville. v.122, p. 627–633, 2000.

EHLER, L.E. An evaluation of some natural enemies of *Nezara viridula* in northern California. **Biocontrol**, Dordrecht. v.47, n.3, p.309-325, 2002.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Informações técnicas para a cultura do arroz irrigado no Estado do Tocantins : safra 2008/2009**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2008. 136 p.

FERNANDES, J. A. M. & GRAZIA, J. Revision of the genus *Tibraca* Stål (Heteroptera, Pentatomidae, Pentatominae). **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba. v. 15, n. 4, p. 1049 -1060, 1998.

FERREIRA, E; MARTINS, J.F.S. **Insetos prejudiciais ao arroz no Brasil e seu controle**. Goiânia, Embrapa Arroz e Feijão, (EMBRAPA-CNPAF. Documentos, 11), 1984. 67p.

FERREIRA, E. *et al.* Resistência do Arroz ao Percevejo-do-colmo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília. v. 21, p. 564- 569, 1986.

FERREIRA, E. *et al.* **O percevejo-do-colmo na cultura do arroz**. Goiânia, Embrapa Arroz e Feijão, (EMBRAPA-CNPAF. Documentos, 75). 1997. 43p.

FINCH, S. Assessing Host-Plant Finding by Insects. In: MILLER, J. R; MILLER, T. A. **Insect-Plant Interactions**. New York: Springer-Verlag, 1986. p.23 – 63.

FRATI, F. *et al.* Role of the plant – conspecific complex in host location and intra-specific communication of *Lygus rugulipennis*. **Physiological Entomology**, Oxford. v.33, p.129–137, 2008.

FRATI, F. *et al.* *Vicia faba*–*Lygus rugulipennis* Interactions: Induced Plant Volatiles and Sex Pheromone Enhancement. **Journal of Chemical Ecology**, New York. v.35, p.201–208, 2009.

FUJII, T; HORI, M; MATSUDA, K. Attractants for rice leaf bug, *Trigonotylus caelestialium* (Kirkaldy), are emitted from flowering rice panicles. **Journal of Chemical Ecology**, New York.v.36, p.999–1005, 2010.

GOMI, K. *et al.* Role of hydroperoxide lyase in white-backed planthopper (*Sogatella furcifera* Horváth)-induced resistance to bacterial blight in rice, *Oryza sativa* L. **The Plant Journal**, Malden. n.61, p.46–57, 2010.

GROOT, A. T. *et al.* Sex-related perception of insect and plant volatiles in *Lygocoris pabulinus*. **Journal of Chemical Ecology**, New York. v.25, p.2357–2371, 1999.

HALITSCHKE, R, *et al.* Shared signals - 'alarm calls' from plants increase apparency to herbivores and their enemies in nature. **Ecology Letters**, Oxford. v.11, n.1, p.24-34, 2008.

HATANAKA, A. The biogenesis of green odour by green leaves. **Phytochemistry**, Oxford. n.34, p.2101–1218. 1993.

HARDIE, J; GIBSON, G; WYATT, T. D. Insect Behaviours Associated with Resource Finding. In: WOIWOD, I. P; REYNOLDS, D. R; THOMAS, C. D.(eds). **Insect Movement: Mechanisms and Consequences**, Wallingford: CAB International, 2001. p. 87-109.

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

HEIL, M. Damaged-self recognition in plant herbivore defence. **Trends in Plant Science**, London. v. 4, n. 7, p. 356-363, 2009.

HEIL, M. Plastic defence expression in plants. **Evolutionary Ecology**, Dordrecht . v. 24, n. 3, p. 555-569, 2010.

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

HU, Z. et al. Evidence for the signaling role of methyl jasmonate, methyl salicylate and benzothiazole between poplar (*Populus simonii* X *P. pyramidalis* 'Opera 8277') cuttings. **Trees-structure and function**, New York. v.23, p.1003–1011, 2009.

INSTITUTO RIOGRANDENSE DO ARROZ. **Acompanhamento da Colheita do Arroz Irrigado no Rio Grande do Sul - Safra 2009/10**. Maio 2010. Disponível em: <<http://www.irga.rs.gov.br/arquivos/20100520162718.pdf>>. Acesso em: 16 Jul. 2009.

KENNEDY, G.; BURLINGAME, B. Analysis of food composition data on rice from a plant genetic resources perspective. **Food Chemistry**, Kidlington Oxford, v. 80, n. 4, p. 589-596, 2003.

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

KESSLER, A ; HALITSCHKE, R ; BALDWIN, I. T. Silencing the jasmonate cascade : Induced plant defenses and insect populations. **Science**, Washington, v.35, p.665-668, 2004.

KNUDSEN, J. T. *et al.* Diversity and Distribution of Floral Scent. **The Botanical Review**, New York. v.72, n.1, p. 1–120, 2006.

KOHARA, K. *et al.* Fluctuations in volatile compounds in leaves, stems, and fruits of growing coriander (*Coriandrum sativum* L.) plants. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, Kyoto. v.75, n.3. p. 267–269. 2006.

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

LANDOLT, P. J; PHILLIPS, T. W. Host plant influences on sex pheromone behavior of phytophagous insects. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto. v.42, p.371–91, 1997.

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

LAUMANN, R. A. *et al.* Egg parasitoid wasps as natural enemies of the neotropical stink bug *Dichelops melacanthus*. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, Brasília. v.45, n.5, p.442-449, 2010.

LINCK, F.M. *et al.* Nível de infestação de *Tibraca limbativentris* na colheita do arroz irrigado. 2- Colheita normal e sadia (Março/ abril 2005). In: Congresso brasileiro de arroz irrigado e XXVI Reunião da cultura do arroz irrigado, Santa Maria, 2005. **Anais...Orum**, p 110-111. 2005.

LOAIZA J. C.M.; CÉSPEDES, C.L. Compuestos volatiles de plantas. Origen, emission efectos, análisis y aplicaciones al agro. **Revista Fitotecnia Mexicana**, Chapingo, v.30, n.4, p.327-351, 2007.

LOCH, A.D. Abundance, distribution, and availability of *Trissolcus basalus* (Wollaston) (Hymenoptera : Scelionidae) hosts in a soybean agricultural system in southeastern Queensland. **Biological Control**, Orlando. v.18, n.2, p.120-135, 2000.

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

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

MARQUES, F. A.; MCELFRISH, J. S., MILLAR, J. G. Kováts retention indexes of monounsaturated C12, C14, and C16 alcohols, acetates and aldehydes commonly found in lepidopteran pheromone blends. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. São Paulo, v.11, n.6, p.592-599, 2000.

MARTINS, J. F. S. *et al.* Descrição e manejo integrado de insetos-praga em arroz irrigado. In GOMES, A. S. da; MAGALHÃES JÚNIOR, A. M. (eds.) **Arroz irrigado no Sul do Brasil**. Brasília, Embrapa Informação Tecnológica, p. 635-675. 2004a. 899p.

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

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

MATSUI, K. *et al.* A lipid-hydrolysing activity involved in hexenal formation. **Biochemical Society**, London. n. 28, p.857-860, 2000.

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

METCALF, R. L; METCALF, E. R. **Plant kairomones in insect ecology and control**. New York: Chapman & Hall, 1992, 168p.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Agrofit-Sistema de agrotóxicos fitossanitários. 2010** Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 22. Jul. 2010.

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

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

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

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

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

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

NAVES, M. M. V; BASSINELLO, P. Z. Importância na nutrição humana. In: SANTOS, A. B; STONE, L. F; VIEIRA, N. R. A. (Ed). **A cultura do arroz no Brasil**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006. p. 17-18.

NEVES, I. P. **Dossiê Técnico: O cultivo do arroz**. Rede de Tecnologia da Bahia – RETEC/BA. Outubro, 2007. 22p.

NORDLUND, D. A; LEWIS, W.J. Semiocemichals: a review of the terminology. In: NORDLUND, D. A; JONES, R.L; LEWIS, W. J. (Eds.) **Semiocemicals: Their role in pest control**. New York: J. Wiley, 1981. p.13-23.

OBARA, N; HASEGAWA, M; KODAMA, O. Induced volatiles in elicitor-treated rice blast fungus-inoculated rice leaves. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, Tokio. v.66, p.2549-2559, 2002.

OKUDA, M.S; YEARGAN, K.V. Habitat partitioning by *Telenomus podisi* and *Trissolcus euschisti* (Hymenoptera: Scelionidae) between herbaceous and woody host plants. **Environmental Entomology**, Annapolis. v.17, p.795-798, 1988.

