

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA**

Mariana Santos Gomes de Oliveira

**SEMIOQUÍMICOS ENVOLVIDOS NAS INTERAÇÕES TRITRÓFICAS ENTRE A
PALMA FORRAGEIRA, A COCHONILHA DE ÉSCAMA *Diaspis echinocacti*
(BOUCHÉ, 1833) (HEMIPTERA: DIASPIDIDAE) E DOIS DE SEUS PREDADORES,
Zagreus bimaculosus (MULSANT, 1850) (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) E
Chilocorus nigrita (FABRICIUS, 1798) (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE)**

Maceió
2014

Mariana Santos Gomes de Oliveira

SEMIOQUÍMICOS ENVOLVIDOS NAS INTERAÇÕES TRITRÓFICAS ENTRE A PALMA FORRAGEIRA, A COCHONILHA DE ÉSCAMA *Diaspis echinocacti* (BOUCHÉ, 1833) (HEMIPTERA: DIASPIDIDAE) E DOIS DE SEUS PREDADORES, *Zagreus bimaculosus* (MULSANT, 1850) (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) E *Chilocorus nigrita* (FABRICIUS, 1798) (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE)

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial do exame de qualificação de Doutorado.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Santana

Maceió
2014

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecária responsável: Lucia Lima do Nascimento

O48s Oliveira, Mariana Santos Gomes de.
Semioquímicos envolvidos nas interações tritróficas entre a palma forrageira, a cochonilha de escama *Diaspis echinocacti* (Bouché, 1833) (Hemiptera: Diaspididae) e dois de seus predadores, *Zagreus bimaculosus* (Mulsant, 1850) (Coleoptera: Coccinellidae) e *Chilocorus nigrita* (Fabricius, 1798) (Coleoptera: Coccinellidae) / Mariana Santos Gomes de Oliveira. – Maceió, 2014.

103 f. : il., graf., tabs.

Orientador: Antonio Euzébio Goulart Santana.
Tese (Doutorado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2014.

Bibliografia: p. 94-103.

1. Ecologia química. 2. Semioquímicos. 3. Cochonilha. 4. Joaquina.
I. Título.

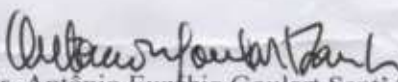
CDU: 543.97:632.937.1

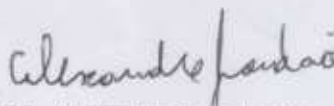


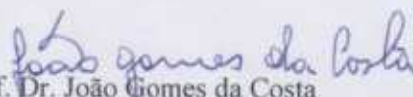
FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora da Defesa de Tese da Doutoranda **MARIANA SANTOS GOMES DE OLIVEIRA**, intitulada: “Estudo das Interações Tritróficas Entre a Palma Forrageira, a Cochonilha de Escama *Diaspis echinocacti* (BOUCHÉ, 1833) (HEMIPTERA):DIASPIDIDAE) e Dois de Seus Predadores, *Zagreus bimaculosus* (MULSANT) (COLEOPTERA:COCCINELLIDAE) e *Chilocorus nigrita* (FABRICIUS) (COLEOPTERA:COCCINELLIDAE)”, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas em 08 de outubro de 2014, às 09h, na Sala de Aulas do Renorbio/UFAL.


COMISSÃO JULGADORA


Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana
Orientador (PPGQB/IQB/UFAL)


Dr. Alexandre Luis Jordão
(IEPA/Macapá - AP)


Prof. Dr. João Gomes da Costa
(EMBRAPA)


Prof. Dr. Elio Cesar Guzzo
(EMBRAPA)


Prof.ª Dr.ª Ruth Rufino do Nascimento
(PPGQB/IQB/UFAL)

AGRADECIMENTOS

Ao Professor e orientador Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana por toda colaboração e tempo dedicado.

Ao Dr. João Gomes da Costa pelos valiosos ensinamentos e contribuições a esta tese.

Ao pesquisador Fernando Gomes (SEAGRI-AL) pelos exemplares de palma forrageira fornecidos.

À aluna de iniciação científica, Andreza Heloísa, por ter me auxiliado em muitas etapas deste trabalho.

Ao Aldy, pela inigualável ajuda e suporte, dado durante todo o curso de doutorado.

À amiga e colega de laboratório, Nadia Jelvez, pelas análises no CG-EAG e companheirismo pessoal.

À minha família pelo apoio e confiança, em especial, meu marido e companheiro José Roberto, que me auxiliou não só na vida pessoal, mas também em muitas coletas de materiais.

Aos amigos, Ingrid Sofia, Daniel Lira, Pedro Gregório, Carla Karine, Isis Torres, Dannielle Lima, Kirley Michele, Cenira Monteiro, Edjane Pires, Paulo Henrique, Andréa Vanderlei, Núbia e Sheila, que de alguma forma estiveram envolvidos neste trabalho e na minha vida pessoal e acadêmica.

Aos demais colegas de laboratório pelo companheirismo durante o período de doutorado.

Aos professores do curso de Pós Graduação em Química e Biotecnologia pelo conhecimento adquirido.

Aos Professores e Pesquisadores da Banca Examinadora pela participação e contribuições para a melhoria desse trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida durante o período de doutorado.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa de Alagoas (FAPEAL), pelo auxílio a esta pesquisa.

RESUMO

A palma é uma importante cultura, principalmente por seu potencial forrageiro, sendo uma alternativa para alimentação de rebanhos quando há escassez de pastagens nativas, inclusive em períodos de seca prolongada. Um dos principais problemas no cultivo da palma forrageira é a infestação de pragas, como a cochonilha em escama, *Diaspis echinocacti*, que quando não controlada pode causar perdas severas na produtividade, podendo chegar a 100%. O Manejo Integrado é uma alternativa para o controle desta praga e manutenção da produção fora de um dano econômico. Assim sendo, este estudo objetivou avaliar a interação entre a palma forrageira, a cochonilha de escama e dois de seus inimigos naturais, *Zagreus bimaculosus* e *Chilocorus nigrita*. Os compostos orgânicos voláteis (COVs) liberados por dez variedades de palma forrageira, sadias e infestadas por *D. echinocacti*, assim como os voláteis liberados pelos dois inimigos naturais estudados foram coletados por aeração e extraídos com hexano grau HPLC. Os extratos foram submetidos a bioensaios comportamentais em olfatômetro Y, para identificação de sua atividade atraente para os inimigos naturais, *Z. bimaculosus* e *C. nigrita*, e em seguida submetidos a análises químicas por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM) para identificação dos COVs. Foram realizados testes eletrofisiológicos com Cromatografia Gasosa acoplada ao Eletroantenoógrafo (CG-EAG) dos extratos que exibiram atividade nos bioensaios comportamentais. Os resultados obtidos demonstraram que as espécies de joaninhas estudadas são atraídas pelos extratos, em sua maioria, após o processo de infestação com *D. echinocacti*, e que os perfis de emissão dos COVs das dez variedades estudadas diferem entre si. Dentre os COVs identificados nos extratos de *Z. bimaculosus* e *C. nigrita*, encontram-se o 1-etil-hexanol, 3,7-dimetil-octanol, 1-heptacosanol, 1-decanol, 2-propil-1-heptanol e o farnesol, os quais foram identificados como componentes do feromônio de agregação de coleópteros e como constituintes cuticulares de coleópteros. Observa-se ainda que novos compostos foram encontrados nos extratos das dez variedades de palma forrageira infestadas com a cochonilha de escama, *D. echinocacti*, dentre estes compostos estão o *n*-octanal, geranyl linalol, linalol, *n*-nonanal, *n*-decanal e esqualeno, os quais estão associados a defesa de plantas, inclusive na atração de inimigos naturais. Esses resultados comprovam a importância dos COVs produzidos por plantas para sua defesa, após um processo de herbivoria, inclusive no que diz respeito à atração de inimigos naturais. Os COVs liberados pelas duas espécies de joaninhas estudadas podem ser componentes do feromônio de agregação, uma vez que houve atratividade demonstrada em bioensaios comportamentais.

Palavras-chaves: Ecologia química. Semioquímicos. Cochonilha. Joaninha.

ABSTRACT

The palm is an important crop, primarily for its forage potential, being an alternative to feeding livestock in scarce native grasslands, especially during periods of prolonged drought. One of the main problems in the cultivation of cactus pear is the infestation of pests such as mealybug in scale, *Diaspis echinocacti*, when uncontrolled can cause severe yield losses, reaching 100%. The Integrated Management is an alternative to control this pest and maintenance of production out of economic damage. Therefore, this study aimed to evaluate the interaction between the spineless cactus, cochineal scale and two of its natural enemies, *Zagreus bimaculosus* and *Chilocorus nigrita*. Volatile organic compounds (VOCs) released by ten varieties of cactus, healthy and infested by *D. echinocacti*, as well as the volatiles released by the two natural enemies studied were collected by aeration and extracted with n-hexane HPLC. The extracts were subjected to behavioral bioassays in olfactometer Y to identify their attractive activity for natural enemies, *Z. bimaculosus* and *C. nigrita*, and then subjected to chemical analysis by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) for identification of VOCs. Electrophysiologic testing with gas chromatography coupled to electroantennograph (GC-EAG) of the extracts that showed activity in behavioral bioassays were conducted. The results showed that the species of ladybugs are attracted by the extracts studied, mostly after the process of infestation with *D. echinocacti*, and that the profiles of the emission of VOCs of ten varieties studied differed. Among the VOCs identified in extracts of *Z. bimaculosus* and *C. nigrita*, are the 1-ethyl-hexanol, 3,7-dimethyl-octanol, 1-heptacosanol, 1-decanol, 2-propyl-1-heptanol and farnesol, which were identified as components of the aggregation pheromone of beetles and beetle cuticular constituents. It also observe that new compounds were found in the extracts of ten varieties of cactus infested with cochineal scale of *D. echinocacti*, among these compounds are the *n*-octanal, geranyl linalool, linalool, *n*-nonanal, *n*-decanal and squalene, which are associated with plant defense, including the attraction of natural enemies. These results demonstrate the importance of VOCs produced by plants for their defense, after a process of herbivory, including with regard to the attraction of natural enemies. VOCs released by two species of ladybugs can be studied components of the aggregation pheromone, since attractiveness was demonstrated in behavioral bioassays.

Keywords: Chemical ecology. Semiochemicals. Cochineal. Ladybug.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Plantio de palma forrageira (<i>Nopalea cochenillifera</i>) no povoado de Curral Novo, Major Isidoro – AL.....	15
Figura 2. Cladódio de palma gigante (<i>O. ficus-indica</i>) infestada por <i>D. opuntiae</i>	16
Figura 3. Cladódio de palma miúda (<i>N. cochenillifera</i>) infestada por <i>D. echinocacti</i>	17
Figura 4. Ciclo biológico de <i>D. echinocacti</i>	18
Figura 5. <i>D. echinocacti</i> (A) macho e (B) fêmea.....	19
Figura 6. Relação inseto x planta que caracteriza inseto praga.....	21
Figura 7. Adulto de <i>Zagreus bimaculosus</i> alimentando-se de <i>D. echinocacti</i> em raquete de palma miúda.....	23
Figura 8. Larvas dos 4 ^o e 5 ^o ínstar de <i>Z. bimaculosus</i> alimentando-se de <i>D. echinocacti</i> em raquete de palma miúda.....	24
Figura 9. Diferenças morfológicas no abdômen de <i>Z. bimaculosus</i> . A) macho e B) fêmea.....	25
Figura 10. Adultos de <i>C. nigrita</i> alimentando-se de <i>D. echinocacti</i> em palma miúda.....	26
Figura 11. Infestação de palma forrageira a partir de raquetes já infestadas por <i>D. echinocacti</i> , através da preparação de “sanduíches”.....	32
Figura 12. Tubo de vidro com Porapak Q® antes da limpeza.....	33
Figura 13. Cladódio de palma forrageira envolvido com saco de polietileno pronto para aeração.....	34
Figura 14. Processo de aeração de <i>Chilocorus nigrita</i> , utilizando as câmaras de vidro com 40 insetos por câmara, separados por sexo.....	35
Figura 15. Olfatômetro em Y utilizado nos ensaios comportamentais com os predadores <i>C. nigrita</i> e <i>Z. bimaculosus</i>	36
Figura 16. Cabeça de <i>Z. bimaculosus</i> macho com antenas conectadas ao eletrodo do eletroantenógrafo, utilizando solução fisiológica 0,9% como transmissor elétrico.....	37
Figura 17. Resposta eletrofisiológica de machos de <i>Z. bimaculosus</i> aos extratos de machos co-específicos, , n=5.....	42
Figura 18. Espectro de Massas e fragmentações do 2,4-Nonadienal.....	42
Figura 19. Resposta eletrofisiológica de machos de <i>Z. bimaculosus</i> aos extratos de fêmeas co-específicas, , n=5.....	43
Figura 20. Espectro de Massas e fragmentações do 1,3,5-undecatrieno.....	43
Figura 21. Espectro de Massas e fragmentações do 1-Dodeceno.....	45
Figura 22. Resposta eletrofisiológica de machos de <i>Z. bimaculosus</i> aos extratos de fêmeas co-específicas, , n=5.....	46
Figura 23. Espectro de Massas e fragmentações do 1-Octen-3-ol.....	47
Figura 24. Espectro de Massas e fragmentações do 3,7-dimetil-2,6-octadienal... ..	48
Figura 25. Resposta eletrofisiológica de fêmeas de <i>Z. bimaculosus</i> aos extratos de fêmeas co-específicas, , n=5.....	49
Figura 26. Espectro de Massas e fragmentações do Decanal.....	50
Figura 27. Espectro de Massas e fragmentações do Tridecano.....	51
Figura 28. Espectro de Massas e fragmentações do Pentadecano.....	52
Figura 29. Espectro de Massas e fragmentações do Farnesol.....	53
Figura 30. Cromatogramas representativos das análises dos extratos de machos e fêmeas de <i>Zagreus bimaculosus</i> por CG-EM.....	55
Figura 31. Cromatograma representativo apresentando os picos que	

diferenciam os machos (para baixo) das fêmeas (para cima).....	55
Figura 32. Cromatogramas representativos das análises dos extratos de machos e fêmeas de <i>Chilocorus nigrita</i> por CG-EM.....	57
Figura 33. Cromatograma representativo apresentando os picos que diferenciam os machos (para baixo) das fêmeas (para cima).....	57
Figura 34. Resultado da eletrofisiologia, utilizando o extrato da variedade alagoas infestada, testando antenas de fêmeas de <i>Z. bimaculosus</i> , n=5.....	63
Figura 35. Espectro de Massas e fragmentações do 2,6,11-Trimetil-dodecano...	64
Figura 36. Espectro de Massas e fragmentações do Tetradecanal.....	65
Figura 37. Espectro de Massas e fragmentações do Eicosano.....	66
Figura 38. Resultado da eletrofisiologia, utilizando o extrato da variedade alagoas infestada, testando antenas de machos de <i>Z. bimaculosus</i> , n=5.....	67
Figura 39. Espectro de Massas e fragmentações do 2-heptenal.....	67
Figura 40. Cromatogramas obtidos em CG-EM da variedade melancia sadia (preto) e infestada por <i>D. echinocacti</i> (rosa).....	69
Figura 41. Cromatograma CG-EM diferencial (antes da infestação x depois da infestação) da variedade 02 (Melancia).....	69
Figura 42. Cromatogramas obtidos em CG-EM da variedade orelha de elefante africana sadia (preto) e infestada por <i>D. echinocacti</i> (rosa).....	72
Figura 43. Cromatograma CG-EM diferencial (antes da infestação x depois da infestação) da variedade 03 (Orelha de Elefante Africana).....	72
Figura 44. Cromatogramas obtidos em CG-EM da variedade palma miúda sadia (preto) e infestada por <i>D. echinocacti</i> (rosa).....	74
Figura 45. Cromatograma CG-EM diferencial (antes da infestação x depois da infestação) da variedade 04 (Palma miúda).....	74
Figura 46. Cromatogramas obtidos em CG-EM da variedade Negro michoacan sadia (preto) e infestada por <i>D. echinocacti</i> (rosa).....	76
Figura 47. Cromatograma CG-EM diferencial (antes da infestação x depois da infestação) da variedade 05 (Negro Michoacan).....	76
Figura 48. Cromatogramas obtidos em CG-EM da variedade blanca michoacan sadia (preto) e infestada por <i>D. echinocacti</i> (rosa).....	78
Figura 49. Cromatograma CG-EM diferencial (antes da infestação x depois da infestação) da variedade 06 (Blanca Michoacan).....	78
Figura 50. Cromatogramas obtidos em CG-EM da variedade blanca san piedro sadia (preto) e infestada por <i>D. echinocacti</i> (rosa).....	80
Figura 51. Cromatograma CG-EM diferencial (antes da infestação x depois da infestação) da variedade 07 (Blanca San Piedro).....	80
Figura 52. Cromatogramas obtidos em CG-EM da variedade rio grande do norte sadia (preto) e infestada por <i>D. echinocacti</i> (rosa).....	82
Figura 53. Cromatograma CG-EM diferencial (antes da infestação x depois da infestação) da variedade 08 (Rio Grande do Norte).....	82
Figura 54. Cromatogramas obtidos em CG-EM da variedade alagoas sadia (preto) e infestada por <i>D. echinocacti</i> (rosa).....	84
Figura 55. Cromatograma CG-EM diferencial (antes da infestação x depois da infestação) da variedade 09 (Alagoas).....	84
Figura 56. Cromatogramas obtidos em CG-EM da variedade tamazunchale sadia (preto) e infestada por <i>D. echinocacti</i> (rosa).....	86
Figura 57. Cromatograma CG-EM diferencial (antes da infestação x depois da infestação) da variedade 10 (Tamazunchale).....	86
Figura 58. Cromatogramas sobrepostos das variedades palma miúda (preto) e rio grande do norte (rosa) sadias.....	90

Figura 59. Cromatograma diferencial das variedades palma miúda (picos para cima) e rio grande do norte (picos para baixo).....	90
Figura 60. Padrão de infestação com <i>D. echinocacti</i> das variedades palma miúda (A) e rio grande do norte (B).....	91

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resultado quantitativo da escolha na olfatometria em Y, utilizando Hexano como controle e o extrato de machos e fêmeas de <i>Z. bimaculosus</i> , testando machos e fêmeas de <i>Zagreus bimaculosus</i> , n=20.....	40
Tabela 2. Resultado quantitativo da escolha na olfatometria em Y, utilizando Hexano como controle e o extrato de machos e fêmeas de <i>C. nigrita</i> , testando machos e fêmeas de <i>C. nigrita</i> , n=20.....	40
Tabela 3. Compostos Orgânicos Voláteis Liberados por <i>Z. bimaculosus</i> machos e fêmeas.....	54
Tabela 4. Compostos Orgânicos Voláteis Liberados por <i>C. nigrita</i> machos.....	56
Tabela 5. Número de machos e fêmeas de <i>Z. bimaculosus</i> atraídos pelos extratos de 10 variedades de palma forrageiras sadias e pelo tratamento controle (hexano), n=20.....	59
Tabela 6. Número de machos e fêmeas de <i>C. nigrita</i> atraídos pelos extratos de 10 variedades de palma forrageiras sadias e pelo tratamento controle (hexano), n=20.....	60
Tabela 7. Resultado quantitativo da escolha na olfatometria em Y, utilizando Hexano como controle e o extrato das 10 variedades após a infestação, testando machos e fêmeas de <i>Z. bimaculosus</i> , n=20.....	61
Tabela 8. Resultado quantitativo da escolha na olfatometria em Y, utilizando Hexano como controle e o extrato das 10 variedades após a infestação, testando machos e fêmeas de <i>C. nigrita</i> , n=20.....	61
Tabela 9. Compostos Orgânicos Voláteis Presentes na Variedade 2 (Melancia) após a infestação com <i>D. echinocacti</i>	71
Tabela 10. Compostos Orgânicos Voláteis Presentes na Variedade 3 (Orelha de Elefante Africana) após a infestação com <i>D. echinocacti</i>	73
Tabela 11. Compostos Orgânicos Voláteis Presentes na Variedade 4 (Palma miúda) após a infestação com <i>D. echinocacti</i>	75
Tabela 12. Compostos Orgânicos Voláteis Presentes na Variedade 5 (Negro Michoacan) após a infestação com <i>D. echinocacti</i>	77
Tabela 13. Compostos Orgânicos Voláteis Presentes na Variedade 6 (Blanca Michoacan) após a infestação com <i>D. echinocacti</i>	79
Tabela 14. Compostos Orgânicos Voláteis Presentes na Variedade 7 (Blanca San Piedro) após a infestação com <i>D. echinocacti</i>	81
Tabela 15. Compostos Orgânicos Voláteis Presentes na Variedade 8 (Rio Grande do Norte) após a infestação com <i>D. echinocacti</i>	83
Tabela 16. Compostos Orgânicos Voláteis Presentes na Variedade 9 (Alagoas) após a infestação com <i>D. echinocacti</i>	85
Tabela 17. Compostos Orgânicos Voláteis Presentes na Variedade 10 (Tamazunchale) após a infestação com <i>D. echinocacti</i>	87
Tabela 18. Compostos orgânicos voláteis presentes nas variedades palma miúda e rio grande do norte, quando comparados entre si, identificados por CG-EM.....	89