OLIVEIRA, J. V; DOTTO, G. M; SANTOS, J. L. R. Levantamento populacional do percevejo *Tibraca limbativentris* (Hemiptera: Pentatomidae) na região da Depressão Central do Rio Grande do Sul. In: Congresso brasileiro de arroz irrigado e XXVI Reunião da cultura do arroz irrigado, Santa Maria, 2005. **Anais...Orum**, p 103-104. 2005.

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

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA AGRICULTURA E ALIMENTAÇÃO - FAO. **Crop Prospects and Food Situation**. n. 2, Maio, 2010. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/012/ak347e/ak347e00.pdf>>. Acesso em: 16. Jul. 2010.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A AGRICULTURA E ALIMENTAÇÃO- FAO. **FAOSTAT: Food and Agricultural commodities production**. 2007. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/DesktopDefault.aspx?PageID=339&lang=en>>. Acesso em: 16. Jul. 2010.

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

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

PHEROBASE. **The Pherobase: Database of Insect Pheromones and Semiochemicals**. 2010. Disponível em: <http://www.pherobase.com/database/floral-compounds.php>. Acesso em: 17. Dez. 2010.

PHEROBASE. **Kovats Retention Index of Organic Compounds**. 2011. Disponível em: <http://www.pherobase.com/database/kovats/kovats-index.php>. Acesso em: 17. Abr. 2011.

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

PIESIK, D. *et al.* Behavioural responses of wheat stem sawflies to wheat volatiles. **Agricultural and Forest Entomology**, Oxford. v.10, p.245–253, 2008.

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

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

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

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

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

REDDY, G. V. P; GUERRERO, A. Interactions of insect pheromones and plant semiochemicals. **Trends in Plant Science**, London. v.9, n.5, 2004.

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

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

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

SCUTAREANU, P. *et al.* Constitutive and herbivore-induced volatiles in pear, alder and hawthorn trees. **Chemoecology**, Switzerland. v.13, p.63–74, 2003.

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

SILVA, J. J. da; *et al.* Metodologia para a criação de pentatomídeos fitófagos em laboratório. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 21. Recife. Entomologia: da academia à transferência de tecnologia: **Resumos** 562-1 Área Biologia. SEB: UFRPE, 2006.

SILVA, C.C. *et al.* *Euschistus heros* mass rearing technique for the multiplication of *Telenomus poldisi*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília. v.43, n.5, p.575-580, 2008.

SOARES, A. M. S.; MACHADO, O. L. T. Defesa de plantas: Sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Trópica Ciências Agrárias e Biológicas**, Chapadinha, v.1, n. 1, p. 9-19, 2007.

SOLÉ, J. *et al.* Behavioural and electrophysiological responses of the European corn borer *Ostrinia nubilalis* to host-plant volatiles and related chemicals. **Physiological Entomology**, Malden. v.35, p.354–363, 2010.

SOSBAI. Arroz Irrigado: **Recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil**. Porto Alegre: Sosbai, 2010. 188p.

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

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

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

SZENDREI, Z; RODRIGUEZ-SAONA, C. A meta-analysis of insect pest behavioral manipulation with plant volatiles. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Malden. v.134, n.3, p.201-210, 2010.

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

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

TORRES, J.B. *et al.* Parasitismo de ovos de *Podisus nigrispinus* (Dallas) em áreas de liberação. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina. v.25, p.465-473, 1996.

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

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

TUMLINSON, H. J; LEWIS, W. J; VET, L. E. M. How parasitic wasps find their hosts? **Scientific American**, New York. n.268, p.46-58, 1993.

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

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

VILELA, E. F.; DELLA-LUCIA, T. M. C. Introdução aos semioquímicos e terminologia. In: VILELA, E. F.; DELLA-LUCIA, T. M. C. **Feromônios de insetos: biologia, química e emprego no manejo de pragas**. Ribeirão Preto: Holos, 2001. p. 9-12.

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

YAN, Z. G; WANG, C. Z. Identification of *Mythmna separata*-induced maize volatile synomones that attract the parasitoid *Campoletis chlorideae*. **Journal of Applied Entomology**, Oxford. v.130, n.4, p.213–219, 2006.

YOUNG, V. R, PELLET P L. Plant proteins in relation to human protein and amino acid nutrition. **American Journal for Clinical Nutrition**, Bethesda. v. 59, p. 1203 - 1212. 1994

WEBSTER, B. *et al.* Identification of Volatile Compounds Used in Host Location by the Black Bean Aphid, *Aphis fabae*. **Journal of Chemical Ecology**, New York. v.34, p.1153–1161, 2008.

WEBSTER, B. *et al.* Between plant and diurnal variation in quantities and ratios of volatile compounds emitted by *Vicia faba* plants. **Phytochemistry**, Oxford. n.71, p.81–89, 2010.

WEISSBECKER, B; VAN LOON, J, J, A; DICKE, M. Electroantennogram responses of a predator, *Perillus bioculatus*, and its prey, *Leptinotarsa decemlineata*, to plant volatiles. **Journal of Chemical Ecology**, New York. v.25, n.10, 1999.

WEISSBECKER B, *et al.* Identification of volatile potato sesquiterpenoids and their olfactory detection by the two spotted stink bug *Perillus bioculatus*. **Journal of Chemical Ecology**, New York. v.26, n.6, p.1433–1445, 2000.

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

WILLIAMS, L. *et al.* Plant Volatiles Influence Electrophysiological and Behavioral Responses of *Lygus hesperus*. **Journal of Chemical Ecology**, New York. v.36, p. 467–478, 2010.

APÊNDICE 1. Índice de Kováts

O uso de índices de retenção pode ser uma alternativa para a identificação de compostos orgânicos com estrutura química semelhante, o índice mais conhecido é o de Kováts que é calculado com relação a uma série de padrões de hidrocarbonetos de cadeias lineares (Marques *et al.*, 2000; Pherobase, 2011).

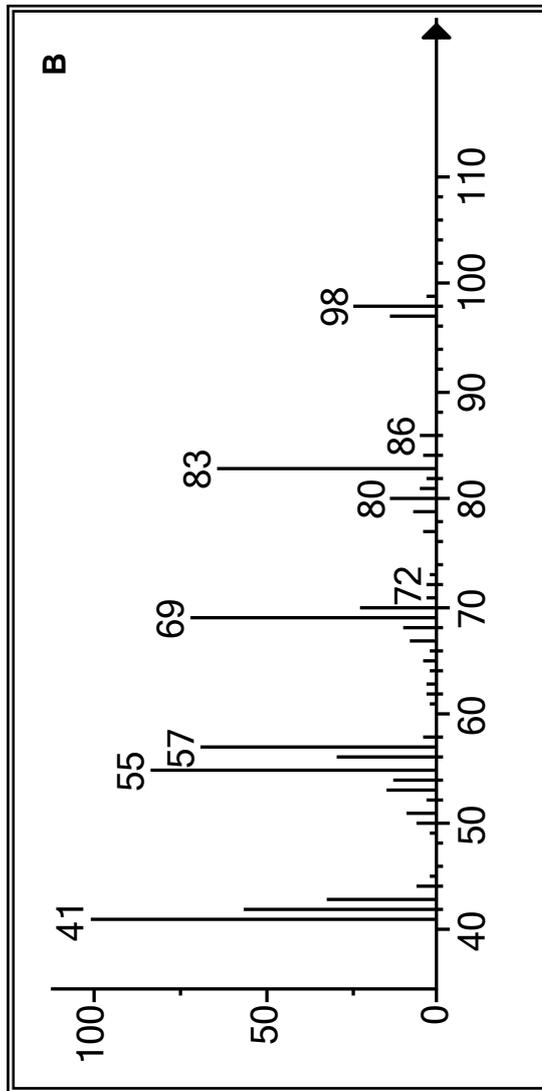
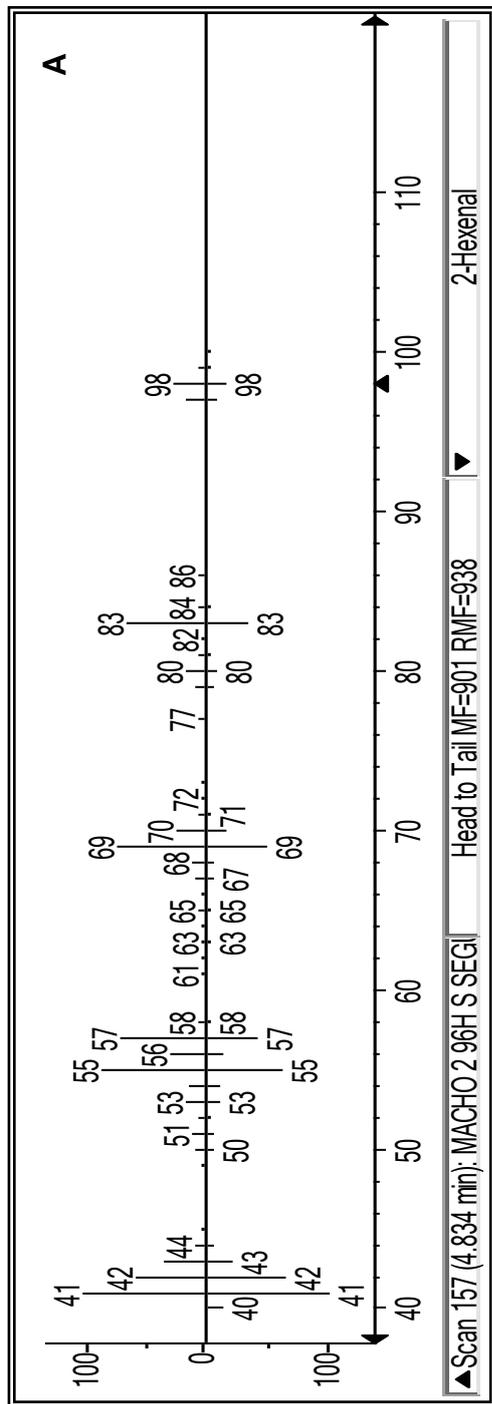
O índice de retenção de Kováts pode ser definido como cem vezes um número hipotético, que é igual ao número de átomos de carbono de um alcano saturado de cadeia normal, que tem o mesmo tempo de retenção ajustado que o composto, cujo índice está sendo calculado. Este índice é relativo, dessa forma, pode ser reproduzido usando a mesma fase estacionária em diferentes equipamentos e então, comparados. Para se determinar o índice de retenção de outros compostos em relação aos padrões, deve-se especificar as condições experimentais, tais como, fase estacionária, temperatura e outros (Marques *et al.*, 2000; Pherobase, 2011).