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1	Palma Forrageira.....	14
2.2	As cochonilhas: principais pragas da palma forrageira.....	16
2.3	Ecologia Química, Inseticidas e Manejo Integrado de pragas.....	20
2.4	Inimigos Naturais Das Cochonilhas – <i>Zagreus bimaculosus</i> (Mulsant, 1850) (Coleoptera: Coccinellidae) e <i>Chilocorus nigrita</i> (Fabricius, 1798) (Coleoptera: Coccinellidae).....	22
2.5	Interações entre organismos.....	26
2.6	Técnicas de extração e identificação de semioquímicos.....	28
3	OBJETIVOS	30
3.1	Objetivos gerais.....	30
3.2	Objetivos específicos.....	30
4	MATERIAL E MÉTODOS	31
4.1	Coleta e plantio das plantas.....	31
4.2	Infestação Das Palmas.....	31
4.3	Coletas dos predadores <i>Zagreus bimaculosus</i> e <i>Chilocorus nigrita</i> e criação em laboratório.....	32
4.4	Montagem E Ativação Do Adsorvente.....	33
4.5	Aeração.....	33
4.6	Bioensaios Comportamentais.....	35
4.7	Análise estatística.....	36
4.8	Cromatografia gasosa acoplada a eletroantenografia.....	37
4.9	Análise dos covs no CG-DIC e CG-EM.....	38
4.9.1	Análise por cromatografia Gasosa (CG).....	38
4.9.2	Análise por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG/EM).....	38
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1	Relação inseto x inseto – <i>Zagreus bimaculosus</i> e <i>Chilocorus nigrita</i>	40
5.1.1	Bioensaios com os COVs de machos e fêmeas de <i>Zagreus bimaculosus</i>	40
5.1.2	Bioensaios com os COVs de machos e fêmeas de <i>Chilocorus nigrita</i>	40
5.1.3	Testes eletrofisiológicos com extratos e antenas de <i>Zagreus bimaculosus</i>	41
5.1.4	Análise de CG-EM dos extratos de machos e fêmeas de <i>Zagreus bimaculosus</i> e <i>Chilocorus nigrita</i>	54
5.2	Relação entre plantas sadias e infestadas com <i>zagreus bimaculosus</i> e <i>chilocorus nigrita</i>	59
5.2.1	Bioensaios com os COVs das plantas sadias.....	59
5.2.2	Bioensaios com os COVs das plantas infestadas.....	60
5.2.3	Cromatografia Gasosa Acoplada a Eletroantenografia na Interação planta x <i>Zagreus bimaculosus</i>	62
5.3	Relação entre plantas sadias e infestadas.....	68
5.4	Relação entre duas variedades de palma forrageira – palma miúda x rio grande do norte.....	88
6	CONCLUSÕES	93
	REFERÊNCIAS	94

1 INTRODUÇÃO

Nas regiões do semiárido do Nordeste Brasileiro, as chuvas irregulares estão diretamente ligadas à alimentação de rebanhos, já que a sua escassez reduz consideravelmente a disponibilidade de alimentos para os animais. Dessa forma, torna-se necessária a introdução de outras fontes de alimentação para o rebanho, que não as pastagens nativas, como a palma forrageira, que apesar de já ser utilizada há muito tempo, só está disponível para alimentação do rebanho quando cultivada pelo produtor rural. Segundo o último Censo Agropecuário do IBGE disponível (BRASIL, 2011), o nordeste brasileiro possuía 29.583.041 cabeças de bovinos, 125.692 cabeças de bubalinos, 8.538.255 cabeças de caprinos e 10.110.352 cabeças de ovinos, representando 13%, 8%, 91% e 57% respectivamente, do rebanho brasileiro. Esses números revelam a importância dessa região do País na pecuária brasileira. Fazendo um comparativo entre a pecuária e a agricultura, no semiárido brasileiro, quando em anos de seca, o agricultor perde, em média, 72% de sua produtividade, enquanto o pecuarista perde apenas 20% (ARAÚJO FILHO e CARVALHO, 1998).

A palma forrageira é uma das alternativas de alimentação para diversos rebanhos, principalmente na região semiárida do nordeste brasileiro e um dos grandes problemas da utilização deste meio de alimentação para o rebanho, é a ocorrência de pragas e também doenças, muitas vezes, disseminadas por essas pragas. O cultivo da palma forrageira abrange uma área no Nordeste de mais de 550 mil hectares, sendo concentrado nos estados de Pernambuco, Alagoas e Paraíba (SANTOS, 2010). Segundo estimativas da Secretaria de Agricultura do estado de Alagoas (SEAGRI, 2010), o Estado tem a maior área de palma do Brasil, que varia de 180 mil a 200 mil hectares, ocupando o posto de segunda cultura, em área plantada, perdendo apenas para a cana-de-açúcar, que tem área em torno de 400 mil hectares. Amorim (2011) salientou a importância socioeconômica que a palma forrageira tem, já que a mesma exerce grande influência sobre os sistemas de produção de ruminantes na região do semiárido nordestino.

Em Alagoas, o cultivo da palma miúda teve início na década de 1920, nos municípios de Major Isidoro, Jacaré dos Homens e Batalha, municípios estes que estão inseridos na Bacia Leiteira do estado de Alagoas (ANDRADE, 1990 apud AMORIM, 2011).

A principal praga da palma forrageira é a cochonilha, que possui uma taxa de disseminação muito alta, levando a imensas perdas na produção, podendo alcançar 100% da área plantada (LOPES et al., 2009). Existem duas espécies de cochonilhas que atacam a palma no Brasil, ambas são gênero-específicas, a *Dactylopius opuntiae* (Cockerell, 1896) (Hemiptera: Dactylopiidae), específica para o gênero de palma *Opuntia*, e *Diaspis echinocacti* (Bouché, 1833) (Hemiptera: Diaspididae) específica para o gênero de palma *Nopalea*. O manejo dessas pragas através de inseticidas, além de ser complicado pela dificuldade de alcance em todas as raquetes, não é indicado pelo fato de servirem de alimentação para o rebanho, e o acúmulo de inseticidas na alimentação pode tornar a carne e o leite, inadequados para o consumo humano.

Uma alternativa para o problema do inseticida é o Manejo Integrado de Pragas que visa reduzir a aplicação de agrotóxicos, sem poluir o meio ambiente. Uma das formas desse manejo é o investimento em inimigos naturais de pragas potenciais, com a criação desses e posterior liberação em campo.

Buscando uma alternativa para o controle da praga da palma forrageira, a *D. echinocacti*, este trabalho objetivou estudar as interações que ocorrem entre algumas variedades de dois gêneros de palma forrageira, a cochonilha de escama e dois de seus inimigos naturais, *Chilocorus nigrita* (Fabricius, 1798) (Coleoptera: Coccinellidae) e *Zagreus bimaculosus* (Mulsant, 1850) (Coleoptera: Coccinellidae).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PALMA FORRAGEIRA

A palma forrageira pertence ao reino Plantae; divisão: Magnoliophyta; classe: Magnoliopsida; ordem: Caryophyllales; família Cactaceae; gênero: *Opuntia*; e subgênero: *Opuntiae nopalea*. Na família Cactaceae, existem aproximadamente 84 gêneros e 1400 espécies nativas das Américas (SALAK, 2000).

De acordo com Lima e Gama (2001), a palma forrageira foi disseminada no Nordeste brasileiro no início do século XX, e essa disseminação só ocorreu, por ordem do Governo brasileiro, após a seca de 1932. A palma forrageira não é uma planta nativa do Brasil; segundo Silva e Santos (2006), é originária do México e foi introduzida no Brasil no final do século XIX, em Pernambuco.

O Nordeste brasileiro, de acordo com Araújo Filho (1985) é caracterizado como semiárido em 70% de seu território, e as médias de chuvas variam de 300 mm a 800 mm por ano, estando esta pluviosidade concentrada apenas na estação úmida, que dura cerca de três a quatro meses do ano. Estes baixos índices pluviométricos causam transtornos aos produtores rurais da região. No caso específico da pecuária, o longo período de estiagem ocasiona a diminuição da produção de carne e leite, pela diminuição da produção de forragem para alimentação do rebanho. Uma alternativa para alimentação do rebanho em épocas de estiagem é a palma forrageira, que oferece uma boa disponibilidade no período seco do semiárido nordestino.

As cactáceas forrageiras são espécies bem adaptadas às condições adversas do semiárido, devido a sua fisiologia, caracterizada pelo processo fotossintético denominado Metabolismo Ácido das Crassuláceas (CAM). À noite, estas plantas abrem os estômatos que permite a entrada de dióxido de carbono (CO₂), que fica armazenado temporariamente em ácido málico, sendo consumido nas reações fotossintéticas do dia seguinte. A redução do CO₂ na fotossíntese ocorre sem a troca de gases com a atmosfera, conseqüentemente, sem perda de água. Além desse comportamento fisiológico, a palma apresenta raízes superficiais, que penetram normalmente, até oitenta centímetros de profundidade no solo e atingem vários metros de extensão, formando verdadeira rede capilar, com elevada capacidade de absorção da água do solo (SANTOS et al., 2006). Além disso, ela apresenta uma

composição rica em água, mucilagem e resíduos minerais, apresentando um alto coeficiente de digestibilidade da matéria seca (COSTA et. al. 1973 *apud* SANTOS et al., 2001; WANDERLEY et al., 2002).

No Nordeste as espécies mais cultivadas são *Opuntia ficus-indica* Mill e *Nopalea cochenillifera* Salm Dick, com suas variedades. Em Alagoas, a espécie *N. cochenillifera* (Figura 1) é amplamente cultivada, sendo a *O. ficus-indica* a espécie mais cultivada nos estados de Pernambuco, Paraíba e Ceará (AMORIM, 2011).

Figura 1. Plantio de palma forrageira (*Nopalea cochenillifera*) no povoado de Curral Novo, Major Isidoro – AL. (Foto: Mariana Oliveira, Major Izidoro, 2012).



Segundo SANTOS et al. (2006), as cultivares Gigante e Redonda, do gênero *Opuntia*, possuem uma superioridade em relação ao cultivar Miúda, em termos de produtividade de massa verde. Porém, como a palma miúda tem uma maior quantidade de matéria seca; comparando-se a gigante e a redonda, os resultados finais se equivalem.

Ainda de acordo com o IPA (SANTOS et al., 2006), as raquetes de palma devem ser plantadas no terço final do período seco, a fim de evitar o apodrecimento, pela contaminação por fungos e bactérias, devido à umidade, caso sejam plantadas no período chuvoso.

São raras as pesquisas com palma forrageira no Brasil. Segundo Amorim (2011), países como o México e Estados Unidos, incluem a palma forrageira em suas linhas de estudo, em grandes centros de pesquisa, diferentemente do Brasil,

onde, geralmente, não é dada a devida importância ao potencial que a palma forrageira tem dentro da área científica, acoplado à importância desta forrageira para os pequenos e grandes pecuaristas do semiárido brasileiro. A maior parte dos estudos com palma forrageira no Brasil, dizem respeito ao cultivo, produção, micro propagação e melhoramento genético.

2.2 AS COCHONILHAS: PRINCIPAIS PRAGAS DA PALMA FORRAGEIRA

As cochonilhas são as principais pragas da palma forrageira, sendo duas espécies, uma da família Diaspididae e outra da família Dactylopiidae, as principais causadoras de danos na palma no Nordeste brasileiro, *D. echinocacti* (Figura 2) e *D. opuntiae* (Figura 3) (SANTOS et al., 2006).

Figura 2. Cladódio de palma gigante (*O. fícus-indica*) infestada por *D. echinocacti*.

Fonte: <http://ecoport.org/ep?SearchType=pdb&PdbID=16427>



Essas espécies de cochonilhas são caracterizadas pela rápida reprodução dos insetos, causando severos danos à plantação. As perdas em produção podem alcançar 100%, inviabilizando a pecuária no período de seca do semiárido nordestino (SANTOS et al., 2006). As cochonilhas que atacam a palma forrageira têm uma especificidade por determinados gêneros de palma, dessa forma, a *D. opuntiae* é praga seletiva de espécies do gênero *Opuntia* (palma gigante ou redonda), enquanto a *D. echinocacti* ataca as espécies do gênero *Nopalea* (miúda ou doce).

Figura 3. Cladódio de palma miúda (*N. cochenillifera*) infestada por *D. opuntiae*.

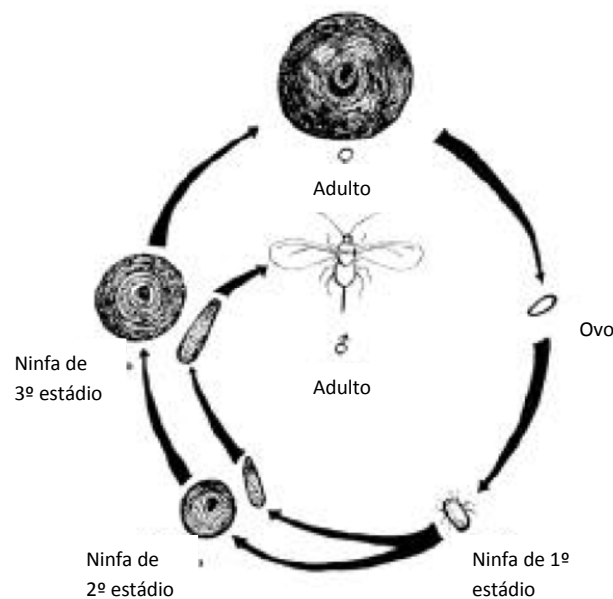
Foto: Mariana Oliveira



A *D. opuntiae*, conhecida como cochonilha-do-carmim, é originária do México e sua introdução no Brasil ocorreu devido ao interesse pelo corante natural carmim, produzido por esta espécie de cochonilha (CHIACCHIO, 2008). Como a espécie tem uma especificidade pelo gênero de palma *Opuntia*, ela só ocorre em alguns estados do Nordeste, onde há a produção da palma gigante (COSTA, 2007). De acordo com Santos et al., (2006), a cochonilha do carmim já foi observada em Alagoas, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte e Ceará. Segundo Cavalcanti et. al. (2001) é necessário adotar uma medida de controle ao primeiro sinal de ocorrência desta praga, que pode ser feita através de controle mecânico, químico, biológico e com o uso de variedades resistentes.

De acordo com Lima e Gama (2001), a *D. echinocacti* (Quadro 1) é a espécie, dentre as cochonilhas, que apresenta o mais alto nível de evolução, tanto por ser sésil (somente as fêmeas), quanto por sua capacidade de secretar uma carapaça serosa. Os machos são alados, possuindo um par de asas com o aparelho bucal atrofiado. Arruda Filho e Arruda (2002) estudaram o ciclo biológico de *D. echinocacti*, e de acordo com esse estudo, o ciclo apresentou uma duração média de 35 dias, de ovo a adulto, passando por 3 fases de ninfas, caracterizando a hemimetabolia. Ainda de acordo com o estudo, os ovos passam dois a três dias até eclosão das ninfas de primeiro estágio, que depois de nove a dez dias dão origem às ninfas de segundo estágio, passando estas para ninfas de terceiro estágio após sete a oito dias. As ninfas de terceiro estágio passam 11 a 12 dias para se transformar em adultos (Figura 3). Além disso, esta espécie representa um risco maior de dano à cultura de palma forrageira por ter uma alta taxa de infestação, representada por dois tipos de reprodução, a partenogênese telítoca e a anfigonia, em que nascem machos e fêmeas (Figura 4).

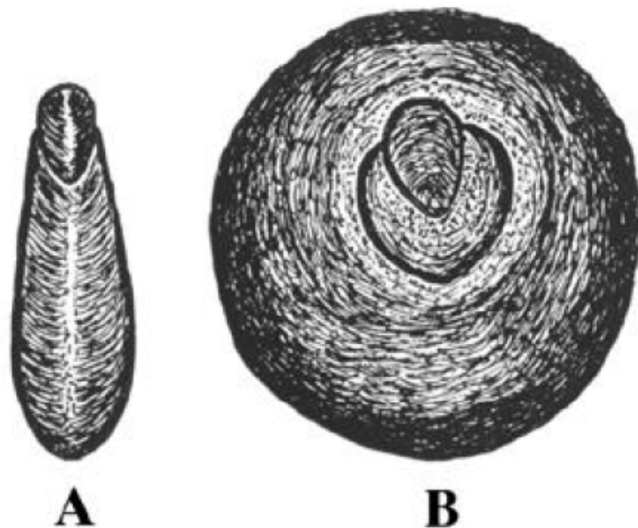
Figura 4. Ciclo biológico de *D. echinocacti* (Adaptado de: ARRUDA FILHO e ARRUDA, 2002).



Quadro 1. Classificação taxonômica da cochonilha de escamas

CLASSIFICAÇÃO	
Classe	Insecta
Ordem	Hemiptera
Subordem	Sternorrhyncha
Superfamília	Coccoidea
Família	Diaspididae
Subfamília	Diaspidinae
Tribo	Diaspidini
Gênero	<i>Diaspis</i>
Nome científico	<i>Diaspis echinocacti</i> (Bouch, 1833)
Sinonímia	<i>D. calyptroides</i> ; <i>D. cacti</i> ; <i>D. opuntia</i> ; <i>Aspidiotus echinocacti</i>
Denominação vulgar	Cochonilha da palma, piolho da palma e mofo da palma

ARRUDA FILHO E ARRUDA, 2002.

Figura 5. *D. echinocacti* (A) macho e (B) fêmea (ARRUDA FILHO e ARRUDA, 2002)

As principais formas de disseminação de *D. echinocacti* ocorrem através de animais que transportam as cochonilhas para regiões não infestadas; do homem, no momento da colheita e transporte de raquetes infestadas; do vento; e do transporte feito pelo próprio predador, já que em um estudo de Lima e Gama (2001), foram observadas, por meio de microscópios-estereoscópicos, ninfas de cochonilhas pelo corpo dos predadores, coleópteros conhecidos como joaninhas. As primeiras informações sobre as cochonilhas da palma datam de 1900, no Rio de Janeiro (HEMPEL, 1900).

O controle desta praga se dá, principalmente pelo manejo integrado, com ênfase no controle biológico. São conhecidos diversos inimigos naturais da

cochonilha de escama, tendo destaque espécies de vespas (parasitoides) e de coleópteros (predadores) (Quadro2).

Quadro 2. Principais predadores e parasitoides de *D. echinocacti*

Predadores		Parasitoides	
<i>Coccidophilus citricola</i> (Coleoptera, Coccinellidae) - joaninha preta pequena.		<i>Plagiomerus cyaneus</i> (Hymenoptera, Encyrtidae) vespinha.	
<i>Chilocorus nigrita</i> (Coleoptera, Coccinellidae) - joaninha preta grande.		<i>Prospaltella aurantii</i> (Hymenoptera, Aphelinidae) vespinha.	
<i>Zagreus bimaculosus</i> (Coleoptera, Coccinellidae) - joaninha alaranjada e preta.			
<i>Pentilia egea</i> (Coleoptera, Coccinellidae) joaninha preta.			
<i>Pentilia sp.</i> (Coleoptera, Coccinellidae) - joaninha marrom.			
<i>Zagloba beautimonti</i> (Coleoptera, Coccinellidae) - joaninha cinzenta.			
<i>Zagloba sp.</i> (Coleoptera, Coccinellidae) - joaninha cinzenta.			
<i>Calloeneis sp.</i> (Coleoptera, Coccinellidae) - joaninha marrom.			