No presente estudo, o cálculo foi realizado através da seguinte equação:

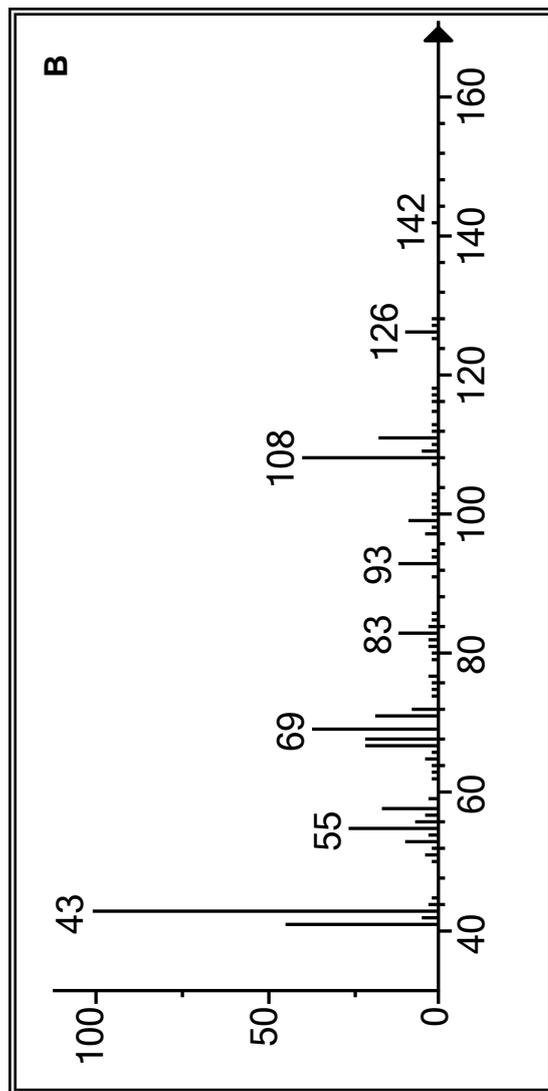
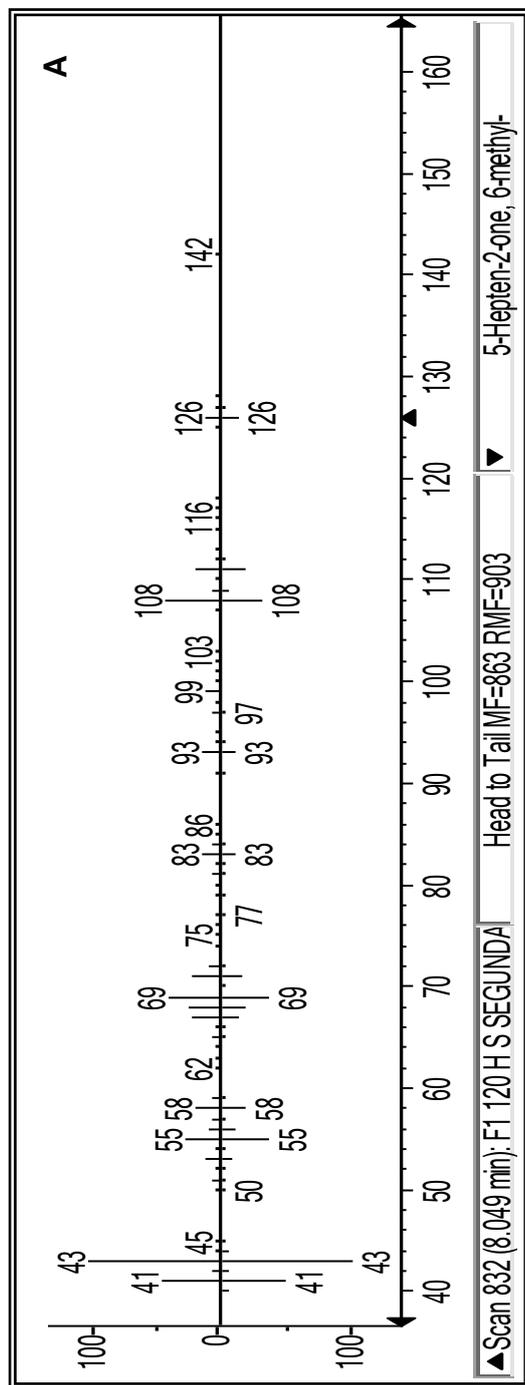
$$KI = 100 * n + 100 * (N - n) * \frac{t_{rx} - t_m}{t_{rN} - t_m}$$

Onde n é o número de carbonos do n-alcane, t_{rx} é o tempo de retenção do padrão, t_m é o tempo de retenção do alcano imediatamente anterior ao padrão, e t_{rN} o tempo de retenção do n-alcane localizado imediatamente após o padrão avaliado.