SANTOS et al., 2006

2.3 Ecologia Química, Inseticidas e Manejo Integrado de Pragas

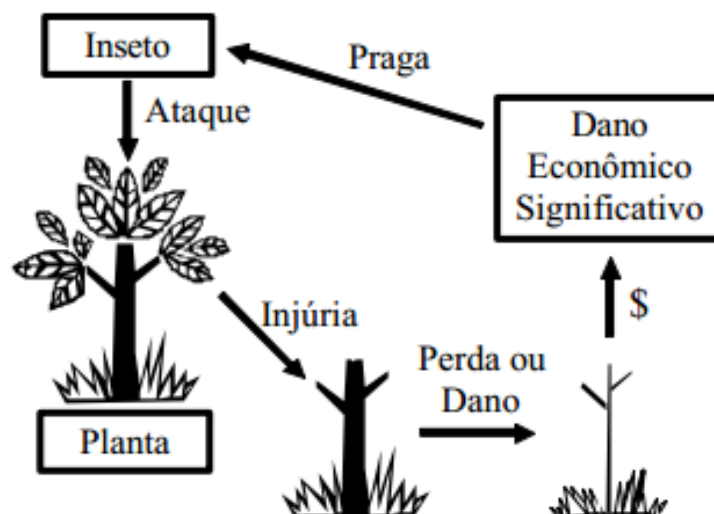
Os inseticidas químicos descobertos durante a segunda guerra mundial, se tornaram grande arma no controle de pragas, por sua efetividade. Contudo, com o uso indiscriminado destes agentes químicos, surgiram alguns efeitos adversos, como: o ressurgimento de pragas chave devido aos efeitos diretos nas populações de inimigos naturais, a elevação ao status de praga chave, pragas até então de importância secundária, resistência aos inseticidas, resíduos nos alimentos, problemas ambientais advindos da persistência dos produtos no solo, água, a bioacumulação, dentre outros (BOARETTO E BRANDÃO, 2000).

O controle de pragas, quando realizado por um método químico, que consiste no uso de inseticidas, sendo utilizado extensamente, não é recomendado, pois pode ocasionar a morte de inimigos naturais, que são essenciais ao controle biológico de pragas, e também a seleção de indivíduos resistentes aos agentes químicos utilizados (BRITO et al., 2008). Além disso, a grande utilização desses produtos químicos, particularmente, na palma, gera um acúmulo de resíduos que podem ser tóxicos para o animal que se alimenta desta forrageira e, conseqüentemente, para o homem que faz uso de seus derivados, como leite, queijos e carnes.

Um meio de diminuir a população de insetos praga, de forma eficiente e sem os efeitos colaterais causados pelos inseticidas sintéticos, é com a utilização de produtos naturais, extraídos de plantas, devido a algumas características benéficas relativas à seletividade e baixa toxicidade para o homem, animais e meio ambiente (BRITO et al., 2008).

Outra alternativa, que vem sendo amplamente empregada é o Manejo Integrado de Pragas (MIP), que é um meio de controle de pragas, em que se busca um controle natural, com a preservação e o incremento de fatores de mortalidade natural do inseto-praga, através do uso de técnicas que visam manter o número de pragas abaixo do nível de dano econômico (figura 5).

Figura 6. Relação inseto x planta que caracteriza inseto praga. Adaptado de Zanetti et al. (2009).



As pesquisas relacionadas a mecanismos de defesa de plantas eram, em sua maioria, até meados de 1980, baseadas em interações bitróficas. Na última década, tem sido crescente o número de estudos com interações tritróficas, que avalia o papel de predadores e parasitoides (inimigos naturais), revelando a importância dessa interação, para a defesa da planta (SINGER E STIREMAN, 2005).

As plantas possuem defesas diretas naturais que servem de proteção ao ataque de herbívoros. Elas podem ser defesas constitutivas, expressas por características físicas e alguns metabólitos secundários liberados pelas plantas; e as defesas podem ser induzidas, quando só se tornam evidentes após o ataque de um herbívoro (AGRAWAL, 2007).

A produção de compostos orgânicos voláteis, como defesa induzida de plantas, serve como indicadores para os inimigos naturais de herbívoros, atuando como uma defesa indireta da planta (MOONEY et al. 2012). Após o ataque de herbívoros, as plantas podem liberar uma complexa variedade de compostos voláteis de seus tecidos vegetativos (BALDWIN et al. 2002).

Nesse sentido é de extrema importância a identificação de COVs que estão associados à defesa induzida da planta. A utilização desses COVs em ensaios comportamentais pode auxiliar no estudo de maneira eficaz para o Manejo Integrado de Pragas.

Ernst Haeckel definiu em sua publicação em 1866 (STILING, 1996) a Ecologia Química como sendo o estudo de substâncias químicas mediadoras de interações entre organismos. Quando se trata da interação entre plantas e insetos, os estudos científicos iniciaram no final do século XVIII. As interações tróficas são relações diretamente relacionadas à cadeia alimentar dos organismos envolvidos, entre essas interações incluem: herbivoria, predação e parasitismo (TRIGO et al. 2012).

2.4 INIMIGOS NATURAIS DAS COCHONILHAS – *Zagreus bimaculosus* (Coleoptera: Coccinellidae) (Mulsant, 1850) e *Chilocorus nigrita* (Coleoptera: Coccinellidae) (Fabricius, 1798)

Segundo Guerreiro (2004), a família Coccinellidae é uma das maiores famílias da ordem Coleoptera, incluindo mais de 5000 espécies, apresentando característica predadora na fase larval e adulta. Também enfatizou que, apesar de ser um grupo de insetos bem estudado na Europa, América do Norte e Ásia, pouco se sabe sobre as espécies que ocorrem no Brasil e sua importância como reguladores em ambiente naturais ou em agroecossistemas, atuando como inimigos naturais de pragas. Dessa forma, estudos que envolvam os coccinelídeos são sempre bem vindos, principalmente se estes estiverem relacionados com os predadores de pragas importantes que ocorrem em agroecossistemas brasileiros (COSTA LIMA, 1943).

A espécie *Zagreus bimaculosus* (Mulsant, 1850) é um inseto da ordem Coleoptera, pertencente à Coccinellidae. Tanto *Z. bimaculosus*, como os outros membros desta família, são conhecidos popularmente como joaninhas. Além disso, membros dessa família de insetos também são conhecidos por serem inimigos

naturais de uma diversidade de pragas, incluindo pulgões, moscas brancas e cochonilhas (GUERREIRO, 2004).

O coccinelídeo *Z. bimaculosus* (Figura 7) tem sido encontrado em áreas de palma forrageira infestada tanto por *D. echinocacti*, como por *D. opuntiae*, e tem recebido atenção especial, em diversos estudos, como promissor agente biológico nativo das cochonilhas da palma (BRITO et al. 2008). É possível encontrar na literatura trabalhos contendo o ciclo de vida do inseto, os requerimentos alimentares e as exigências térmicas deste coleóptero (SILVA e BARBOSA, 1984; CASTRO, 2011).

Estudos sobre a biologia de *Z. bimaculosus* (SILVA e BARBOSA, 1984) afirmaram que o período do ovo até a emergência deste inseto compreende em média 26 dias, passando pelas fases de ovo, larva, pupa e adulto, definindo a holometabolia (Figura 8).

Figura 7. Adulto de *Zagreus bimaculosus* alimentando-se de *D. echinocacti* em raquete de palma miúda. Foto: Mariana Oliveira.

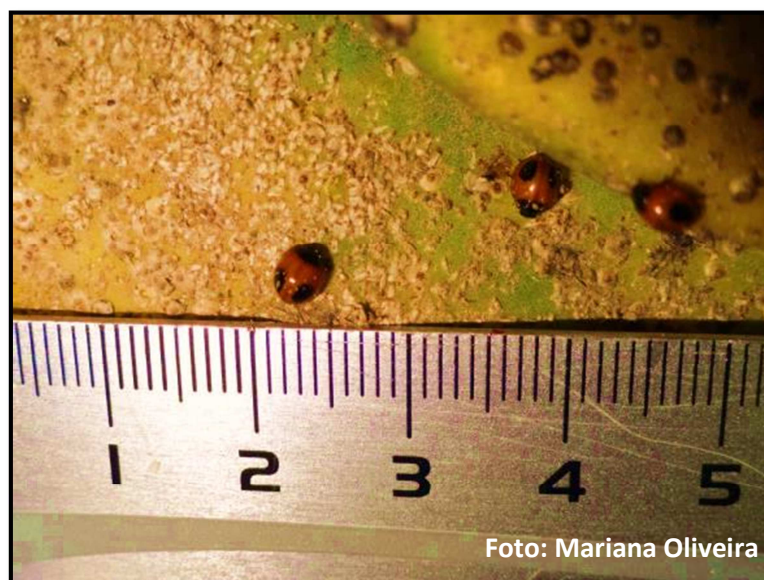


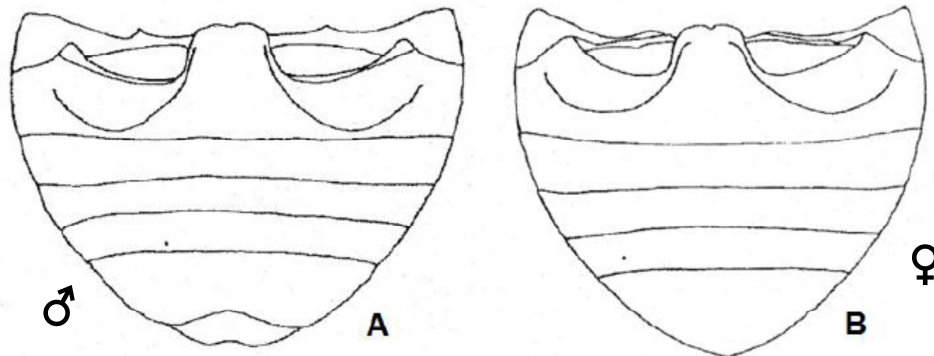
Figura 8. Larvas dos 4^o e 5^o ínstar de *Z. bimaculosus* alimentando-se de *D. echinocacti* em raquete de palma miúda. Foto: Mariana Oliveira



O dimorfismo sexual de *Z. bimaculosus* pode ser identificado facilmente com adultos, segundo critérios estabelecidos por Corrêa (2008) que descreve a distinção entre machos e fêmeas:

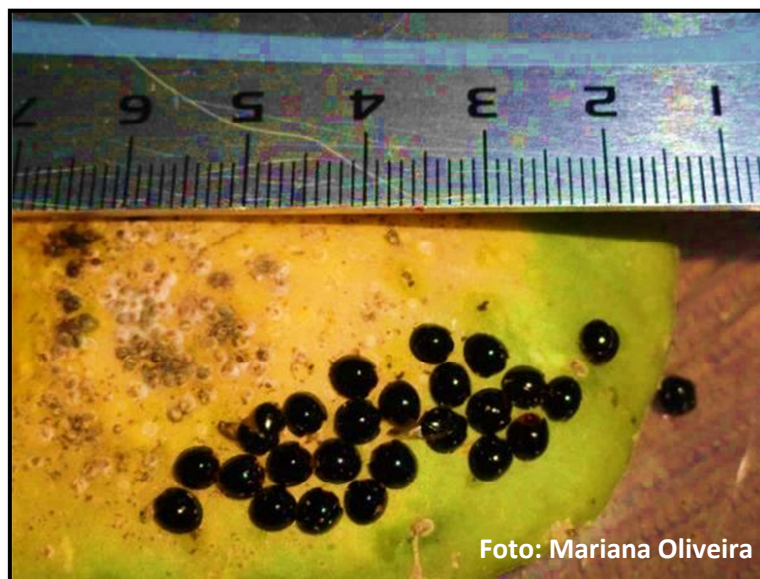
“Macho: Abdômen com seis esternitos visíveis, o primeiro com linha pós-coxal formando um semicírculo incompleto, terminando próxima à base; segundo, terceiro e quarto esternitos, de comprimento semelhante, levemente arqueados e laterais pouco alargadas; quinto esternito com margem posterior fortemente emarginada; sexto esternito curto, margem posterior levemente emarginada; cerdas longas nos dois últimos esternitos. Fêmea: Abdômen com cinco esternitos visíveis, o quinto subtriangular, com base ligeiramente arqueada e margem posterior arredondada” (Figura 9).

Figura 9. Diferenças morfológicas no abdômen de *Zagreus bimaculosus*. A) macho e B) fêmea. Fonte: CORRÊA (2008).



Outra espécie importante para o controle biológico de pragas é *Chilochorus nigrita* (Fabricius, 1798) (Coleoptera: Coccinellidae) (Figura 10). Alguns trabalhos realizados em diversas partes do globo já relataram a utilização desta espécie para o controle biológico de pragas, principalmente em diaspidídeos, esses trabalhos enfocam a biologia e o valor econômico da *C. nigrita*, assim como sua ecologia e potencial para controle biológico (HUANG et al., 1998; NINKOVIC et al., 2001; OMKAR, 2003; PONSONBY e COPLAND, 2007; PONSONBY, 2009).

Figura 10. Adultos de *C. nigrita* alimentando-se de *D. echinocacti* em palma miúda. Foto: Mariana Oliveira



A biologia dessa espécie é semelhante a de *Z. bimaculosus*, sendo o dimorfismo sexual descrito na literatura por Samways e Tate (1984), que relataram

que nos machos, particularmente nos insetos mais velhos, as áreas laterais do quarto e sétimo esternito são escuras, no entanto, manchas semelhantes estão ausentes em fêmeas. O oitavo esternito é fracamente ondulado na extremidade dos machos e é arredondado nas fêmeas, similar à *Z. bimaculosus*. Em um estudo realizado por Erichsen et al. (1991) foi verificado que as fêmeas possuem uma longevidade maior, em seu estudo em campo a proporção sexual (macho: fêmea) variou de 1:1.44 a 1:3.55.

De acordo com Parra et al. (2008), o conhecimento da biologia de insetos é fundamental para proceder estudos de estratégias de manejo integrado de pragas.

2.5 INTERAÇÕES ENTRE ORGANISMOS

Stiling (1996) classificou as interações entre os organismos em: interações simbióticas, que incluem o mutualismo e o comensalismo, interações de competição e interações tróficas, que incluem a herbivoria, a predação e o parasitismo.

Os seres vivos têm a capacidade de se relacionarem entre si e com o meio em que se encontram, promovendo uma troca de nutrientes por meio das interações tróficas, que também são chamadas de cadeia alimentar (AGUIAR-MENEZES e MENEZES, 2005). As interações tróficas, especialmente a herbivoria e a predação, são de extrema importância na natureza, principalmente quando se tornam desarmônicas, alterando o equilíbrio natural das populações de seres existentes em um determinado ecossistema.

De acordo com Oliveira et al. (2012), os ecossistemas são compostos por, pelo menos, três níveis tróficos que interagem entre si: plantas, herbívoros e inimigos naturais, que são conhecidos como relações tritróficas. Os estudos de interações tritróficas entre plantas, seus herbívoros e os inimigos naturais (predadores e parasitoides) destes herbívoros, têm tido grandes avanços nos últimos 30 anos (RODRÍGUEZ-SAONA, 2012). Alguns fatores podem influenciar as interações tritróficas, como o efeito direto da planta sobre a biologia ou comportamento do inimigo natural, devido a substâncias químicas ou características morfológicas presentes na planta e, também, do efeito da planta sobre a praga que pode alterar o comportamento, o desenvolvimento e o tamanho, o que, indiretamente, também afeta a população dos inimigos naturais (SILVA, 2006; SANTOS et al., 2011). As plantas e os insetos são interdependentes, principalmente

no que diz respeito à busca de alimentos e reprodução, assim como polinização (NASCIMENTO 2011).

Essas interações são mediadas, principalmente, por compostos químicos, provenientes de metabolismo secundário, liberados e percebidos pelos diferentes organismos. E estes podem ser divididos em aleloquímicos e feromônios. Os aleloquímicos atuam de forma interespecífica, enquanto os feromônios atuam intraespecificamente. Os aleloquímicos são de maior interesse nas relações tritróficas entre inimigos naturais, herbívoros e plantas. Estes compostos foram colocados em três classes: alomônios, que conferem uma vantagem adaptativa ao organismo produtor; cairomônios, que confere uma vantagem adaptativa ao organismo receptor e; sinomônios, que favorece tanto o receptor como o emissor (TRIGO et al. 2012).

Esses compostos, que são também conhecidos como Compostos Orgânicos Voláteis (COVs), ocorrem em quantidades variáveis nas plantas e também nos insetos, que podem ser influenciadas de acordo com os diferentes estágios de vida das plantas e dos insetos, segundo a localização, grau, tempo e tipo da injúria (CAVALCANTI et al., 2000). De acordo com NASCIMENTO (2011) estes compostos orgânicos secundários de plantas podem atrair predadores e/ou repelir herbívoros e, assim, servir como meio de resistência de plantas, sendo liberados não somente em resposta aos danos causados aos tecidos das plantas, mas ela é também, especificamente, iniciada pela exposição às secreções salivares dos herbívoros induzida pela alimentação do inseto, sendo uma resposta mediada por um hormônio na planta, o ácido jasmônico, e que, na maioria das vezes, relacionam-se a defesa do vegetal (MORAES et al., 2000).

De acordo com Lima et al. (2013), diferentes cultivares ou variedades de plantas podem apresentar variações na composição dos compostos secundários relacionados à sua defesa e dos voláteis liberados após a herbivoria. Assim, parasitoides e predadores, principalmente os especialistas, podem identificar estas diferenças na qualidade das plantas consumidas por seus hospedeiros e escolher aqueles com melhores condições para o desenvolvimento da sua descendência.

A identificação e manipulação dos COVs que medeiam relações entre plantas, herbívoros e inimigos naturais oferecem diversas oportunidades para o desenvolvimento de estratégias de controle de pragas que sejam menos agressivas ao meio ambiente. A utilização de voláteis de plantas no manejo integrado de pragas

é uma estratégia adicional e ecologicamente sustentável no controle de pragas (LIMA et al. 2013).

2.6 TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE SEMIOQUÍMICOS

Existe uma grande variedade de métodos e técnicas para extrair e identificar feromônios. A metodologia mais apropriada vai depender, fundamentalmente, do tipo de material em estudo e da disponibilidade de equipamentos adequados (MENDONÇA, 2009).

Os compostos orgânicos voláteis de plantas e insetos são produzidos em quantidades muito pequenas, o que pode gerar dificuldades na extração e identificação, porém as técnicas empregadas para extração de feromônios de insetos podem ser adaptadas de acordo com essa necessidade, duas das técnicas mais utilizadas são extração por solvente e aeração (ZARBIN et al., 2001).

A extração por solvente é feita quando há o contato do solvente com a amostra. Os compostos solúveis no solvente empregado são distribuídos entre a matriz da amostra e o solvente extrator. A eficiência da extração depende das interações químicas entre os compostos e o solvente utilizado em relação a solubilidade no tecido (FERREIRA E CORREIA; 2001). A imersão dos insetos ou partes do corpo, ou ainda a glândula, em solvente pode ser feita mantendo o material biológico imerso por 5 minutos, e após pode ser realizada uma filtração e remoção de resíduos com sulfato de sódio (Na_2SO_4), seguida de concentração subsequente (ZARBIN et al; 2001).

O processo de aeração é realizado ao passar um fluxo de ar filtrado e umidificado pela amostra e os compostos voláteis são adsorvidos em polímeros adsorventes, como o Porapak Q, Super Q, Tenax e Carvão Ativado. A dessorção dos COVs pode ser feita utilizando o solvente que melhor se adeque à amostra e ao adsorvente (ZARBIN et al; 2001).

Os semioquímicos são identificados por meio de técnicas analíticas de alta sensibilidade como a cromatografia gasosa, que pode ser acoplada a detector de ionização de chamas ou ao espectro de massas.

Para identificação de semioquímicos a espectrometria de massas é amplamente empregada. Apenas uma pequena quantidade de material é requerida para a análise, sendo que as informações obtidas são fundamentais para a

determinação estrutural da molécula. O fato do equipamento utilizado estar acoplado a um cromatógrafo a gás (CG-EM) faz com que os espectros adquiridos sejam referentes a compostos quimicamente puros (ZARBIN et al; 1999).