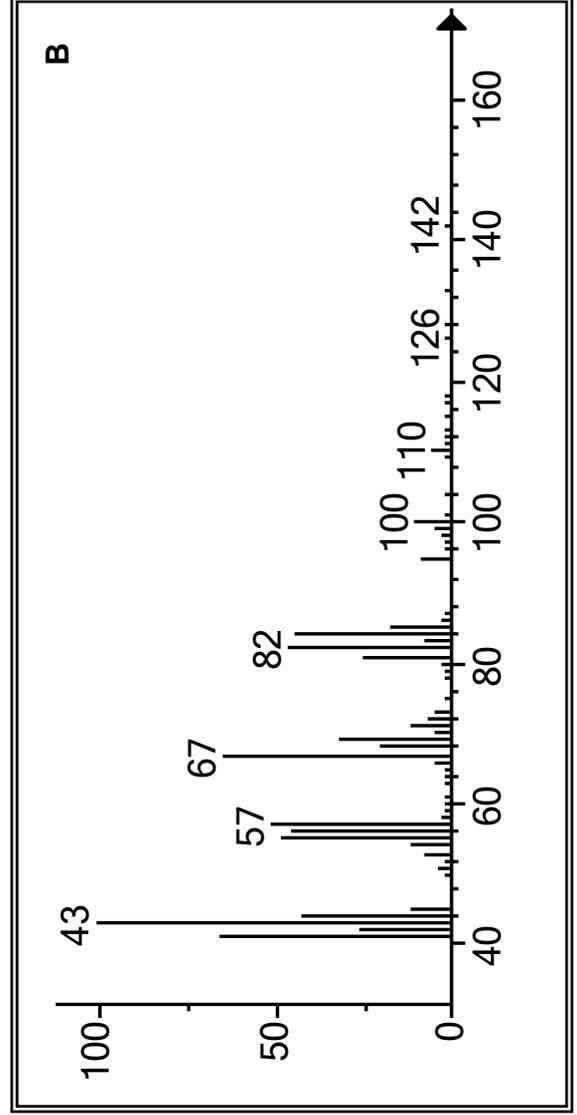
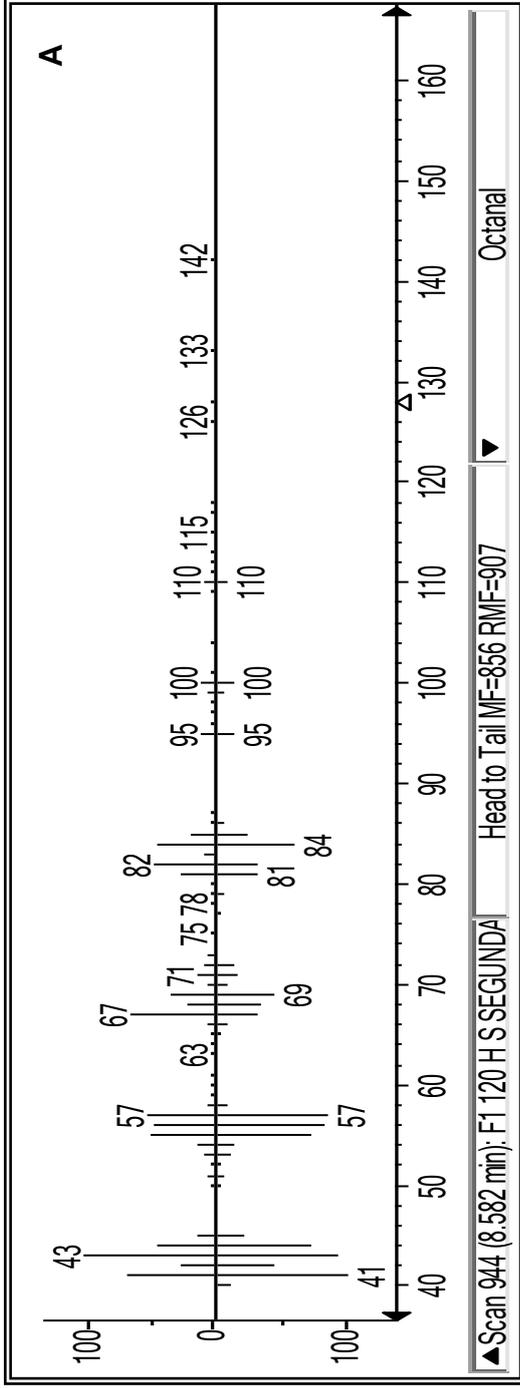
APÊNDICE 2. Espectro de massas de (*E*)-2-hexenal proveniente do extrato de plantas de arroz (*Oryza sativa*) em comparação com o padrão dos compostos da biblioteca de espectros de massas (A) e padrão sintético (B). CG-MS Agilent 5975 MSD (70 eV).



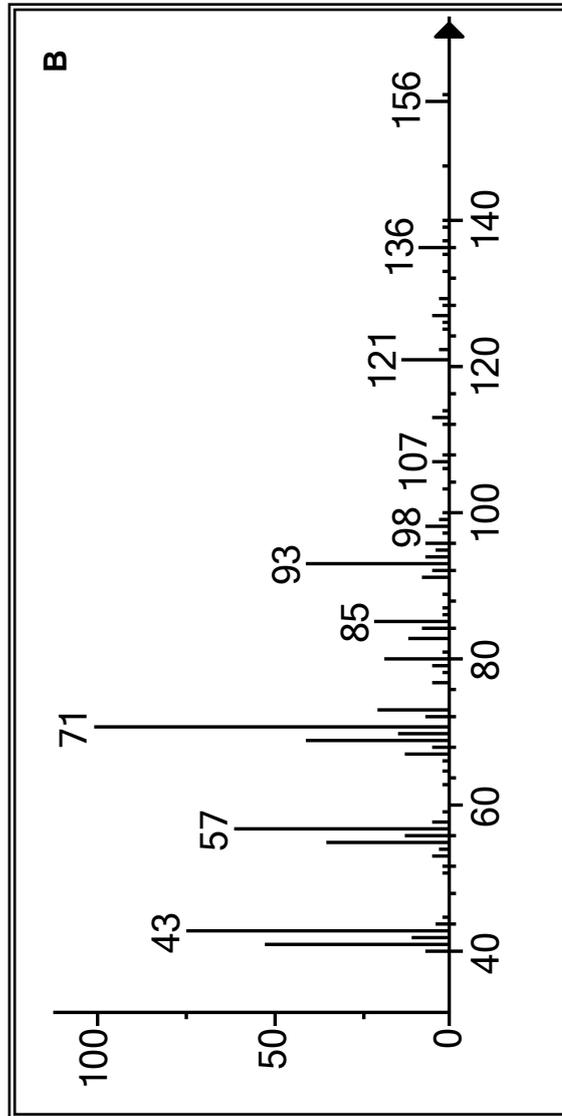
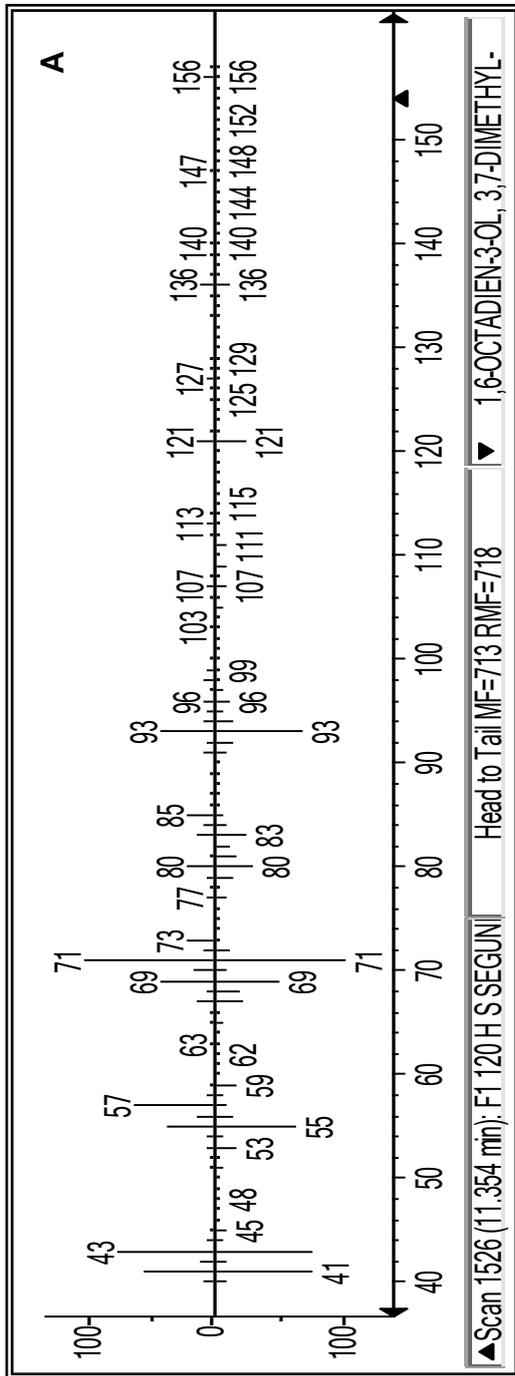
APÊNDICE 3. Espectro de massas de 6-Metilept-5-en-2-ona proveniente do extrato de plantas de arroz (*Oryza sativa*) em comparação com o padrão dos compostos da biblioteca de espectros de massas (A) e padrão sintético (B). CG-MS Agilent 5975 MSD (70 eV).