Pode-se também utilizar um sistema mais específico, como o Detector Eletroantenográfico (EAG), em que a antena do inseto é utilizada como elemento sensitivo (detector biológico) que pode ser utilizado para confirmar atividades biológicas, que já foram observadas em bioensaios comportamentais, e, se acoplado ao CG, pode apontar a substância responsável por essa atividade. Essa técnica passou a ser amplamente utilizada para realização dos ensaios biológicos. Quando o EAG é utilizado isoladamente, sem um método de separação, como por exemplo a cromatografia gasosa (CG), não apresenta grandes vantagens pois não é possível especificar quais os componentes estão afetando o comportamento biológico do inseto e além disso pode-se não detectar um possível componente minoritário do feromônio, porém quando utilizado o EAG, acoplado ao CG pode-se determinar com total precisão, qual composto tem o potencial para funcionar como semioquímico (MENDONÇA, 2009).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Determinar os semioquímicos envolvidos na interação entre os gêneros de palma forrageira, cochonilha de escama e seus predadores, *Z. bimaculosus* e *C. nigrita*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar os componentes voláteis liberados por machos e fêmeas de *Z. bimaculosus* e *C. nigrita*, pelo emprego de técnicas de Cromatografia Gasosa acoplada a Eletroantenografia (CG-EAG) e Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (EM);
- Avaliar a atividade dos extratos dos insetos em bioensaios de laboratório;
- Identificar, através das técnicas de Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (EM) os constituintes voláteis das dez variedades de palma forrageira estudadas, sem infestação e após a infestação por *D. echinocacti*;
- Avaliar as atividades dos extratos obtidos das plantas sobre os predadores, *Z. bimaculosus* e *C. nigrita*, por meio de bioensaios comportamentais;
- Realizar identificação dos compostos das plantas que se mostraram ativas nos bioensaios, com *Z. bimaculosus*;
- Identificar os compostos voláteis de uma variedade resistente à *D. echinocacti* (Rio Grande do Norte) e de uma susceptível à mesma cochonilha (Palma miúda).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 COLETA E PLANTIO DOS CLADÓDIOS

Em 23 de abril de 2012 foram coletados cladódios das dez variedades de palma mais cultivadas em Alagoas, na Estação Experimental da Emater/AL, Unidade Santana do Ipanema (Latitude: 09° 22' 42" S, Longitude: 37° 14' 43" W), que possui uma área de 184 hectares. As variedades foram selecionadas porque eram as variedades mais plantadas no Estado de Alagoas.

As variedades foram:

- 1- Orelha de Elefante Mexicana – *Opuntia stricta (haw) haw*
- 2- Melancia- *Nopalea cochenillifera*
- 3- Orelha de Elefante Africana – *Opuntia undulata griffiths*
- 4- Palma miúda – *Nopalea cochenillifera*
- 5- Negro Michoacan F7 – *Nopalea cochenillifera*
- 6- Blanca Michoacan F8 – *Nopalea cochenillifera*
- 7- Blanca San Pedro F24 – *Nopalea cochenillifera*
- 8- CV Rio Grande do Norte - *Opuntia ficus indica*
- 9- Alagoas – *Nopalea cochenillifera*
- 10-Tamazunchale V12 – *Nopalea cochenillifera*

A metodologia de plantio foi seguida de acordo com Amorim (2011). Após a coleta, os cladódios foram deixados a sombra, por um período de sete dias, para que houvesse a cicatrização. Com os cladódios cicatrizados, foram plantados em vasos com medida de 34 cm de diâmetro e 29 cm de altura, realizando 4 plantios para cada variedade (quatro repetições). Para o plantio foi colocado nos vasos o solo do Centro de Ciências Agrárias (CECA), da Universidade Federal de Alagoas, retirado do mesmo local onde foi feito o plantio por Amorim (2011). Após três meses as plantas já possuíam novos cladódios e estes foram submetidos à aeração e à infestação.

4.2 INFESTAÇÃO DAS PALMAS

Os cladódios cicatrizados foram submetidos à infestação através da preparação de um “sanduiche” (figura 11) em que as raquetes sadias ficavam entre raquetes infestadas com *D. echinocacti* por um período de três semanas, período esse em que foi verificada em laboratório que houve uma infestação, sendo o padrão de infestação apresentado diferente para cada variedade.

Figura 11. Infestação de palma forrageira a partir de raquetes já infestadas por *D. echinocacti*, através da preparação de “sanduíches”. Foto: Mariana Oliveira



Foto: Mariana Oliveira

4.3 COLETA DOS PREDADORES *Zagreus bimaculosus* E *Chilocorus nigrita* E CRIAÇÃO EM LABORATÓRIO

Os insetos predadores foram coletados entre 9:00h e 14:00h, período de maior atividade das espécies estudadas, em diversos períodos do ano, em fazendas dos municípios de Major Isidoro, Olho d'Água das Flores, Batalha e Santana do Ipanema. Foram Identificados pela Professora Dra. Iracilda Maria de Moura Lima, do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde (ICBS) da Universidade Federal de Alagoas, baseando-se em características morfológicas. As espécies utilizadas foram *Zagreus bimaculosus* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae) e *Chilocorus nigrita* (Fabricius, 1798) (Coleoptera: Coccinellidae).

As joaninhas foram separadas de acordo com o sexo e dez casais colocados em caixas (50cm x 20 cm x 10cm), cobertas por tela antiafídica e deixadas no insetário do Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais do Instituto de Química e Biotecnologia da UFAL, com palma forrageira infestada com *D. echinocacti* a uma temperatura média de $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ e $75\% \pm 10$ de UR. Dessa forma os insetos foram mantidos em laboratório e a criação iniciada. Os ovos foram separados, até que as larvas eclodissem, que eram então colocadas em novas caixas contendo cochonilhas. Na sequência do ciclo biológico foram obtidos pupas e depois os adultos, e o ciclo era reiniciado, repetindo o processo.

4.4 MONTAGEM E ATIVAÇÃO DO ADSORVENTE

O Porapak Q® (60/80 mesh, 0.06g, Supelco) foi adicionado no tubo de vidro (figura 12), com dimensões de 10 cm de comprimento e 0,5 cm de diâmetro interno, entre duas pequenas camadas de lã de vidro desativada, e colocado para limpeza, antes do uso. A limpeza foi feita com passagens de 2 mL de n-Hexano grau HPLC, bidestilado em laboratório, mesmo solvente utilizado nas eluições dos COVs, e após o processo, o tubo de vidro foi colocado no forno próprio para limpeza, com fluxo contínuo de nitrogênio gasoso, por 2 horas a uma temperatura de 132°C.

Figura 12. Tubo de vidro com Porapak Q® antes da limpeza. Foto: Mariana Oliveira.



4.5 AERAÇÃO

Plantas – O Cladódio (4 repetições para cada variedade, sadia e infestada) foi envolvido pelo saco de aeração (Figura 13) (100% poliéster, Qualitá, 27cm x 41cm), sendo deixados dois orifícios, um para introdução da mangueira de PTFE/Teflon® (Politetrafluoretileno), que vai encaminhar ar para dentro do saco de aeração, depois de passar pelo carvão ativado; e o outro orifício é para encaixar o tubo de Porapak Q®, e conectado a ele uma mangueira de sucção de ar. Para plantas, o fluxo de entrada de ar utilizado foi de 400 mL/min, e o fluxo de saída de ar foi de 350 mL/min que foi verificado através da instalação de um fluxômetro em cada mangueira. O tempo de coleta foi de 24 horas, estabelecido após uma avaliação prévia em laboratório. Para a dessorção dos COVs foi utilizado o hexano grau HPLC bidestilado em laboratório.

Figura 13. Saco de polietileno contendo cladódio de palma forrageira no LPqRN para aeração. Foto: Mariana Oliveira



Insetos – Para aeração dos predadores, foram utilizados adultos de *Chilocorus nigrita* e *Zagreus bimaculosus* que permaneceram 12 horas em jejum. A aeração de insetos foi realizada em tubos de vidro (35 cm de comprimento, 3 cm de diâmetro interno) (figura 14), utilizando 40 insetos por aeração, separados por sexo. Do mesmo modo que na aeração de plantas, havia uma entrada de ar e uma saída, que estava conectada a um tubo de Porapak Q®. Nesse caso, o fluxo de ar utilizado foi de 400 mL/min para entrada e 200 mL/min para saída. O tempo de coleta foi de 24 horas, conforme estabelecido previamente em laboratório. Para a dessorção dos COVs foi utilizado 700 µL de hexano grau HPLC bidestilado em laboratório.

Tanto para os extratos das plantas, como para os extratos de insetos foram obtidas 4 repetições, sendo preparado um “pool” para os bioensaios comportamentais com 100 µL de cada repetição, totalizando 400 µL de extrato. Já para as análises em CG, os extratos, com todas as repetições, foram concentrados para 100 µL. A concentração foi feita com fluxo de nitrogênio gasoso.

Figura 14. Processo de aeração de *Chilocorus nigrita*, utilizando as câmaras de vidro com 40 insetos por câmara, separados por sexo. Foto: Mariana Oliveira

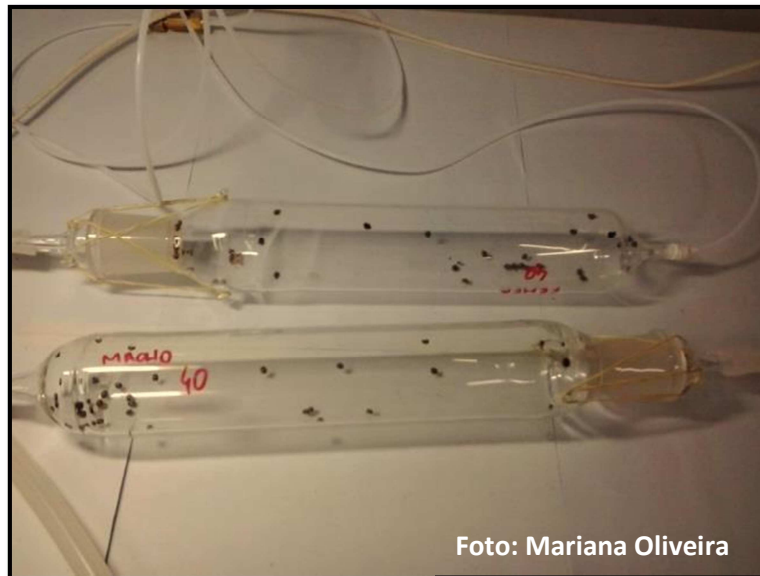


Foto: Mariana Oliveira

4.6 BIOENSAIOS COMPORTAMENTAIS

Os bioensaios comportamentais foram realizados no Laboratório de Recursos Naturais do Instituto de Química e Biotecnologia, em sala climatizada mantida $75,0 \pm 10,0\%$ UR, temperatura de aproximadamente $25,0 \pm 1,0$ °C, entre o período de 9:00 e 14:00h, período este de maior atividade dos insetos, conforme observado em campo.

Foi utilizado um olfatômetro constituído de um tubo de vidro bifurcado, em formato de Y, com dimensões de 15 cm em cada braço e 2,5 cm de diâmetro, que foi colocado em cima de uma mesa e conectado a ele, duas mangueiras, uma em cada braço. As mangueiras estavam ligadas à bomba de ar, com o tubo de carvão ativado e umidificador passando, para purificação do ar que entrava no tubo Y (figura 15). A luminária foi projetada para a junção dos braços do Y. O fluxo de ar utilizado foi de 200 mL/min em cada braço, medido através de um fluxômetro conectado à entrada de ar (HARRIS e FOSTER, 1995). A cada teste foram colocados nos braços dois quadrados de papel de filtro (1cm^2) (Whatman®, Grau 1), em um braço o papel de filtro continha 10 μL dos extratos a serem testados; no outro braço, o papel de filtro foi embebido com 10 μL do solvente utilizado na preparação dos extratos, o hexano grau HPLC bidestilado em laboratório. No início do tubo Y foi colocado o inseto a ser testado, e o fluxo foi ligado. Foram utilizados no mínimo 20 repetições, 20 insetos machos e 20 insetos fêmeas, das duas espécies, para cada

tratamento (10 variedades, sadias e infestadas com *D. echinocacti*). O tempo de corte para este teste foi de 10 minutos, sendo considerada como resposta positiva, quando o inseto chegava até a fonte de COVs permanecendo por pelo menos 20 segundos, resposta negativa quando o inseto chegava até a fonte de solvente e permanecia pelo mesmo tempo, e sem resposta quando o inseto permanecia parado pelos 10 minutos. Nesse caso, o inseto foi descartado e o experimento foi repetido com outro inseto. Após cada bioensaio, o olfatômetro foi lavado com acetona (93%), hexano destilado em laboratório e água destilada, e secos em estufa a 170°C por 1 hora.

Figura 15. Olfatômetro em Y utilizado nos ensaios comportamentais com os predadores *C. nigrata* e *Z. bimaculosus*. Foto: Mariana Oliveira.



4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

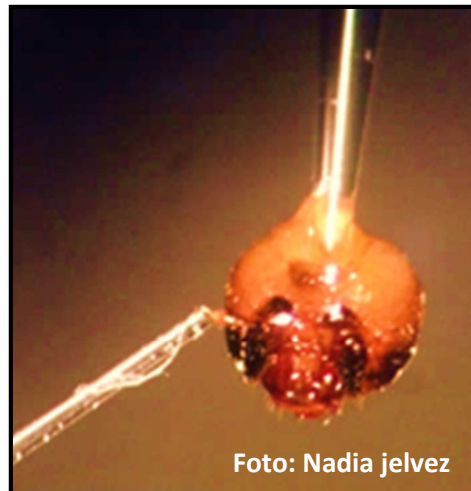
O teste estatístico utilizado foi o qui-quadrado, que é um teste não paramétrico e que avalia uma associação existente entre duas variáveis, de forma qualitativa. Como o princípio de método é comparar proporções, é um teste que tem sido utilizado em trabalhos na análise de ensaios comportamentais em tubo Y

(LUVIZOTTO et al. 2010; PEÑAFLORES, 2006; PRESTES e CUNHA, 2012). Os indivíduos que não escolheram nenhum dos braços foram excluídos da análise estatística. As análises foram realizadas utilizando-se o software GENES (CRUZ 2013).

4.8 CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA A ELETROANTENOLOGRAFIA

Para identificar os compostos eletrofisiologicamente ativos dos extratos foi utilizada a Cromatografia Gasosa acoplada à Eletroantenoografia – CG-EAG. Uma alíquota de 3 µL dos extratos obtidos na aeração foi injetada em um cromatógrafo a gás acoplado ao detector por ionização de chamas (DIC) modelo Shimadzu QP-2010, operado no modo “split”, contendo coluna capilar RTX-5 (30m x 0,25mm x 0,25 µm) (RESTEK Chromatography Products), onde o efluente da coluna foi dividido em duas linhas, uma levou ao detector DIC e a outra ao EAG. As condições de operação do equipamento de CG foi a mesma descrita anteriormente para CG-EM. As antenas foram cortadas dos insetos na base da antena (Figura 16), sem que fosse necessário adormecê-los, uma antena foi inserida em um contraeletrodo, preenchido com solução salina e a ponta do flagelo da antena foi inserida no eletrodo de trabalho. Os sinais foram passados através de um amplificador de alta impedância (IDAC4, Syntech 2004, Hilversum, The Netherlands). As saídas do amplificador de EAG e o DIC foram monitorizados simultaneamente e analisados usando o pacote de software Autopike, Syntech 2008. Os picos resultantes da corrida no CG foram considerados ativos quando apresentaram atividade no EAG em três ou mais corridas. Só foram analisadas por CG-EAG as amostras que apresentaram significativa atividade no bioensaio em alfatômetro em Y.

Figura 16. Cabeça de *Z. bimaculosus* macho com antenas conectadas ao eletrodo do eletroantenoógrafo, utilizando solução fisiológica 0,9% como transmissor elétrico. Foto: Nadia Jelvez



4.9 ANÁLISE DOS COVS NO CG-DIC E CG-EM

4.9.1 Análise por cromatografia Gasosa (CG)

Para as análises por cromatografia gasosa, os extratos das aerações das plantas e insetos, que inicialmente tinham um volume aproximado de 500 μL , foram concentrados a 100 μL , para visualização dos picos nos cromatogramas. Alíquotas de 3 μL dos extratos foram injetados em Cromatógrafo Gasoso com Detector de Ionização em Chamas (CG/DIC), QP2010 plus (Shimadzu), usando coluna RTX-1 (30 m, 0,25 mm de diâmetro interno; 0,25 μm diâmetro do filme; Restek) e nitrogênio como gás de arraste. Utilizou-se para análise dos extratos, uma programação cuja temperatura inicial do forno era de 50 $^{\circ}\text{C}$ com uma velocidade de aquecimento de 9 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ até 250 $^{\circ}\text{C}$, com modo de injeção “splitless” e injetor e detector DIC operando com temperaturas de 200 e 280 $^{\circ}\text{C}$, respectivamente, o tempo total de análise foi de 56 minutos.

4.9.2 Análise por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG/EM)

Utilizando como parâmetro os resultados obtidos das análises por CG-DIC, foram realizadas análises em um Cromatógrafo Gasoso acoplado a um Espectrômetro de Massas (CG/EM), QP2010 plus (Shimadzu), com ionização por impacto eletrônico de 70eV, utilizando-se coluna RTX-5 (30 m, 0,25 mm de diâmetro do filme; Shimadzu) usando Hélio como gás de arraste. As análises dos extratos de aeração das plantas e insetos foram efetuadas com uma programação, em que a

temperatura inicial do forno de 50 °C com uma velocidade de aquecimento de 6°C/min até 250 °C, modo de injeção “splitless”, com injetor e detector EM com temperatura de 250 °C e 280 °C, respectivamente.

4.9.3 Identificação dos compostos

Os compostos presentes nos extratos das plantas e insetos foram identificados pelo estudo comparativo dos espectros de massas da biblioteca NIST08, NIST08S e WINLEY229 e pelo cálculo do índice de retenção (Índice de Kovats) com a base de dados disponível em www.pherobase.com.

Para calcular o índice de retenção foi realizada uma injeção com uma série homóloga de *n*-alcanos (Sigma-Aldrich C₇-C₄₀), sendo os dados aplicados na fórmula abaixo, que foi inserida numa planilha do excel.

$$KI = 100 \left[Y + (Z - Y) \times \frac{TR_A - TR_{CA}}{TR_{CP} - TR_{CA}} \right]$$

Y = carbono anterior

Z = carbono posterior

TR_A = Tempo de Retenção da Amostra em Análise

TR_{CA} = Tempo de Retenção do Carbono Anterior do Alcano

TR_{CP} = Tempo de Retenção do Carbono Posterior do Alcano

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 RELAÇÃO INSETO X INSETO

5.1.1 Bioensaios com os COVs de machos e fêmeas de *Zagreus bimaculosus*

Com os extratos de machos e fêmeas de *Z. bimaculosus* foram realizados testes comportamentais em olfatômetro em Y para avaliar a atratividade de machos e fêmeas sobre insetos de mesmo sexo e de sexos opostos (Tabela 1). Os ensaios evidenciaram que houve atratividade pelos extratos de ambos os sexos, testando machos de *Z. bimaculosus*, enquanto as fêmeas só foram atraídas pelo extrato de fêmeas da espécie.

Tabela 1. Atratividade média da escolha na olfatometria em Y, utilizando Hexano como controle e o extrato de machos e fêmeas de *Z. bimaculosus*, testando machos e fêmeas de *Zagreus bimaculosus*, n=20.

Extrato testado	Insetos Machos (%)		Insetos Fêmeas (%)	
	Extrato	Hexano	Extrato	Hexano
Machos de <i>Z. bimaculosus</i>	80*	20	50 n.s	45
Fêmeas de <i>Z. bimaculosus</i>	75*	25	70*	30

*Significativo estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade pelo teste do qui-quadrado.

5.1.2 Bioensaios com os COVs de machos e fêmeas de *Chilocorus nigrita*

Através dos bioensaios realizados com a espécie de joaninha *C. nigrita*, foi verificado que houve atração de machos e fêmeas de *C. nigrita* pelo extrato de insetos machos de *C. nigrita*. Já quando testado o extrato de fêmeas de *C. nigrita*, nem machos, nem fêmeas foram atraídos de forma estatisticamente significativa (Tabela 2).

Tabela 2. Atratividade média da escolha na olfatometria em Y, utilizando Hexano como controle e o extrato de machos e fêmeas de *C. nigrita*, testando machos e fêmeas de *C. nigrita*, n=20.

Extrato testado	Insetos Machos (%)		Insetos Fêmeas (%)	
	Extrato	Hexano	Extrato	Hexano
Machos de <i>C. nigrita</i>	80*	20	81*	19
Fêmeas de <i>C. nigrita</i>	55 n.s	45	60 n.s	40

*Significativo estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade pelo teste do qui-quadrado.

Os resultados obtidos com ambas as espécies de joaninhas evidenciam, primariamente que a comunicação química, tanto em *Z. bimaculosus*, como em *C.*

nigrita, é mediada por feromônio. Com *Z. bimaculosus*, ambos os sexos foram atraídos pelo extrato da fêmea, já os machos conseguiram atrair machos na olfatometria em Y. O fato de o extrato de fêmea ter atraído ambos os sexos, pode indicar a presença de feromônio de agregação liberado por fêmeas (AMBROGI, VIDAL e ZARBIN, 2009). Os machos de *Z. bimaculosus* não exerceram atratividade sobre fêmeas, mas sua atratividade sobre machos exclui a possibilidade de liberação de feromônio sexual, mas os machos podem liberar compostos que servem como pistas químicas, para encontrar locais para acasalamento e alimentação (AMBROGI, 2009).