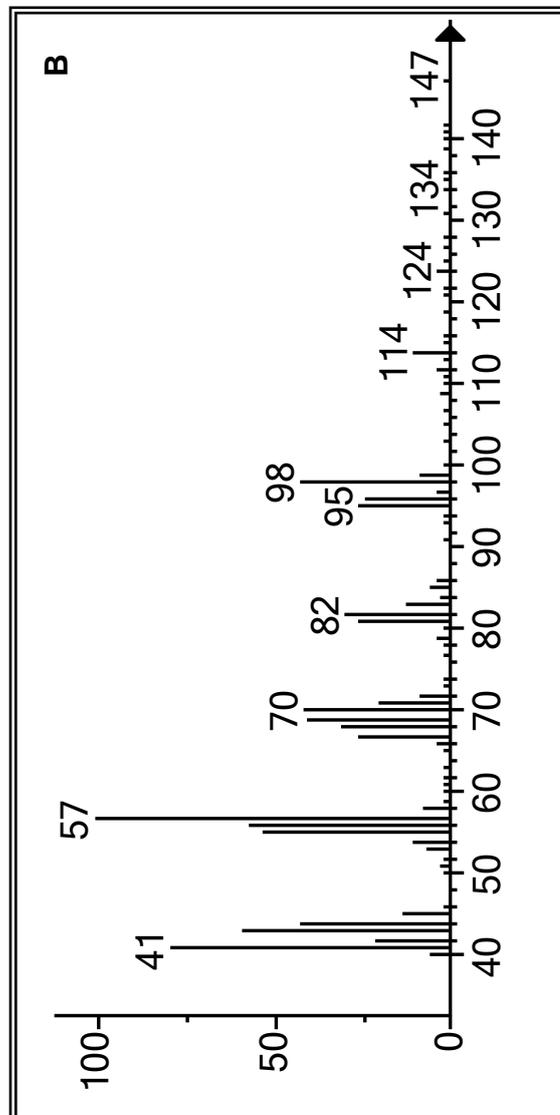
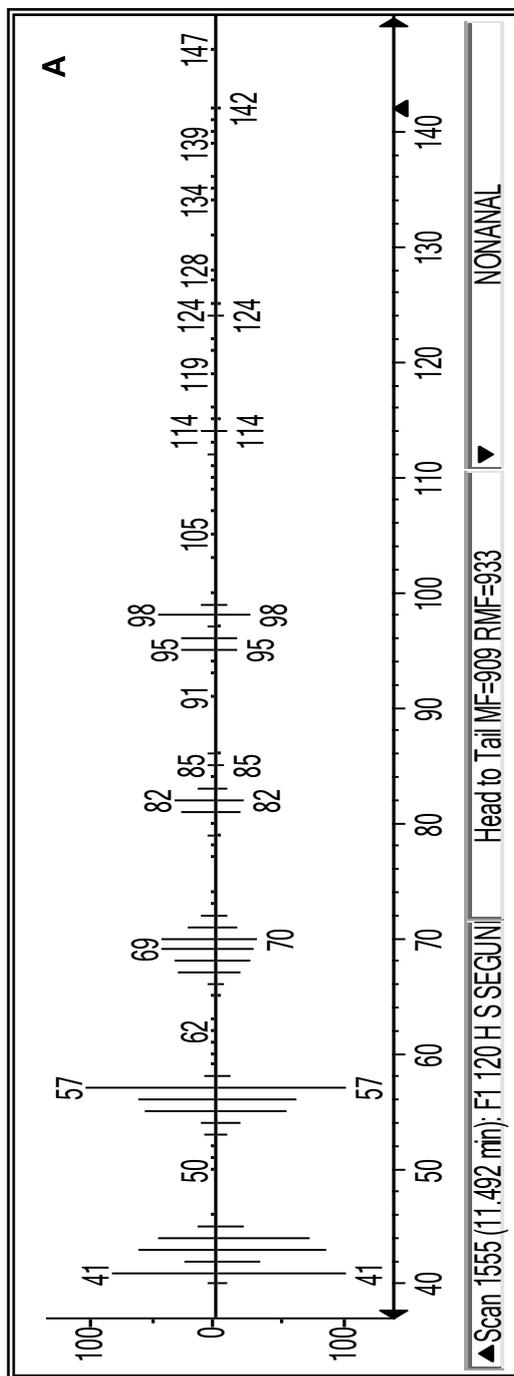
APÊNDICE 4. Espectro de massas de Octanal proveniente do extrato de plantas de arroz (*Oryza sativa*) em comparação com o padrão dos compostos da biblioteca de espectros de massas (A) e padrão sintético (B). CG-MS Agilent 5975 MSD (70 eV).



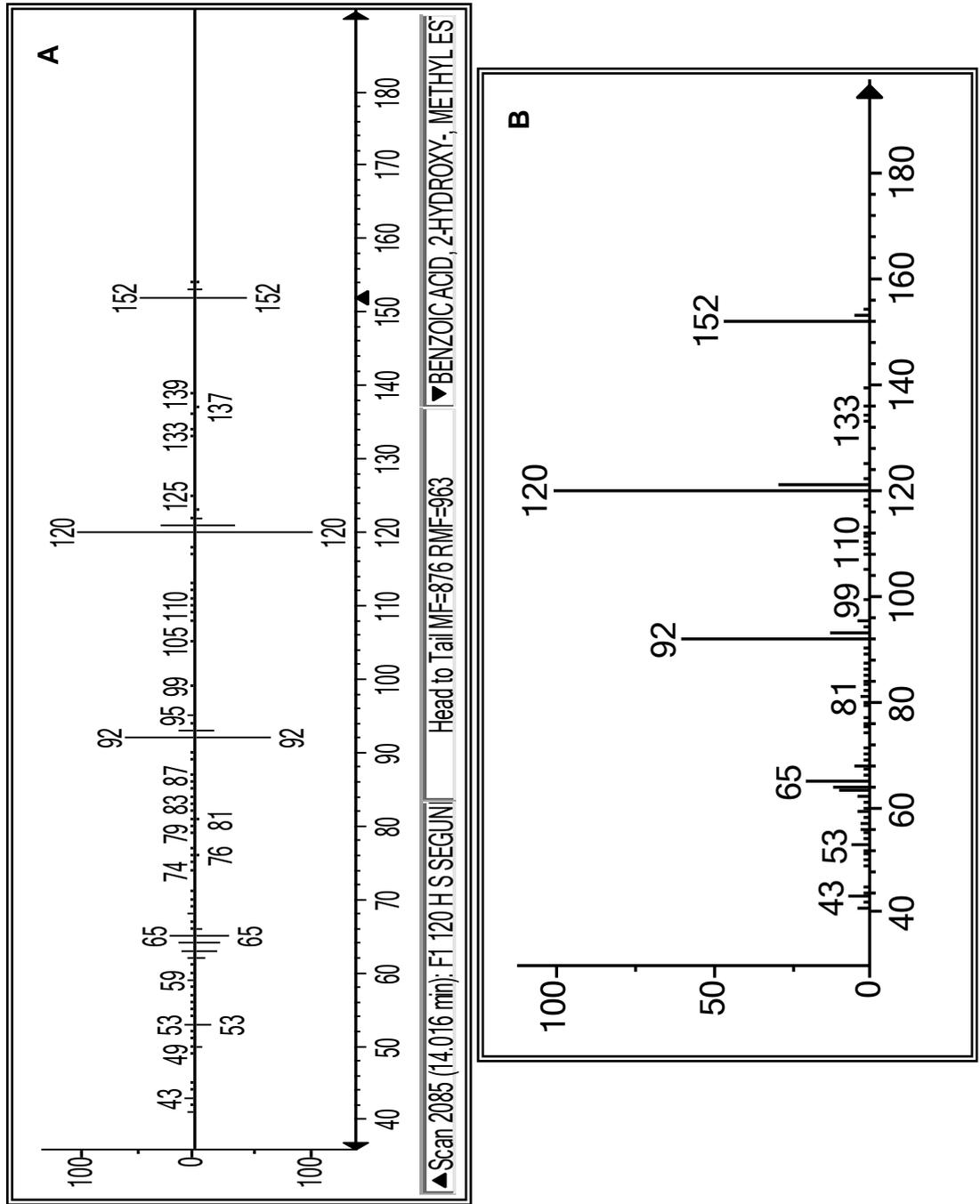
APÊNDICE 5. Espectro de massas de Linalol proveniente do extrato de plantas de arroz (*Oryza sativa*) em comparação com o padrão dos compostos da biblioteca de espectros de massas (A) e padrão sintético (B). CG-MS Agilent 5975 MSD (70 eV).



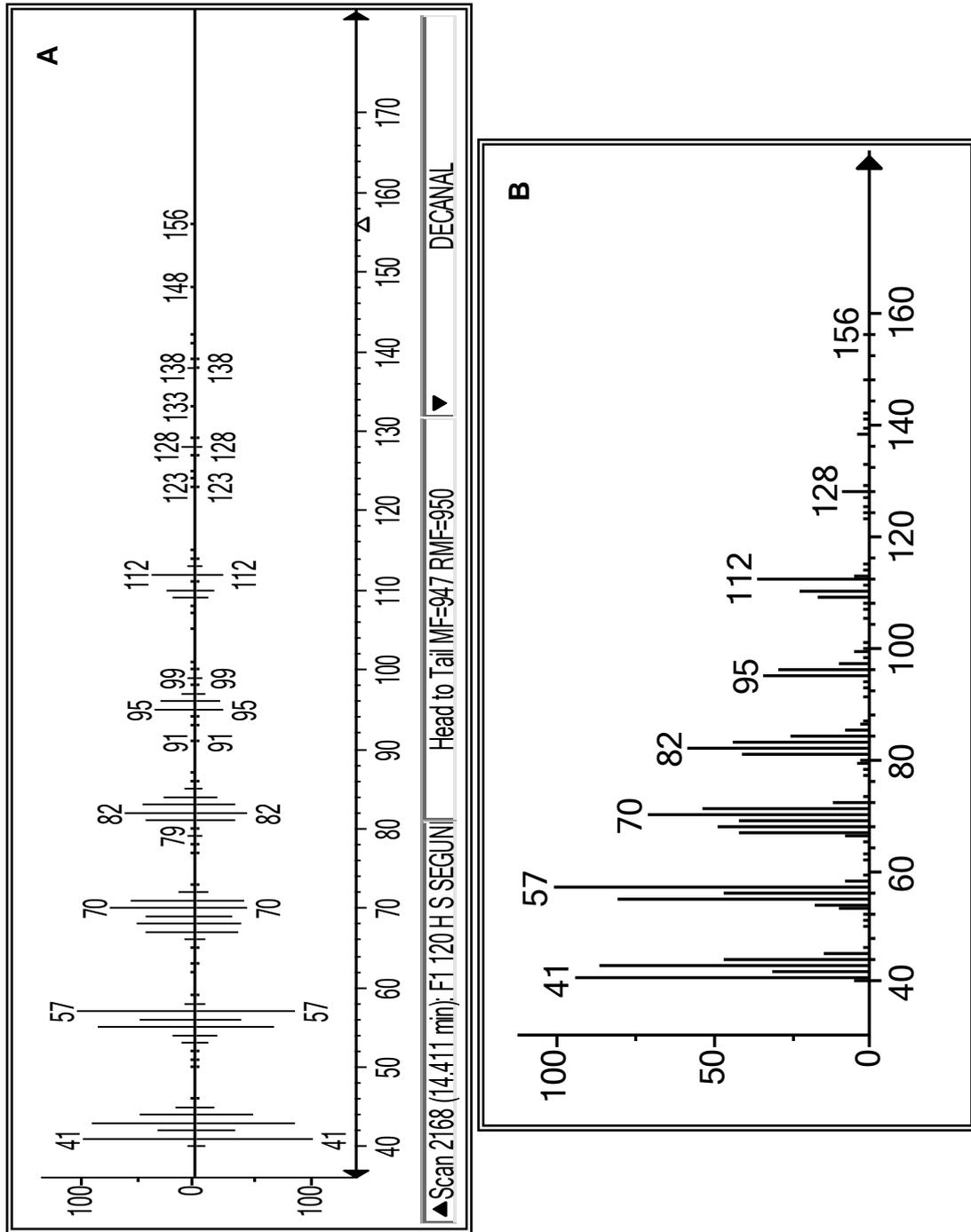
APÊNDICE 6. Espectro de massas de nonanal proveniente do extrato de plantas de arroz (*Oryza sativa*) em comparação com o padrão dos compostos da biblioteca de espectros de massas (A) e padrão sintético (B). CG-MS Agilent 5975 MSD (70 eV).



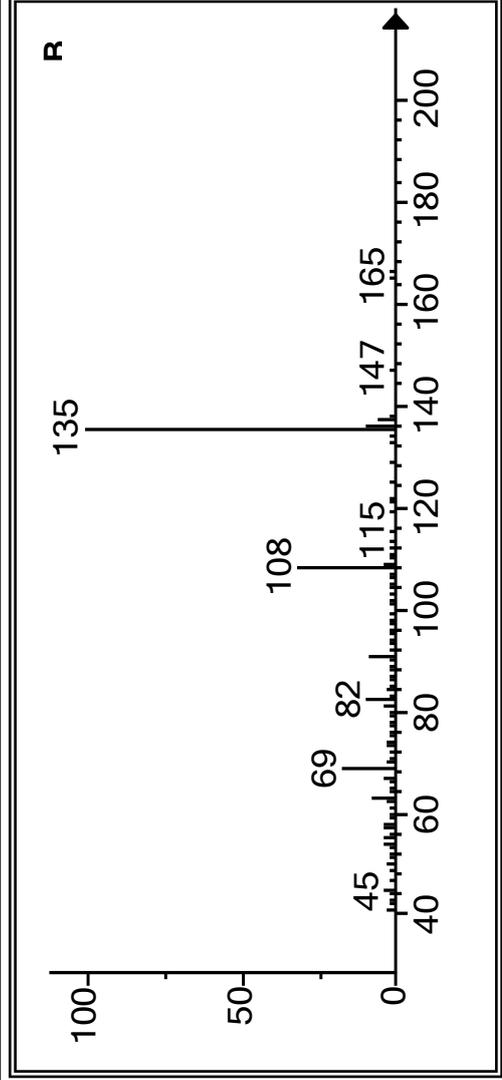
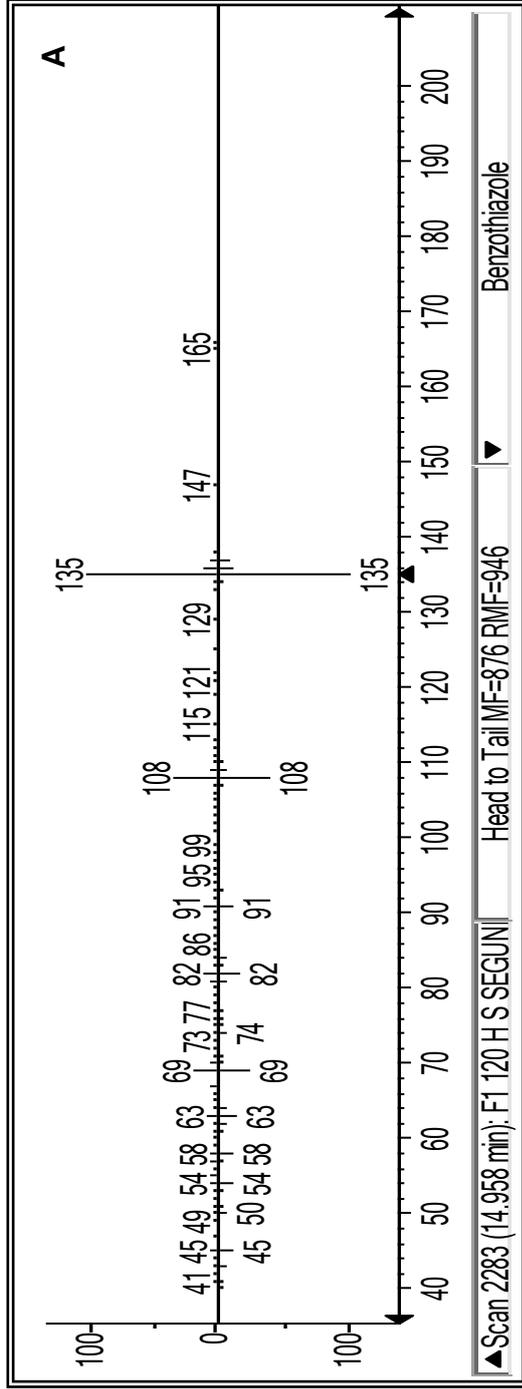
APÊNDICE 7. Espectro de massas de salicilato de metila proveniente do extrato de plantas de arroz (*Oryza sativa*) em comparação com o padrão dos compostos da biblioteca de espectros de massas (A) e padrão sintético (B) CG-MS Agilent 5975 MSD (70 eV).