Diferentemente dos resultados obtidos com *Z. bimaculosus*, os bioensaios comportamentais com *C. nigrita* demonstram que os machos da espécie liberam feromônio de agregação, responsável pela atração de machos e fêmeas, como ocorre com grande parte dos feromônios de agregação de curculionídeos descritos na literatura (BARTELT, 1999; BEAUHAIRE et al. 1995, BLIGHT et al. 1984, BLIGHT e WADHAMS, 1987; HICK et al. 1999).

5.1.3 Análises eletrofisiológicas com extratos de machos e fêmeas de *Zagreus bimaculosus*

Antenas de machos e fêmeas de *Z. bimaculosus* foram testadas em ensaios eletrofisiológicos frente a extratos de machos e fêmeas de *Z. bimaculosus* como fonte de odor. Os resultados dos testes estão dispostos nas figuras 16, 18, 21 e 24. Os compostos identificados tiveram seus Índices de retenção calculados, comparados com a literatura e confirmados pela presença de fragmentos característicos em espectros de massas.

Dois compostos do extrato de machos de *Z. bimaculosus* determinaram uma atividade eletrofisiológica em antenas de machos (Figura 16). Os tempos de retenção (TR) dos compostos foram 18.129 min e 19.016 min, e através do cálculo do índice de retenção, foram identificados como sendo o 4-etil-1-dodeceno, KI 1160, (KHORASHEH et al., 1989) e o 2,4-Nonadienal, KI 1214, (PARKER et al. 2000). O 2,4-Nonadienal teve seu padrão de fragmentação definido, de acordo com seu espectro de massas (Figura 18).

Figura 17. Resposta eletrofisiológica de machos de *Z. bimaculosus* aos extratos de machos co-específicos, , n=5.

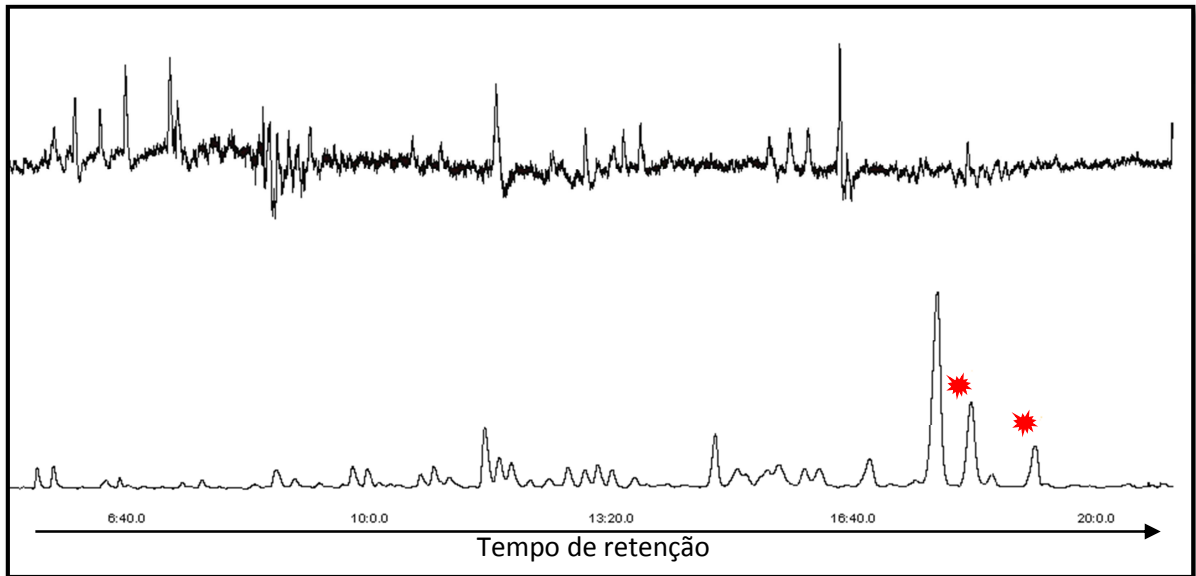
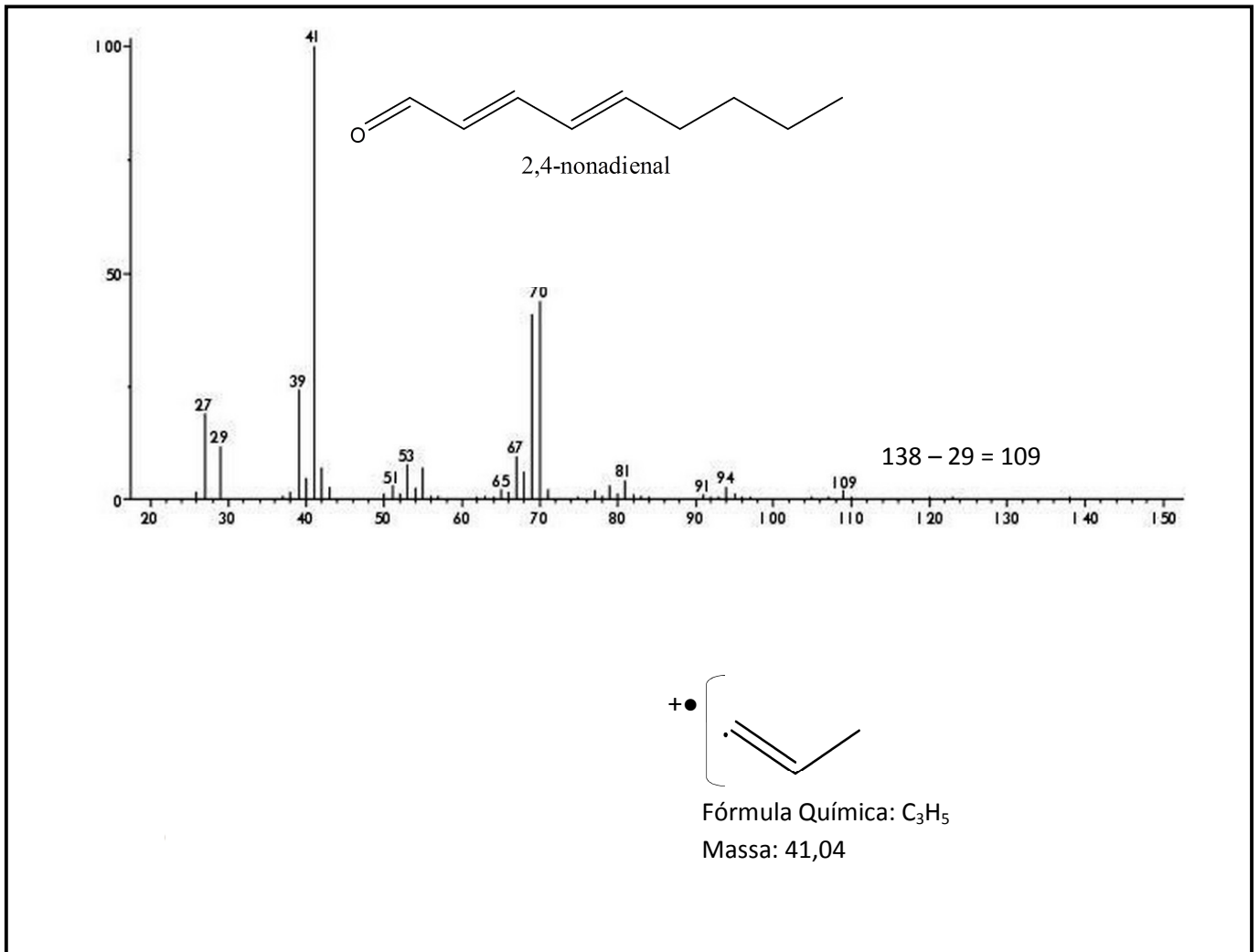


Figura 18. Espectro de Massas e fragmentações do 2,4-Nonadienal.



As antenas de machos também responderam eletrofisiologicamente ao extrato de fêmeas de *Z. bimaculosus* (Figura 19). Dois compostos, com tempos de retenção 18.168 min e 18.466 min, desencadearam resposta, e através do cálculo do índice de retenção, foram identificados como 1,3,5-Undecatrieno, KI 1180, (PRIESTAP et al. 2003) e 1-Dodeceno, KI 1192 (KOHL et al. 2001). Os padrões de fragmentação no espectro de massas para o 1,3,5-undecatrieno (Figura 19) e para o 1-Dodeceno (Figura 20) foram definidos.

Figura 19. Resposta eletrofisiológica de machos de *Z. bimaculosus* aos extratos de fêmeas co-específicas, , n=5.

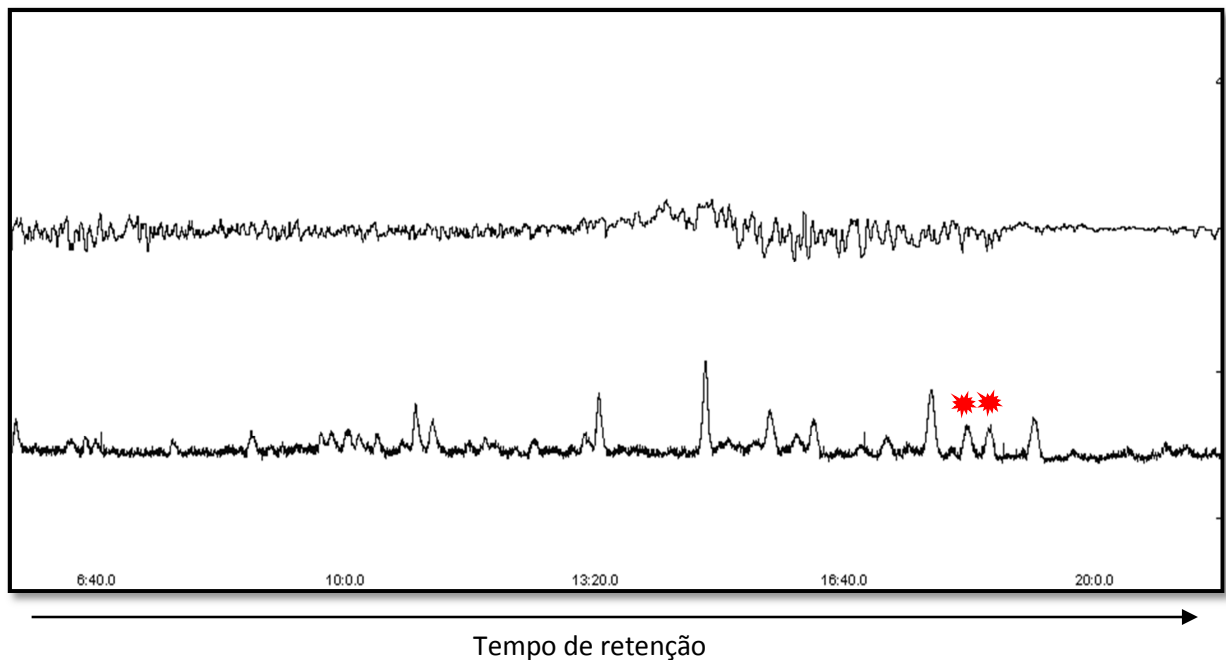


Figura 20. Espectro de Massas e fragmentações do 1,3,5-undecatrieno.

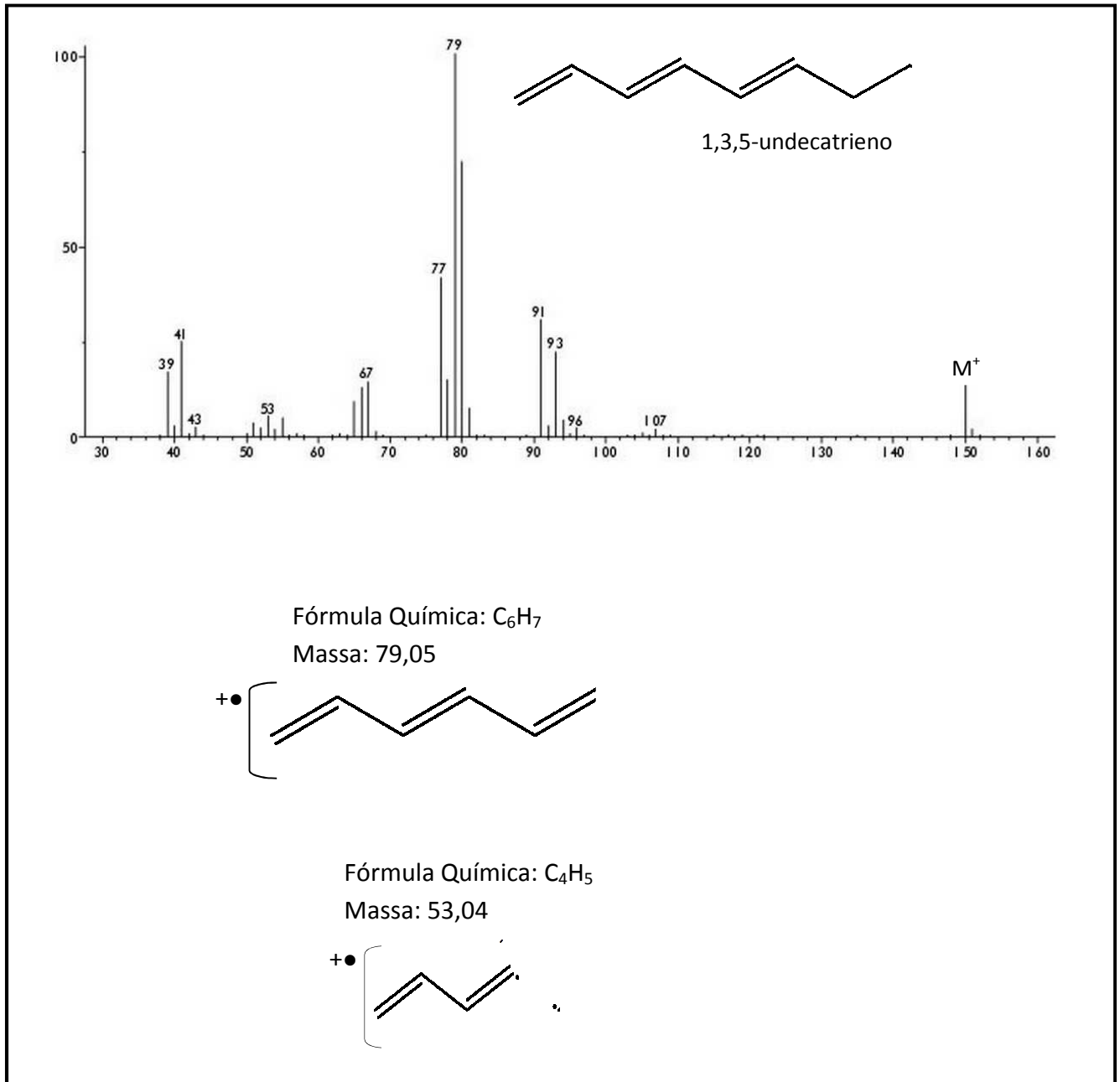
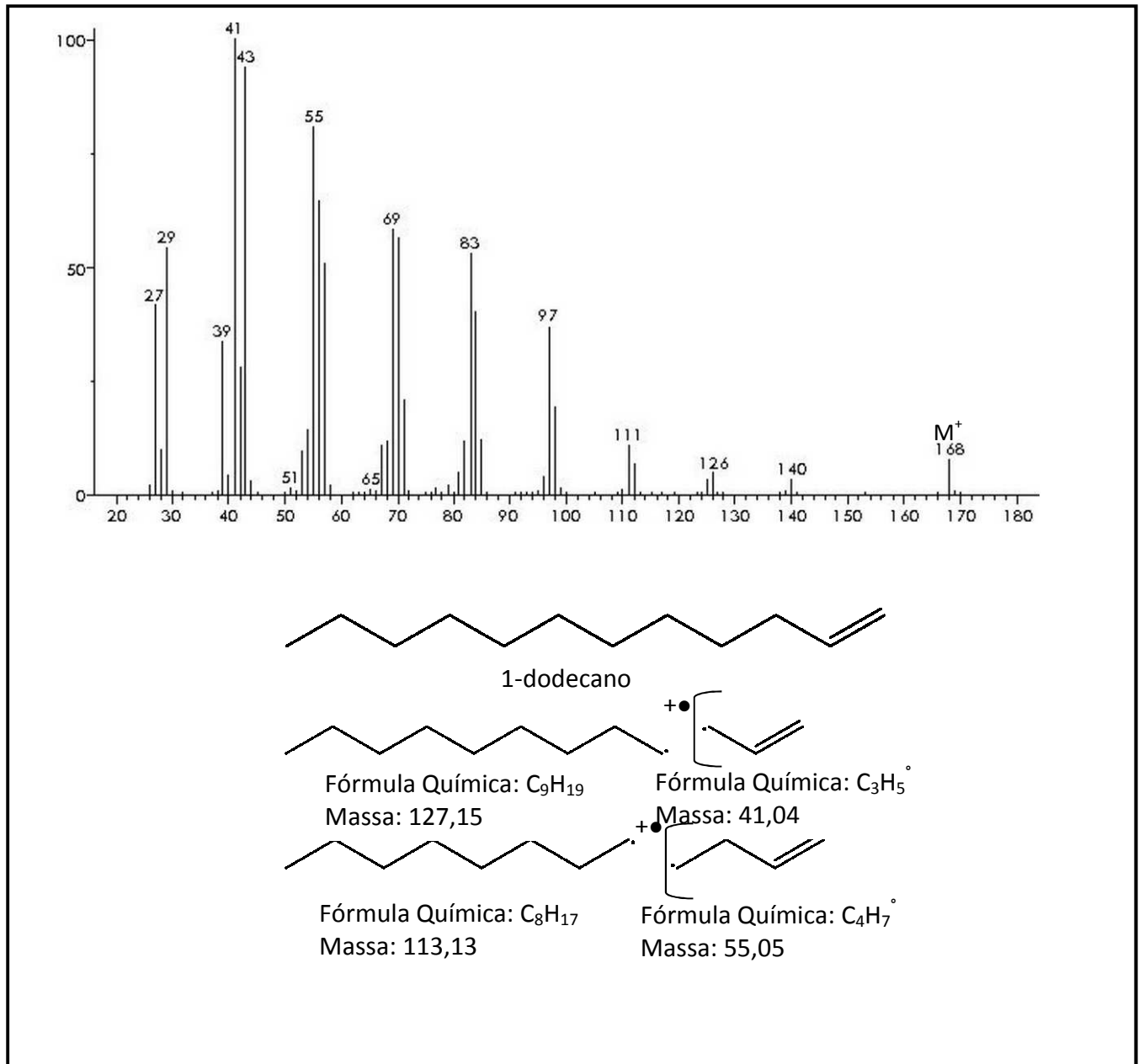


Figura 21. Espectro de Massas e fragmentações do 1-Dodeceno



Antenas de fêmeas exibiram respostas eletrofisiológicas para quatro compostos do extrato de machos de *Z. bimaculosus* (Figura 21). Os compostos foram identificados de acordo com os índices de retenção como 1-Octen-3-ol, KI 1049 (ONG e ACREE, 1999); 4-etil-1-dodeceno, KI 1160 KHORASHEH et al., 1989); 2,4-Nonadienal, KI 1214 (PARKER et al. 2000) e 3,7-dimetil-2,6-octadienal, KI 1382, (HOGNADOTTIR e ROUSEFF, 2003) com tempos de retenção de 14.635 min, 17,654 min, 19.016 min e 22.912 min, respectivamente. Os padrões de fragmentação para o 1-Octen-3-ol (Figura 22), 4-etil-1-dodeceno, 2,4-Nonadienal (Figura 18) e 3,7-dimetil-2,6-octadienal (Figura 24) foram estabelecidos com base em seus espectros de massas

Figura 22. Resposta eletrofisiológica de machos de *Z. bimaculosus* aos extratos de fêmeas co-específicas, , n=5.