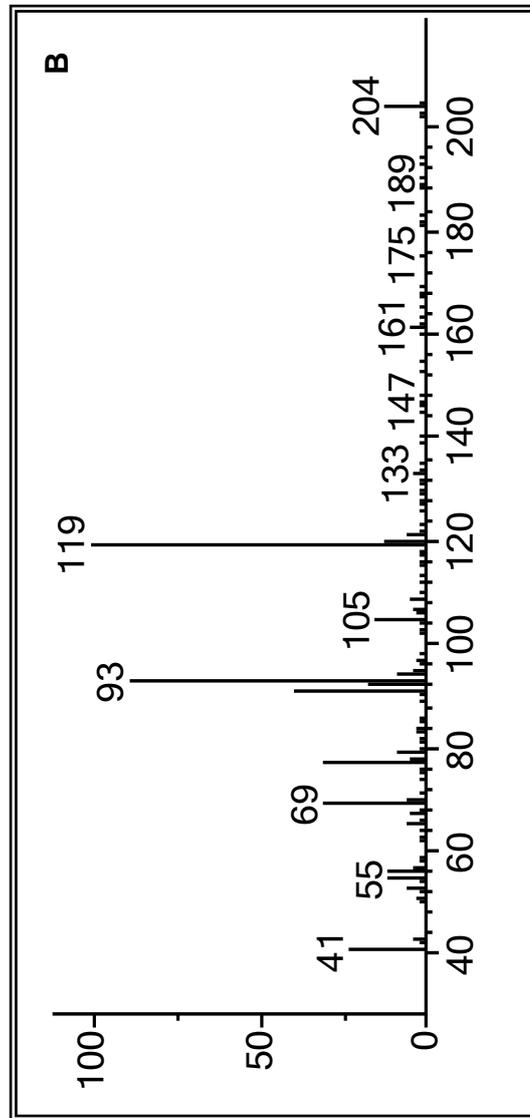
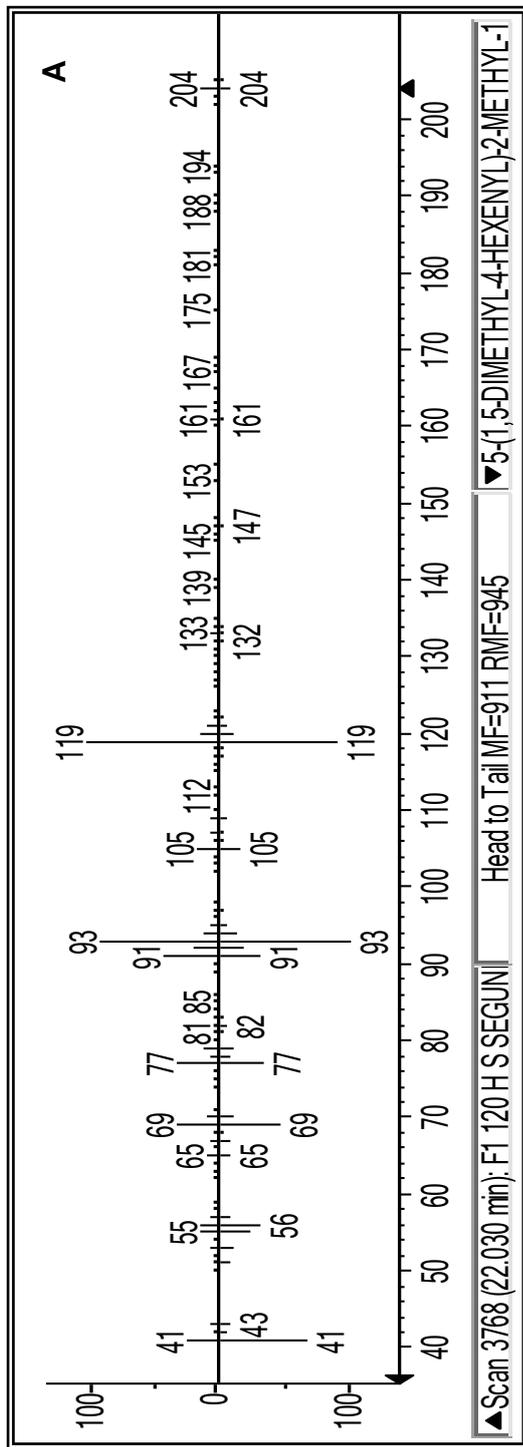
APÊNDICE 8. Espectro de massas de decanal proveniente do extrato de plantas de arroz (*Oryza sativa*) em comparação com o padrão dos compostos da biblioteca de espectros de massas (A) e padrão sintético (B).



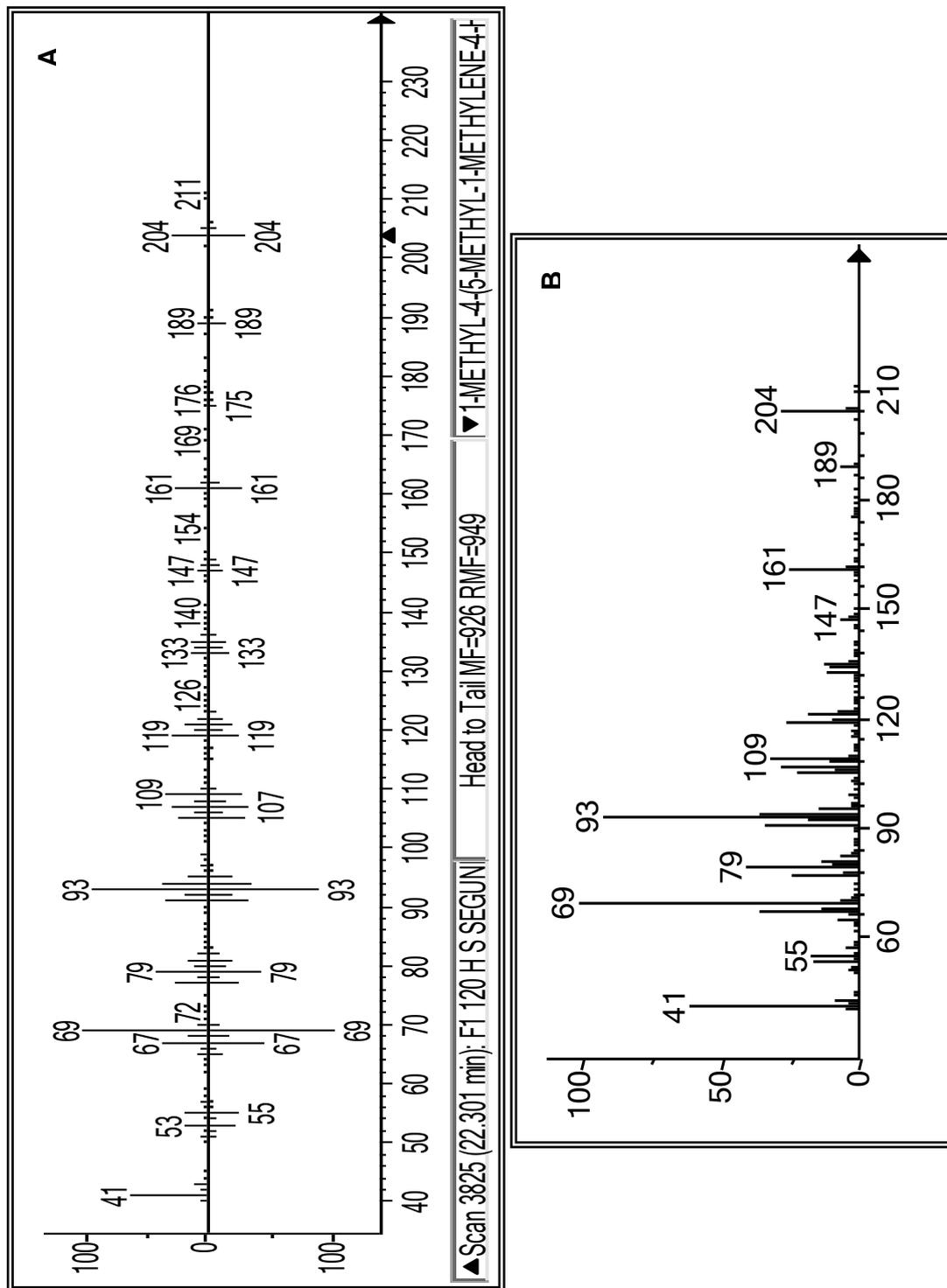
APÊNDICE 9. Espectro de massas de benzotiazol proveniente do extrato de plantas de arroz (*Oryza sativa*) em comparação com o padrão dos compostos da biblioteca de espectros de massas (A) e padrão sintético (B) CG-MS Agilent 5975 MSD (70 eV).