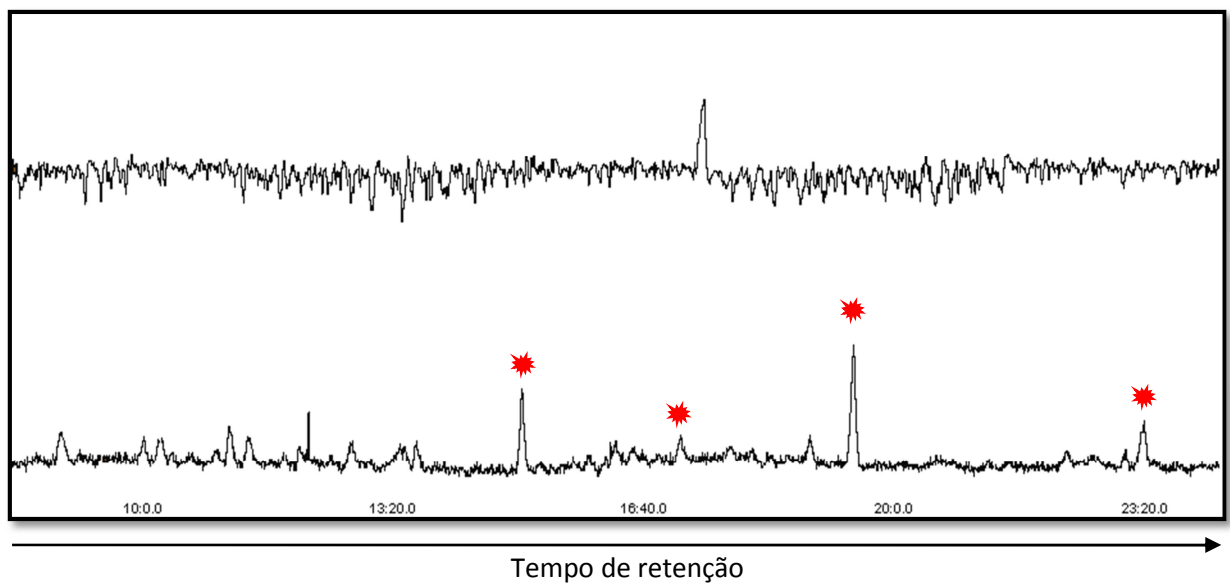


Figura 23. Espectro de Massas e fragmentações do 1-Octen-3-ol

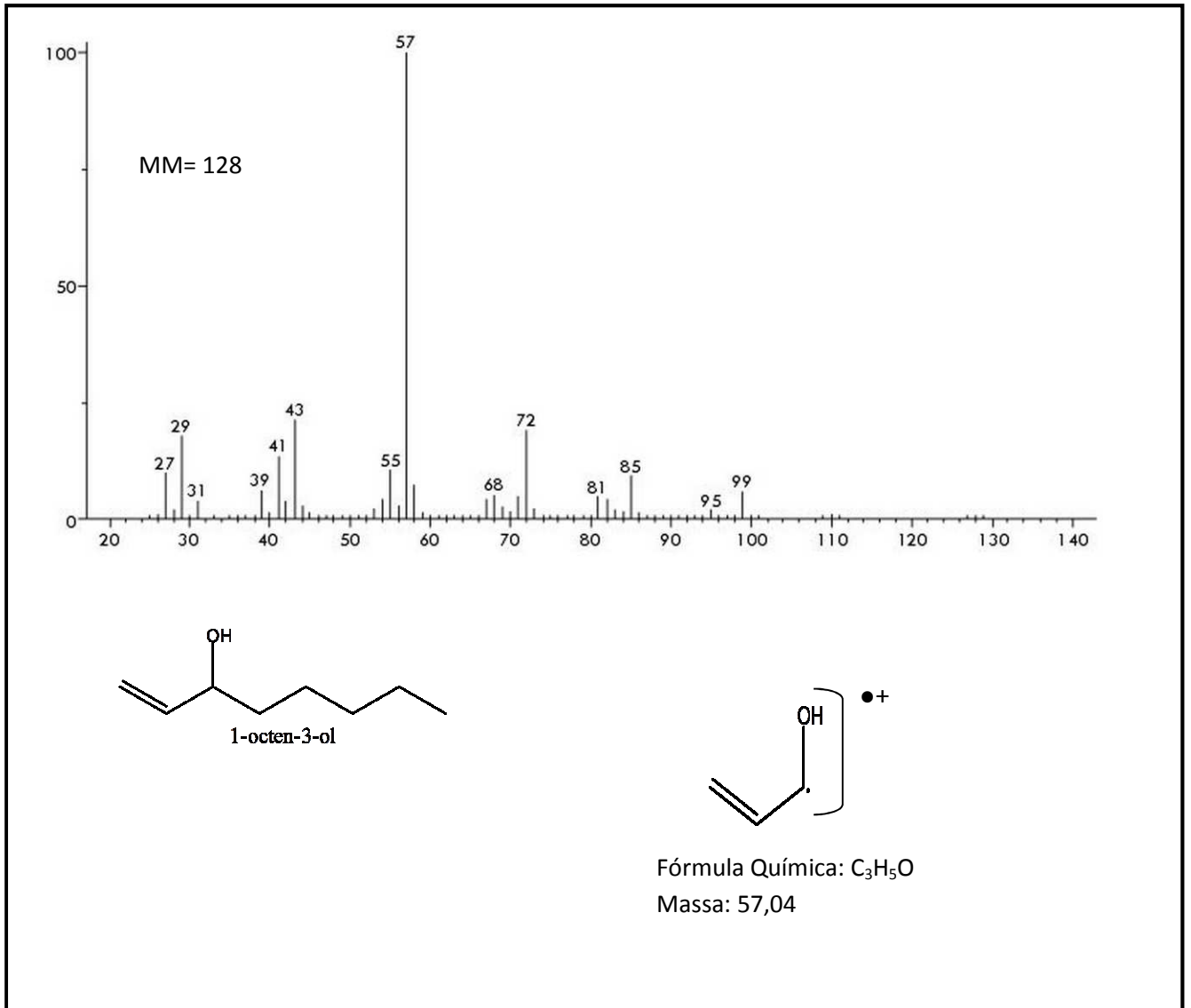
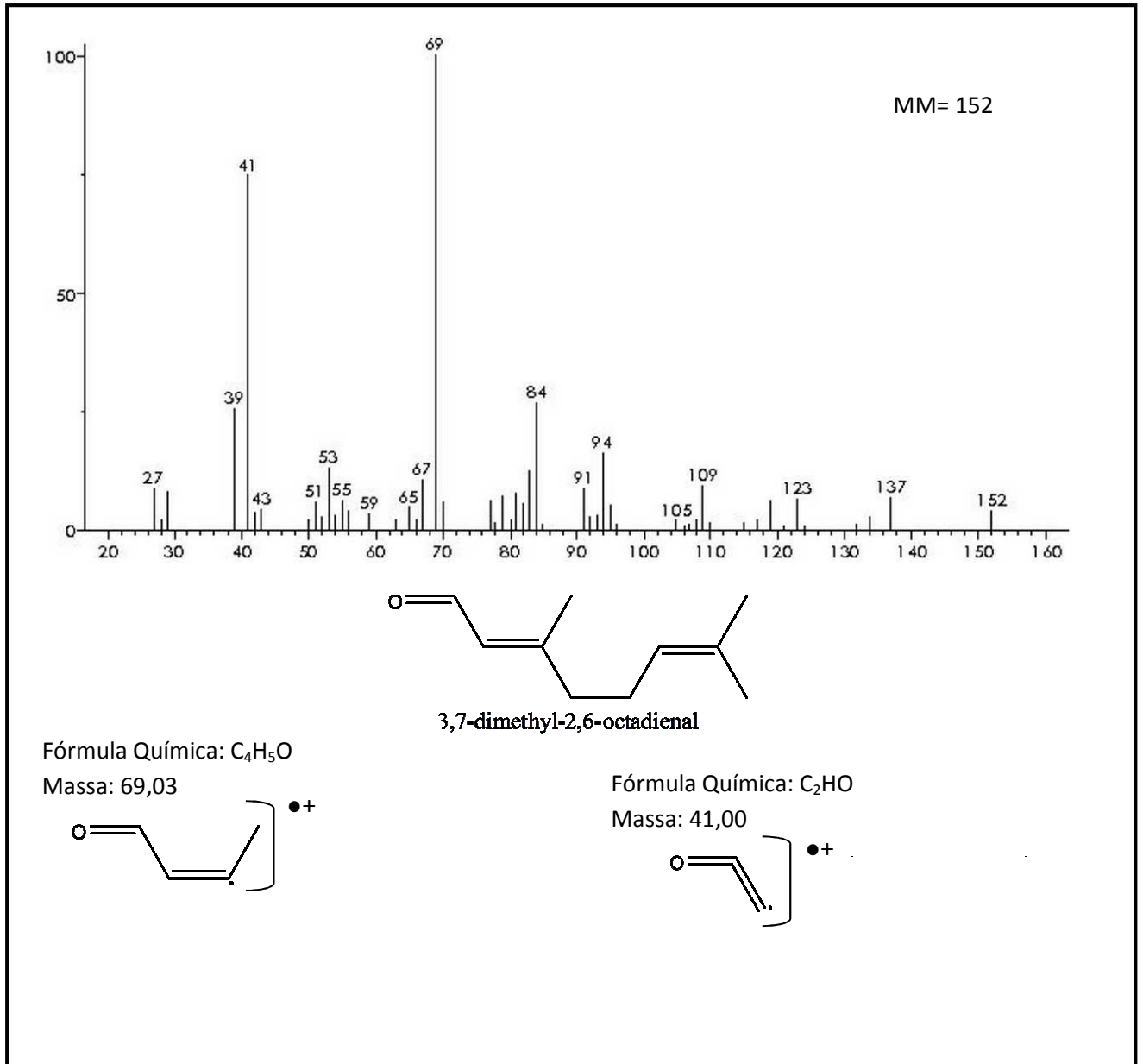


Figura 24. Espectro de Massas e fragmentações do 3,7-dimetil-2,6-octadienal



Quando as antenas de fêmeas de *Z. bimaculosus* foram testadas com extrato de fêmeas de *Z. bimaculosus* (Figura 25), foi possível perceber respostas eletrofisiológicas com quatro compostos presentes no extrato, identificados como decanal, KI 964 (ENGEL et al. 2002); Tridecano, KI 1050 (HÖLLDOBLER et al. 2004), Pentadecano, KI 1216 (CHUNG et al. 1993) e Farnesol, KI 1352 (APEL et al. 2004), através do cálculo do índice de retenção, possuindo tempos de retenção de 10,718 min; 14,647 min; 19,061 min e 22,245 min, respectivamente. As fragmentações do decanal (Figura 26), do tridecano (Figura 27), do pentadecano (Figura 28) e do farnesol (Figura 29) foram obtidas a partir de seus espectros de massas.

Figura 25. Resposta eletrofisiológica de fêmeas de *Z. bimaculosus* aos extratos de fêmeas co-específicas, , n=5.

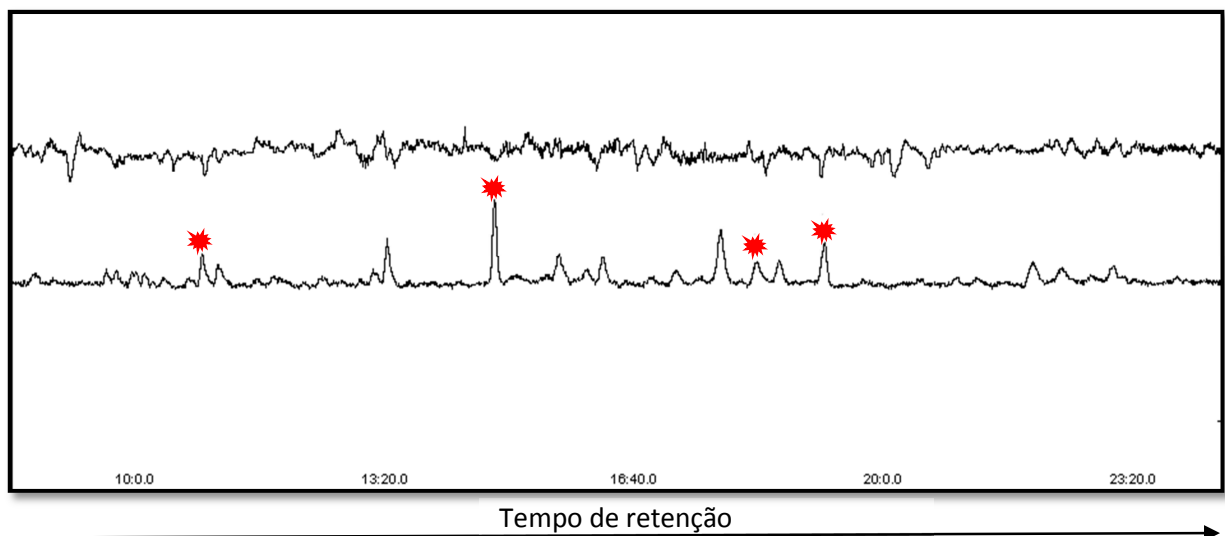


Figura 26. Espectro de Massas e fragmentações do Decanal.

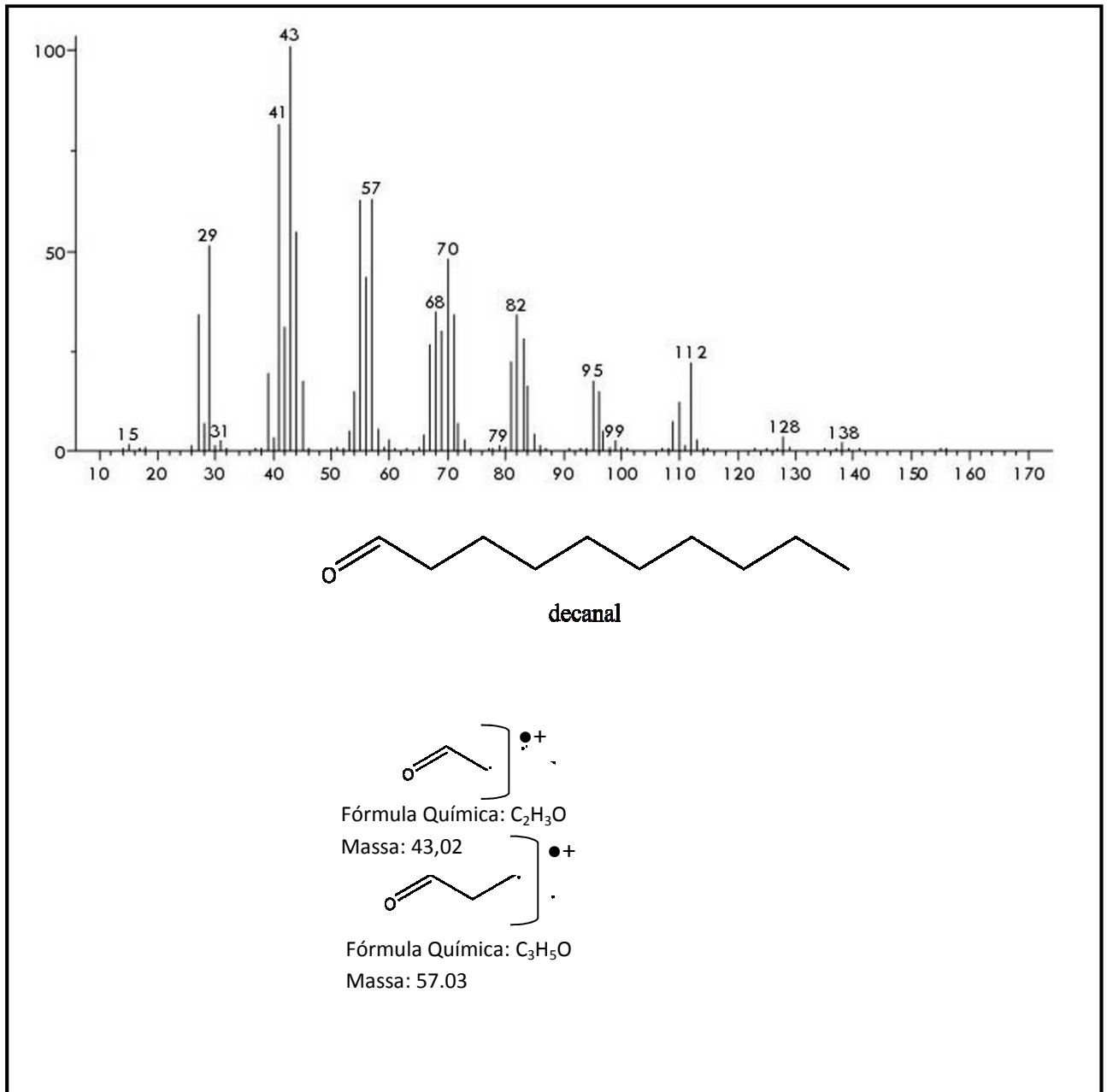


Figura 27. Espectro de Massas e fragmentações do Tridecano.

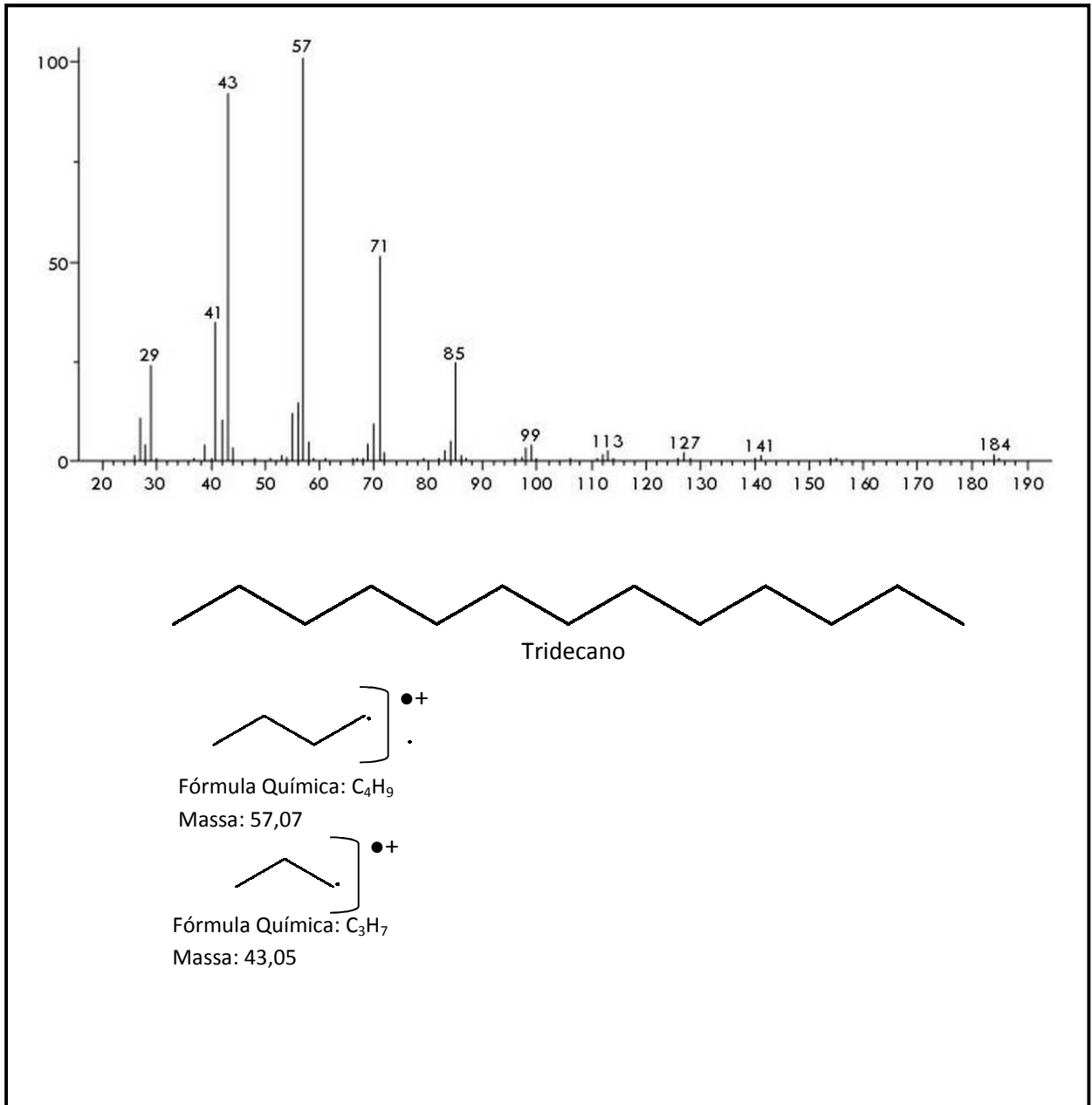


Figura 28. Espectro de Massas e fragmentações do Pentadecano.