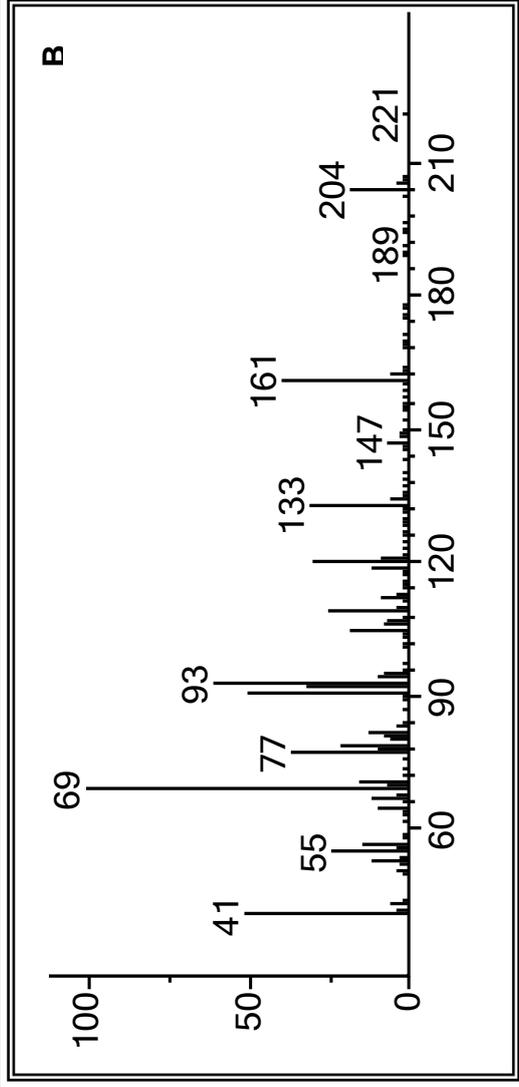
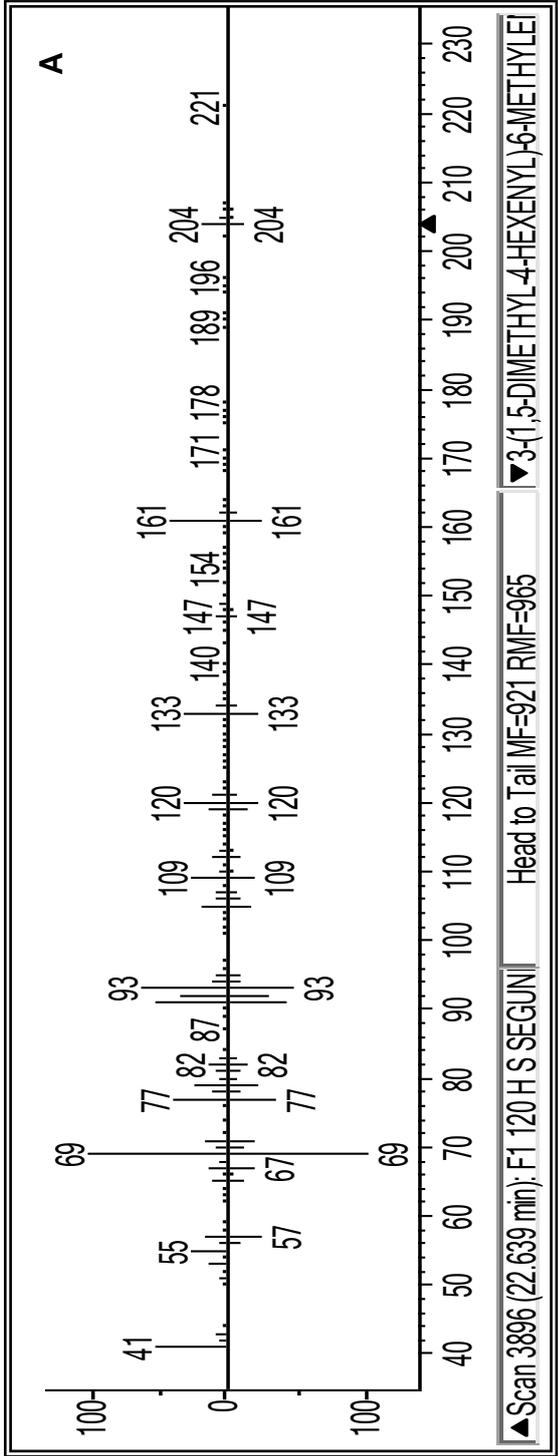
APÊNDICE 10. Espectro de massas de α -zingerbereno proveniente do extrato de plantas de arroz (*Oryza sativa*) em comparação com o padrão dos compostos da biblioteca de espectros de massas (A) e padrão sintético (B) CG-MS Agilent 5975 MSD (70 eV).



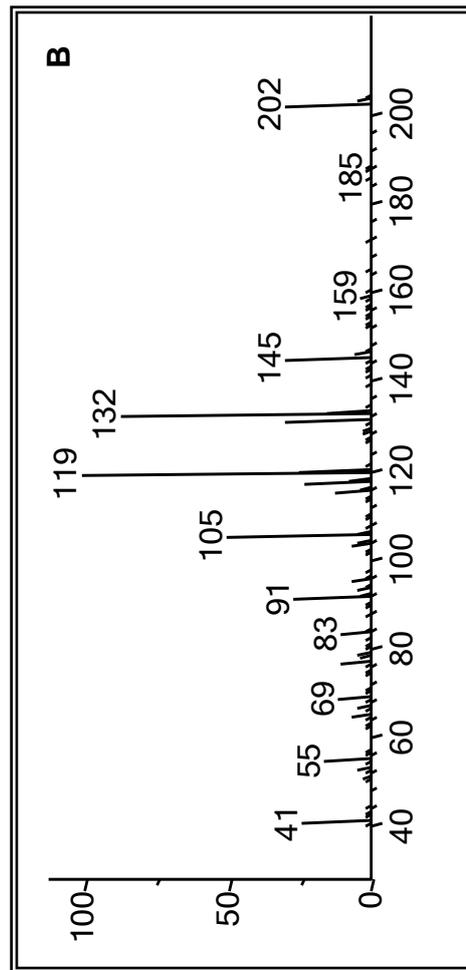
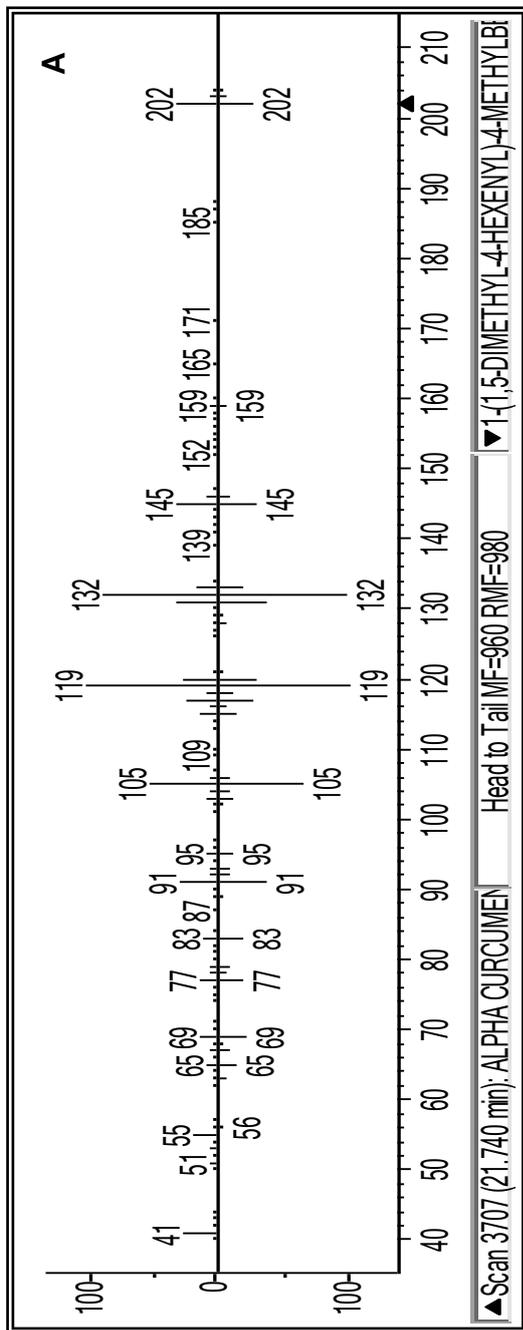
APÊNDICE 11. Espectro de massas de β -bisaboleno proveniente do extrato de plantas de arroz (*Oryza sativa*) em comparação com o padrão dos compostos da biblioteca de espectros de massas (A) e padrão sintético (B) CG-MS Agilent 5975 MSD (70 eV).



APÊNDICE 12. Espectro de massas de β -sesquifelandreno proveniente do extrato de plantas de arroz (*Oryza sativa*) em comparação com o padrão dos compostos da biblioteca de espectros de massas (A) e padrão sintético (B) CG-MS Agilent 5975 MSD (70 eV).



APÊNDICE 13. Espectro de massas de α -curcumeno proveniente do extrato de plantas de arroz (*Oryza sativa*) em comparação com o padrão dos compostos da biblioteca de espectros de massas (A) e padrão sintético (B) CG-MS Agilent 5975 MSD (70 eV).



APÊNDICE 14. Espectro de massas de geranyl acetona proveniente do extrato de plantas de arroz (*Oryza sativa*) em comparação com o padrão dos compostos da biblioteca de massas (A) e padrão sintético (B) CG-MS Agilent 5975 MSD (70 eV).