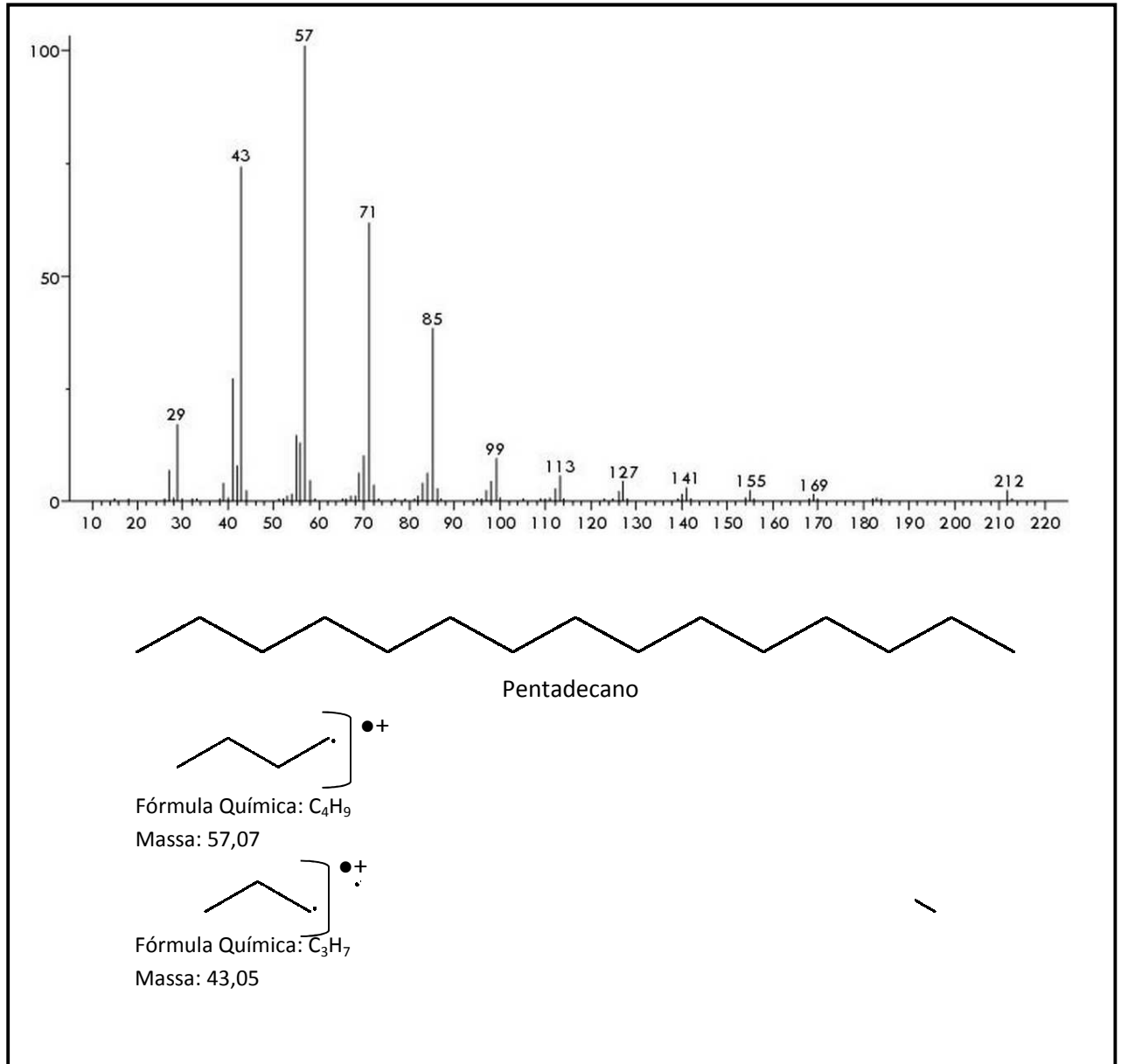
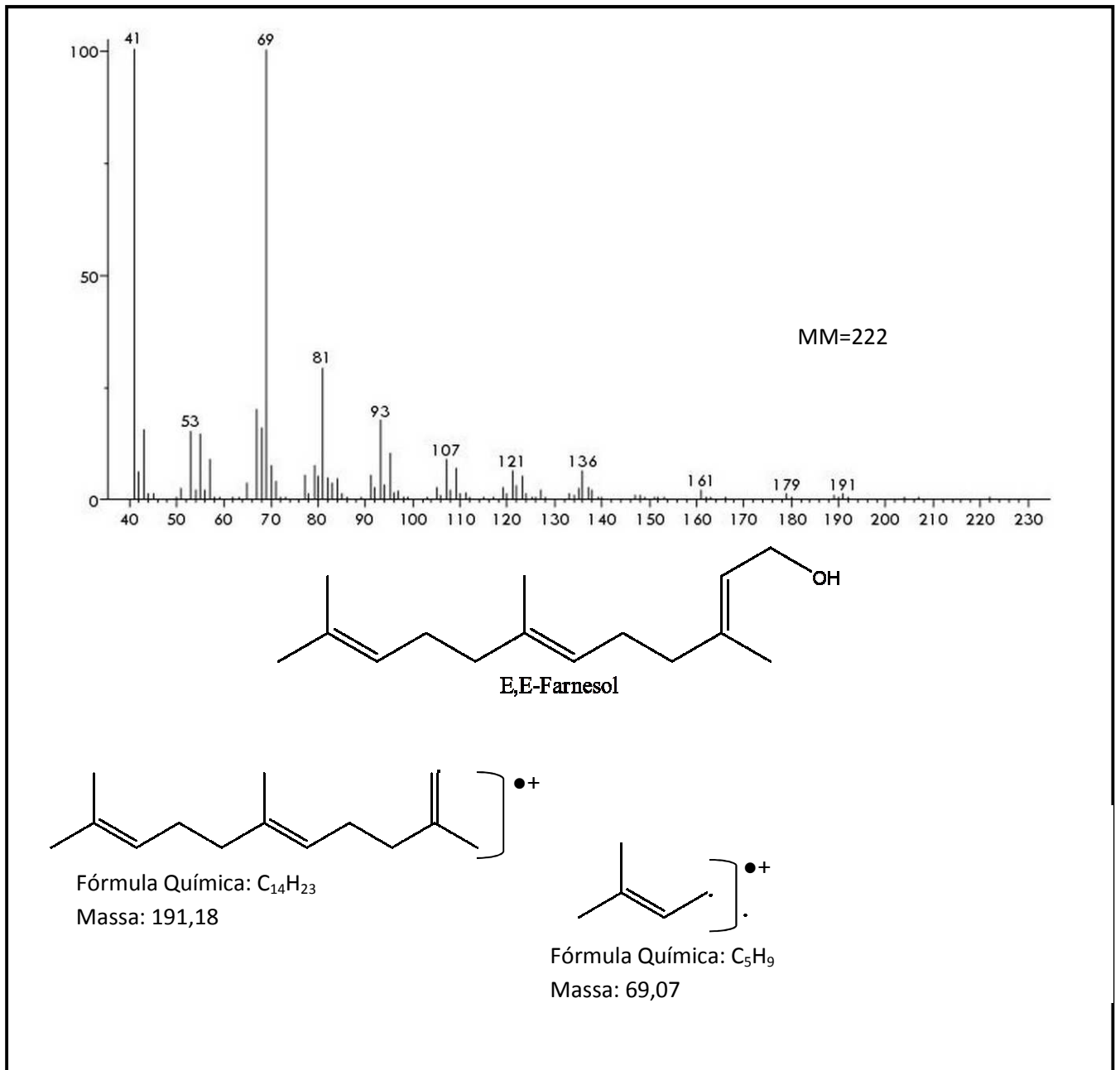


Figura 29. Espectro de Massas e fragmentações do Farnesol.



Os resultados dos testes eletrofisiológicos realizados com as antenas de machos e fêmeas de *Z. bimaculosus* corroboram com os resultados obtidos com os bioensaios comportamentais e evidenciam a possibilidade de fêmeas liberarem feromônios de agregação.

5.1.4 Análise de CG-EM dos extratos de machos e fêmeas de *Zagreus bimaculosus* e *Chilocorus nigrita*

Foram analisados os extratos de *Zagreus bimaculosus* e *Chilocorus nigrita*, coletados por aeração dos insetos pelo período de 24 horas, utilizando como adsorvente o Porapak®. Os compostos diferenciais e mais abundantes nos extratos de machos e fêmeas foram identificados através de CG-EM e índice de retenção e estão dispostos nas figuras 30, 31, 32 e 33 e nas tabelas 3 e 4.

Tabela 3. Compostos Orgânicos Voláteis Liberados por *Zagreus bimaculosus* machos e fêmeas.

<i>Zagreus bimaculosus</i> Macho				<i>Zagreus bimaculosus</i> Fêmea					
		PM	KI	TR		PM	KI	TR	
2	2-metil-hexanal	114	887	6.085	7	Decanal	156	964	10.919
3	Octanal	128	920	7.370	8	2-dodeceno	168	1004	13.331
5	Decano	142	942	8.205	12	Tridecano	184	1050	14.285
6	2-nonenal	140	952	8.580	15	Pentadecano	212	1216	19.061
9	1-Decanol	158	1023	12.630	16	Farnesol	222	1352	22.245
10	2-propil-1-Heptanol	158	1038	12.820	21	Hexadecano	226	1812	33.010
11	Dodecano	170	1043	12.990	22	Hexadecanal	240	1823	33.240
14	4-etil-1-dodeceno	196	1160	18.005	25	Geranyl Linalol	290	1869	34.220
17	4,6-dimetil-dodecano	198	1214	19.016	27	Docosano	310	2106	38.985
23	Tetradecano	198	1834	33.490	28	Hexacosano	366	2188	40.470
26	Tritetracontano	605	1952	35.940	29	Heptacosano	380	2217	41.000
					30	Nonacosano	408	2248	41.550
					31	Hexatriacontano	506	2269	41.930
					32	Tetratetracontano	619	2509	46.005

Figura 30. Cromatogramas representativos das análises dos extratos de machos e fêmeas de *Zagreus bimaculosus* por CG-EM.

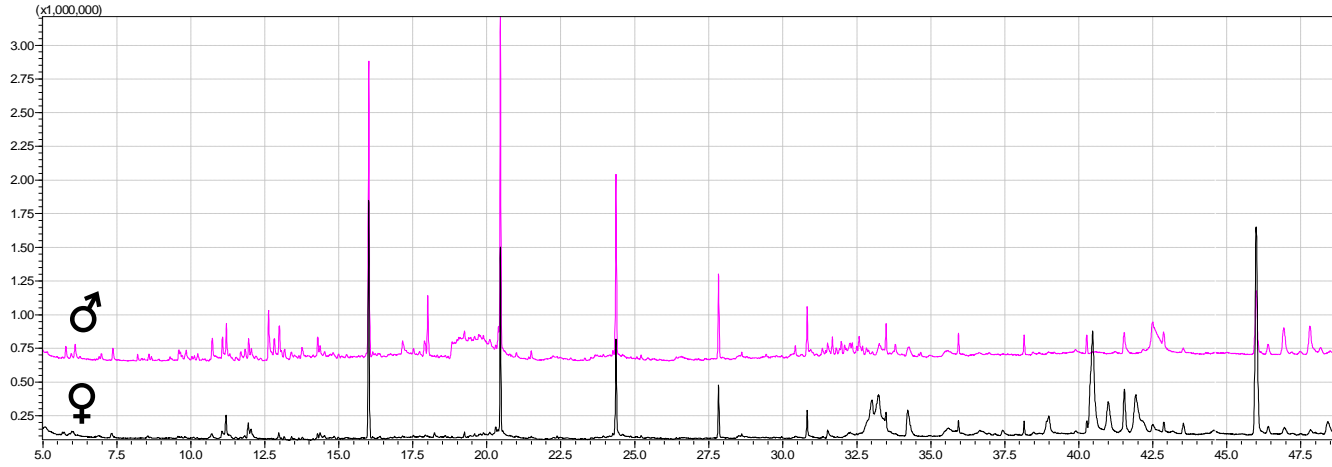
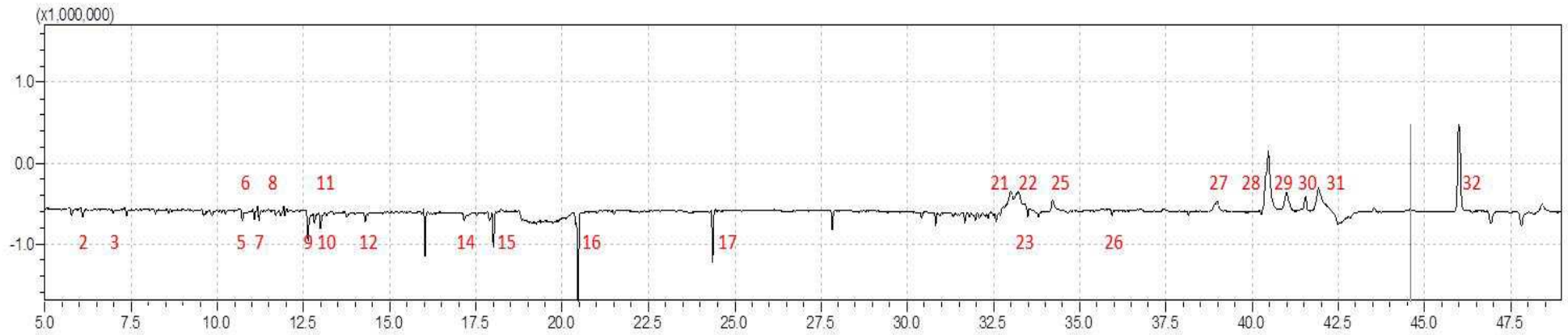


Figura 31. Cromatograma representativo apresentando os picos que diferenciam os machos (para baixo) das fêmeas (para cima).



O farnesol foi relatado como feromônio de coleópteros, da família Elateridae por Tóth et al. (2003), porém emitidos por insetos machos, enquanto que em *Z. bimaculosus*, o farnesol, foi identificado no extrato de aeração de fêmeas. O aldeído decanal tem sido reportado na literatura como feromônio de agregação de coleópteros, como é o caso do trabalho de Martins (2013) que identificou, dentre outros compostos, o decanal em extratos cuticulares de *Oryzophagus oryzae*, outra espécie de curculionídeo. Os hidrocarbonetos são bastante frequentes como componentes feromonais de coleópteros, principalmente quando estudados os extratos cuticulares, porém aparecem com frequência em extratos de aerações de coleópteros, inclusive o tridecano e o pentadecano que foram descritos por Soto et al. (2011) e Martins et al. (2013). O dodeceno e derivados metilados, como o 4-etil-1-dodeceno, tem sido obtidos de plantas e insetos de algumas ordens, como Lepidoptera e Diptera (FARINE et al. 1996), mas não em *Zagreus bimaculosus* ou outros membros da família.

Como mencionado, também foram realizados os bioensaios comportamentais, as aerações e análises em GC-EM com a espécie *C. nigrita*, porém a análise em GC-EAG não foi realizada.

Tabela 4. Compostos Orgânicos Voláteis Liberados por *Chilocorus nigrita* machos.

<i>Chilocorus nigrita</i> Macho		PM	KI	TR
2	2-etil-1-hexanol	130	1045	12.020
3	Nonanal	142	1072	12.975
4	3,7-dimetil-1-octanol	158	1077	13.150
5	5-metil-undecano	170	1091	13.645
6	4,8-dimetil-1-nonanol	172	1110	14.280
7	3,7-dimetil- undecano	184	1112	14.360
8	Tridecano	184	1117	14.520
10	4,6-dimetil-dodecano	198	1197	17.145
11	Tetradecano	198	1266	19.240
12	Hexadecano	226	1278	19.590
13	Geranil Linalol	290	1288	19.885
14	Docosano	310	1304	20.370
16	Octacosano	394	1446	24.260
21	1-Heptacosanol	396	1811	33.000
22	Esqualeno	410	1823	33.240

Figura 32. Cromatogramas representativos das análises dos extratos de machos e fêmeas de *Chilocorus nigrita* por CG-EM

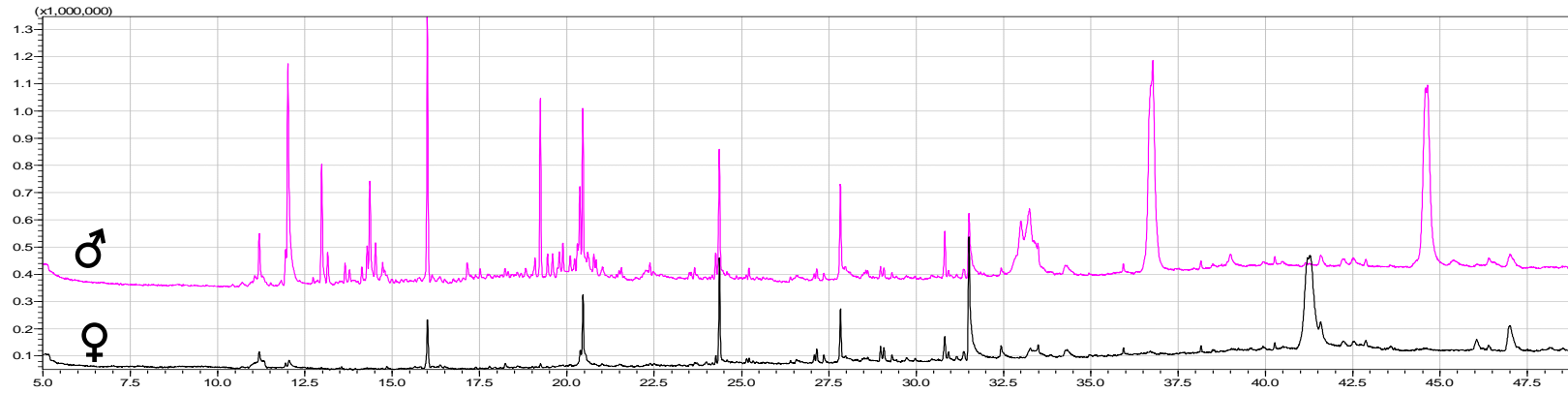
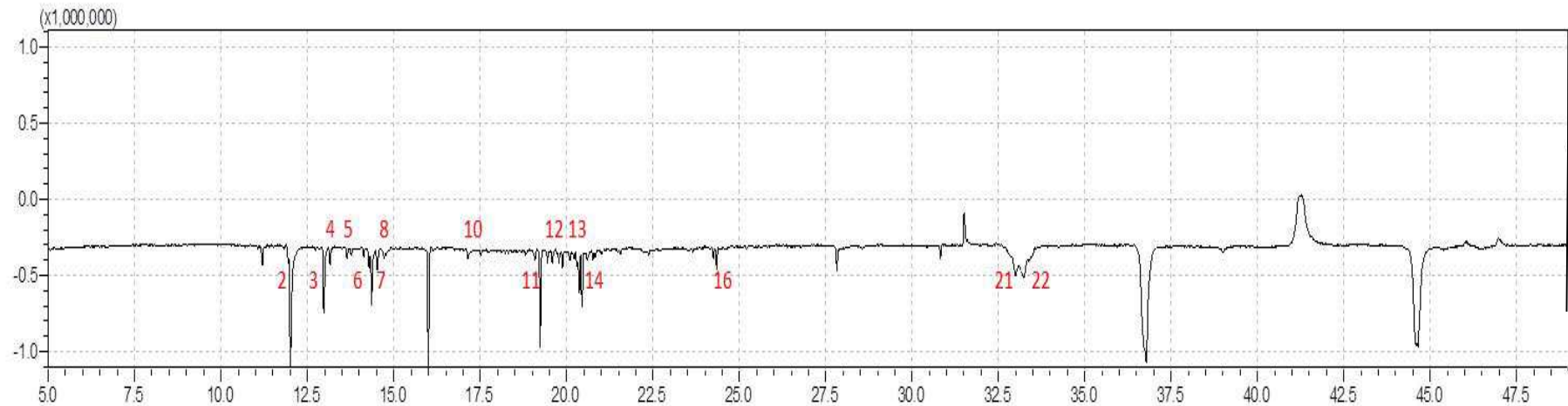


Figura 33. Cromatograma representativo apresentando os picos que diferenciam os machos (para baixo) das fêmeas (para cima).



Karlson e Luscher (1959) definiram feromônio como uma substância secretada por um indivíduo para o exterior e percebida por outro indivíduo da mesma espécie provocando um comportamento definido ou um processo de desenvolvimento fisiológico definido. Existem várias vantagens da utilização de feromônios como instrumento de controle, como, facilidade de utilização, especificidade, caráter não poluente e compatibilidade com outros métodos de controle.

Através do processo de aeração dos insetos, foi possível realizar a coleta de todos os compostos orgânicos voláteis liberados pelos insetos, inclusive feromônios. A maioria dos feromônios liberados por Joaninhas são produzidos por machos e, normalmente atraem ambos os sexos (BARTELT, 1999). No caso do *Z. bimaculosus*, houve a emissão de compostos tanto exclusivamente por machos, quanto exclusivamente por fêmeas. Já em *C. nigrita*, a análise por CG-EM mostrou a presença de compostos orgânicos voláteis, diferencialmente emitidos por machos, principalmente compostos da classe dos hidrocarbonetos, álcoois e aldeídos, e em ambos os casos também foram verificadas as classes químicas hidrocarbonetos, álcoois e aldeídos, classes essas que estão associadas à feromônios de coleópteros (TORTO et al. 1996). O esqualeno, triterpeno que foi identificado através do CG-EM em extratos de machos de *C. nigrita* tem sido relatado em estudos como tendo uma importante função em interações tritróficas, e entre essas funções encontra-se a atração de insetos de uma mesma espécie, com a finalidade de agregação (DUTTON et al., 2002). Já os álcoois, que ambas as espécies liberaram, como o 1-etil-hexanol, 3,7-dimetil-octanol, 1-heptacosanol, 1-decanol, 2-propil-1-heptanol e o farnesol, são compostos comumente relatados em trabalhos com coleópteros e, apesar da coleta ter sido feita por aeração, são tidos como componentes cuticulares de insetos, estando relacionados também com a composição feromonal de feromônios de agregação de muitas espécies da ordem Coleoptera (BLOMQUIST et al., 1972; DAPPORTO et al. 2013; CHIBNALL et al. 1934).

5. 2 RELAÇÃO ENTRE PLANTAS SADIAS E INFESTADAS COM *Zagreus bimaculosus* E *Chilocorus nigrita*

5.2.1 Bioensaios com os COVs das plantas sadias

Com os COVs obtidos das plantas sadias e após a infestação com a cochonilha de escama, ensaios comportamentais em olfatômetro tipo Y foram realizados. Os resultados dos bioensaios com os COVs das diferentes variedades de palma antes da infestação encontram-se nas tabela 5 e 6.

Antes da infestação apenas duas variedades apresentaram atratividade para as fêmeas de *Z. bimaculosus*, a palma miúda e a Alagoas; e duas variedades para machos de *Z. bimaculosus*, a palma miúda e a Tamazunchale.

Tabela 5. Número de machos e fêmeas de *Z. bimaculosus* atraídos pelos extratos de palma forrageiras sadias e pelo tratamento controle (hexano), n=20.

Variedade	Insetos Machos (%)		Insetos Fêmeas (%)	
	Extrato	Hexano	Extrato	Hexano
01 - Orelha de Elefante Mexicana	65n.s	35	65n.s	35
02 – Melancia	40n.s	60	60n.s	40
03 – Orelha de Elefante Africana	50n.s	50	55n.s	45
04 – Palma miúda	75*	25	75*	25
05 – Negro Michoacan	55 n.s	45	65n.s	35
06 – Blanca Michoacan	45 n.s	55	45n.s	55
07 –Blanca San Pedro	65n.s	35	45n.s	55
08 –Rio Grande do Norte	45n.s	55	50n.s	50
09 –Alagoas	60n.s	40	75*	25
10 –Tamazunchale	75*	25	65n.s	35

*Significativo estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade pelo teste do qui-quadrado.

Já quando foi submetida aos bioensaios comportamentais a espécie *C. nigrita*, verifica-se que apenas os COVs das variedades 5 (Negro michoacan) e 6 (Blanca michoacan) atraíram os insetos machos da joaninha *Chilocorus nigrita*. Enquanto as variedades 4 (Palma miúda) e 9 (Alagoas) atraíram os insetos fêmeas da joaninha. Esses resultados evidenciam a diferença existente entre as variedades em relação à emissão de compostos voláteis.

Tabela 6. Número de machos e fêmeas de *Chilocorus nigrita* atraídos pelos extratos de 10 variedades de palma forrageiras sadias e pelo tratamento controle (hexano), n=20.

Variedade	Insetos Machos (%)		Insetos Fêmeas (%)	
	Extrato	Hexano	Extrato	Hexano
01 - Orelha de Elefante Mexicana	65n.s	35	65n.s	35
02 – Melancia	40n.s	60	60n.s	40
03 – Orelha de Elefante Africana	50n.s	50	55n.s	45
04 – Palma miúda	55n.s	45	75*	25
05 – Negro Michoacan	75*	25	65n.s	35
06 – Blanca Michoacan	75*	25	45n.s	55
07 –Blanca San Pedro	65n.s	35	45n.s	55
08 –Rio Grande do Norte	45n.s	55	50n.s	50
09 –Alagoas	60n.s	40	75*	25
10 –Tamazunchale	45n.s	55	65n.s	35

*Significativo estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade pelo teste do qui-quadrado.

5.2.2 Bioensaios com os COVs das plantas infestadas

Com os COVs das plantas infestadas também foram realizados testes comportamentais (Tabelas 7 e 8), a atração observada tanto para machos, quanto para fêmeas foram significativamente maior que quando comparado ao teste com plantas sem infestação em ambas as espécies de joaninhas.

Os testes realizados com a espécie *Z. bimaculosus* mostrou que houve uma atratividade dos machos por sete variedades de palma após a infestação (melancia, palma miúda, negro michoacan, blanca michoacan, blanca san pedro e alagoas), já as fêmeas foram atraídas por seis variedades infestadas (melancia, palma miúda, negro michoacan, blanca michoacan, alagoas e tamazunchale).

Tabela 7. Resultado quantitativo da escolha na olfatomетria em Y, utilizando Hexano como controle e o extrato das 10 variedades após a infestação, testando machos e fêmeas de *Zagreus bimaculosus*, n=20.

Variedade	Insetos Machos (%)		Insetos Fêmeas (%)	
	Extrato	Hexano	Extrato	Hexano
01 - Orelha Mexicana	65n.s	35	65n.s.	35
02 – Melancia	75,7*	24,3	75*	25
03 – Orelha de Elefante Africana	56,25n.s.	43,75	60n.s.	40
04 – Palma miúda	84*.	16	85*	15
05 – Negro Michoacan	75*	25	74*	26
06 – Blanca Michoacan	78*	22	70*	30
07 –Blanca San Pedro	76*	24	63n.s.	37
08 –Rio Grande do Norte	56 n.s	44	60n.s	40
09 –Alagoas	78*	22	75*	25
10 - Tamazunchale	73*	27	85*	15

*Significativo estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade pelo teste do qui-quadrado.

Com a espécie *C. nigrita*, entre os machos, apenas quatro variedades não mostraram valores significativos, inclusive duas espécies de palma do gênero *Opuntia* (a Orelha de Elefante Africana e a Rio Grande do Norte). E este gênero é considerado resistente à cochonilha em escama pela literatura. Já entre as fêmeas, três variedades não apresentaram resposta de atração, e duas delas (Orelha Mexicana e Orelha de elefante africana) são do gênero *Opuntia*.

Tabela 8. Resultado quantitativo da escolha na olfatomетria em Y, utilizando Hexano como controle e o extrato das 10 variedades após a infestação, testando machos e fêmeas de *Chilocorus nigrita*, n=20.

Variedade	Insetos Machos (%)		Insetos Fêmeas (%)	
	Extrato	Hexano	Extrato	Hexano
01 - Orelha Mexicana	75*	25	65n.s.	35
02 – Melancia	73,7*	26,3	65n.s.	35
03 – Orelha de Elefante Africana	56,25n.s.	43,75	60n.s.	40
04 – Palma miúda	66,66n.s.	33,34	85*	15
05 – Negro Michoacan	73,3*	26,7	70*	30
06 – Blanca Michoacan	79*	21	75*	25
07 –Blanca San Pedro	62,5n.s.	37,5	76*	24
08 –Rio Grande do Norte	60 n.s	40	76*	24
09 –Alagoas	80*	20	74*	26
10 - Tamazunchale	73*	27	88**	12

*Significativo estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade pelo teste do qui-quadrado.

Os resultados obtidos com os bioensaios comportamentais mostraram que os inimigos naturais de *D. echinocacti* estudados, demonstraram uma preferência aos COVs de plantas infestadas ao invés de plantas sem infestação, demonstrando uma evidência que a comunicação entre os inimigos naturais e as plantas são mediadas

pelos COVs liberados após o processo de herbivoria por *D. echinocacti*. O fato de as duas espécies de inimigos naturais estudadas serem atraídas por COVs de plantas infestadas por *D. echinocacti* sugere que os possíveis compostos liberados podem servir de sinalizadores para alimentação dessas espécies de joaninhas, sendo útil no controle biológico da praga *D. echinocacti*.

As plantas liberam uma gama de compostos orgânicos voláteis que auxiliam na localização de insetos pragas. Os compostos voláteis produzidos e liberados por plantas após a herbivoria tem sido relatado na literatura, inclusive no que diz respeito à interação desses voláteis em interações tritróficas, desempenhando importante papel para a comunidade de inimigos naturais, e isso pode ser avaliado tanto em bioensaios comportamentais, como em testes eletrofisiológicos (DICKE e LOON, 2000), como foi o caso do presente estudo. Esses bioensaios comportamentais servem de embasamento para proceder aos testes eletrofisiológicos, que podem confirmar os resultados evidenciados pelo comportamento dos insetos em estudo.

5.2.3 Cromatografia Gasosa Acoplada a Eletroantenografia na Interação planta x *Zagreus bimaculosus*

Os testes eletrofisiológicos foram realizados com machos e fêmeas de *Z. bimaculosus*, frente aos extratos da variedade Alagoas, antes do processo de infestação e após a infestação. A avaliação por CG-EAG foi baseada nos bioensaios comportamentais, sendo possível apenas a realização com a variedade Alagoas, ficando as demais variedades que apresentaram resultados comportamentais satisfatórios (melancia, palma miúda e tamazunchale) para posterior avaliação em CG-EAG. Os compostos identificados tiveram seus Índices de retenção calculados, comparados com a literatura e confirmados pela fragmentação dos espectros de massas.

Quando as antenas de *Z. bimaculosus* de fêmeas foram testadas com o extrato da variedade alagoas infestada (Figura 34), foi possível perceber respostas eletrofisiológicas com três compostos do extrato, identificados como 2,6,11-trimetil-dodecano, KI 1034 (KING et al., 1995); Tetradecanal, KI 1183 (DE MARQUES et al., 2000) e eicosano, KI 1482, (PEPPARD et al., 1992), através do cálculo do índice de retenção, possuindo tempos de retenção de 11,710; 15,003 e 25,110,

respectivamente. Os fragmentos do 2,6,11-trimetil-dodecano (Figura 35), do tetradecanal (Figura 36) e do Eicosano (Figura 37) foram obtidos através de análise dos seus espectros de massas.

Figura 34. Eletroanterograma representativo das respostas de fêmeas de *Z. bimaculosus* ao extrato da variedade Alagoas de palma forrageira infestada, n=5.

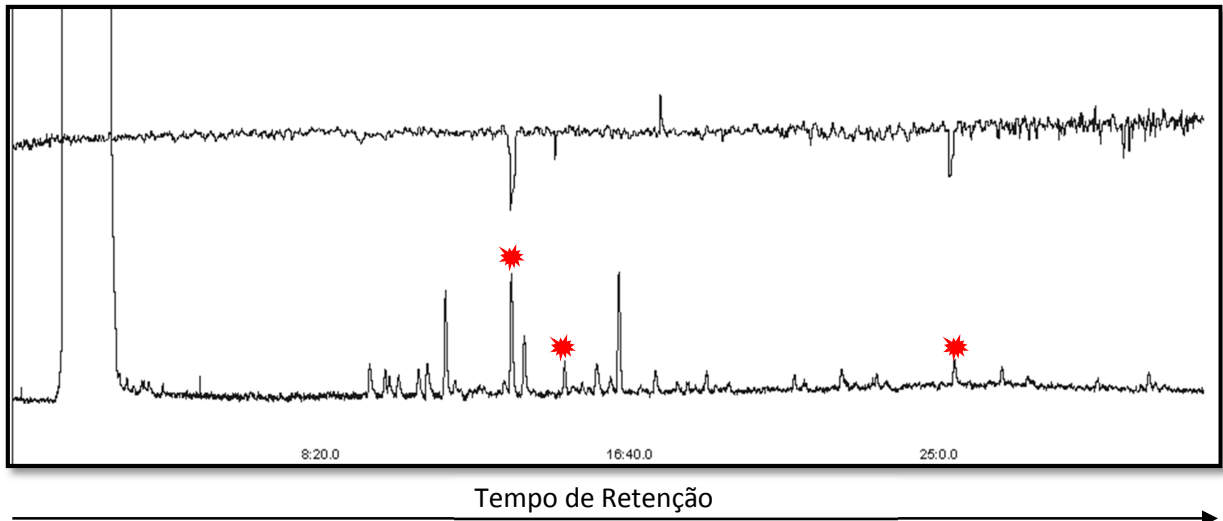


Figura 35. Espectro de Massas e fragmentações do 2,6,11-Trimetil-dodecano.

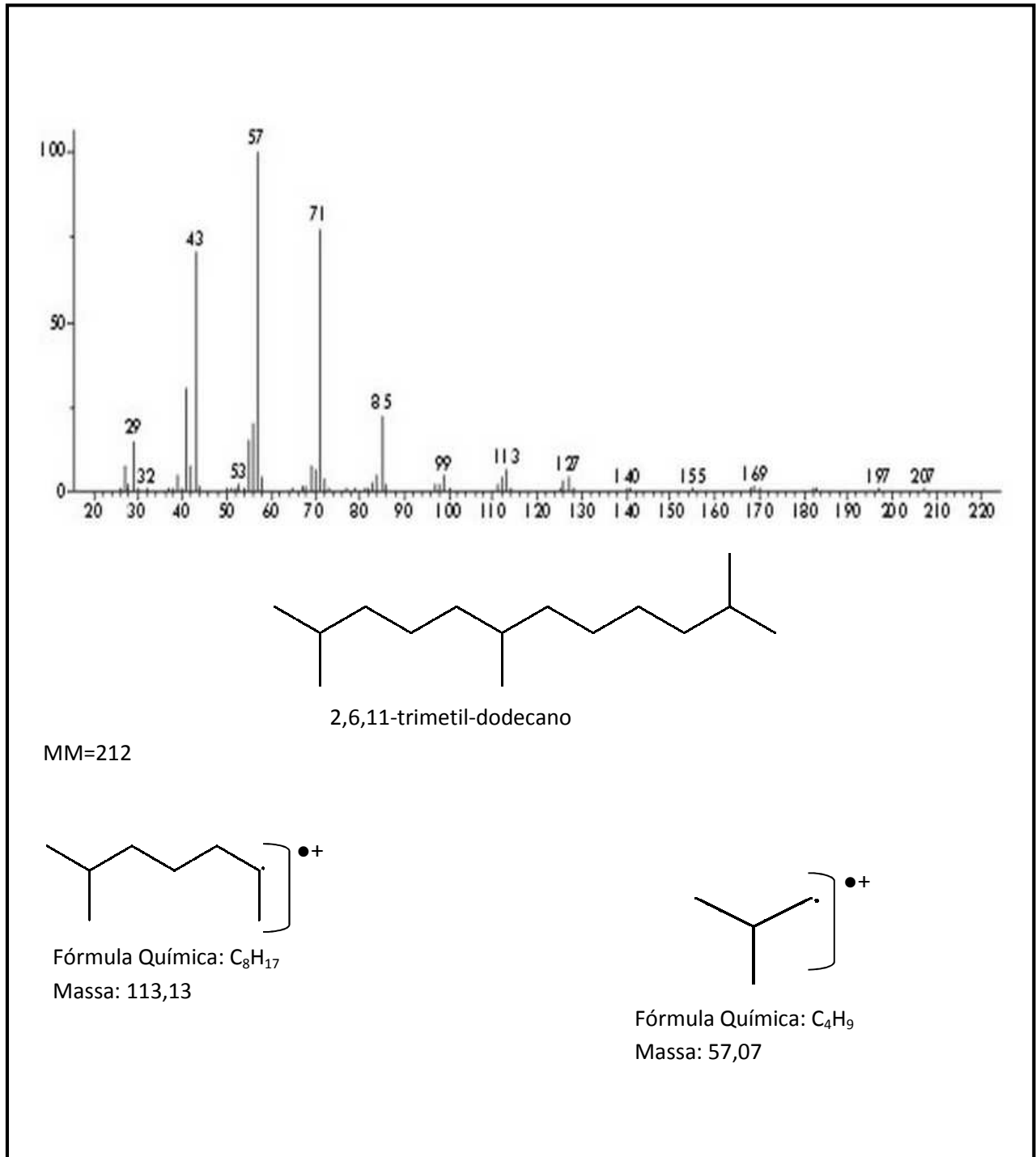


Figura 36. Espectro de Massas e fragmentações do Tetradecanal.

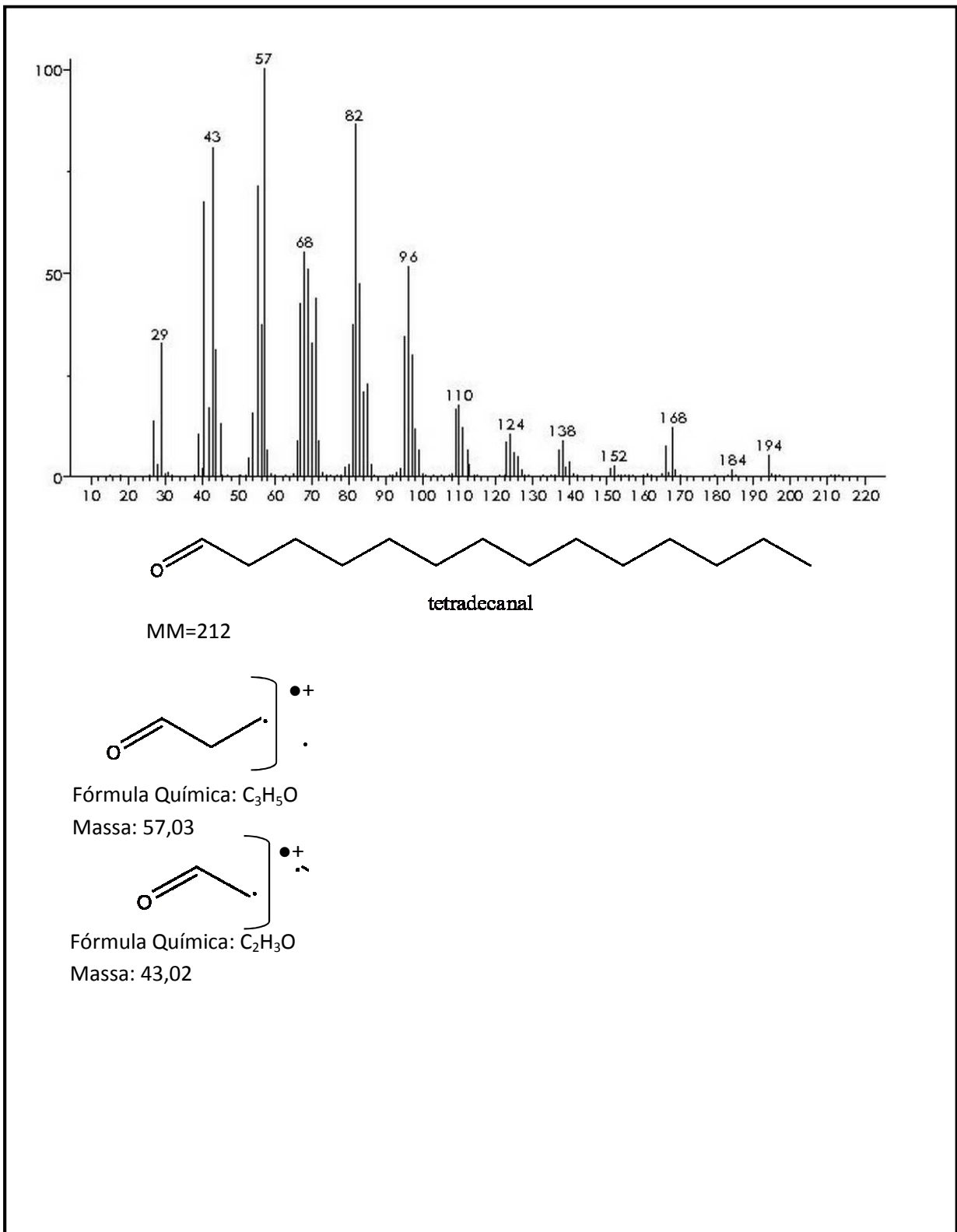
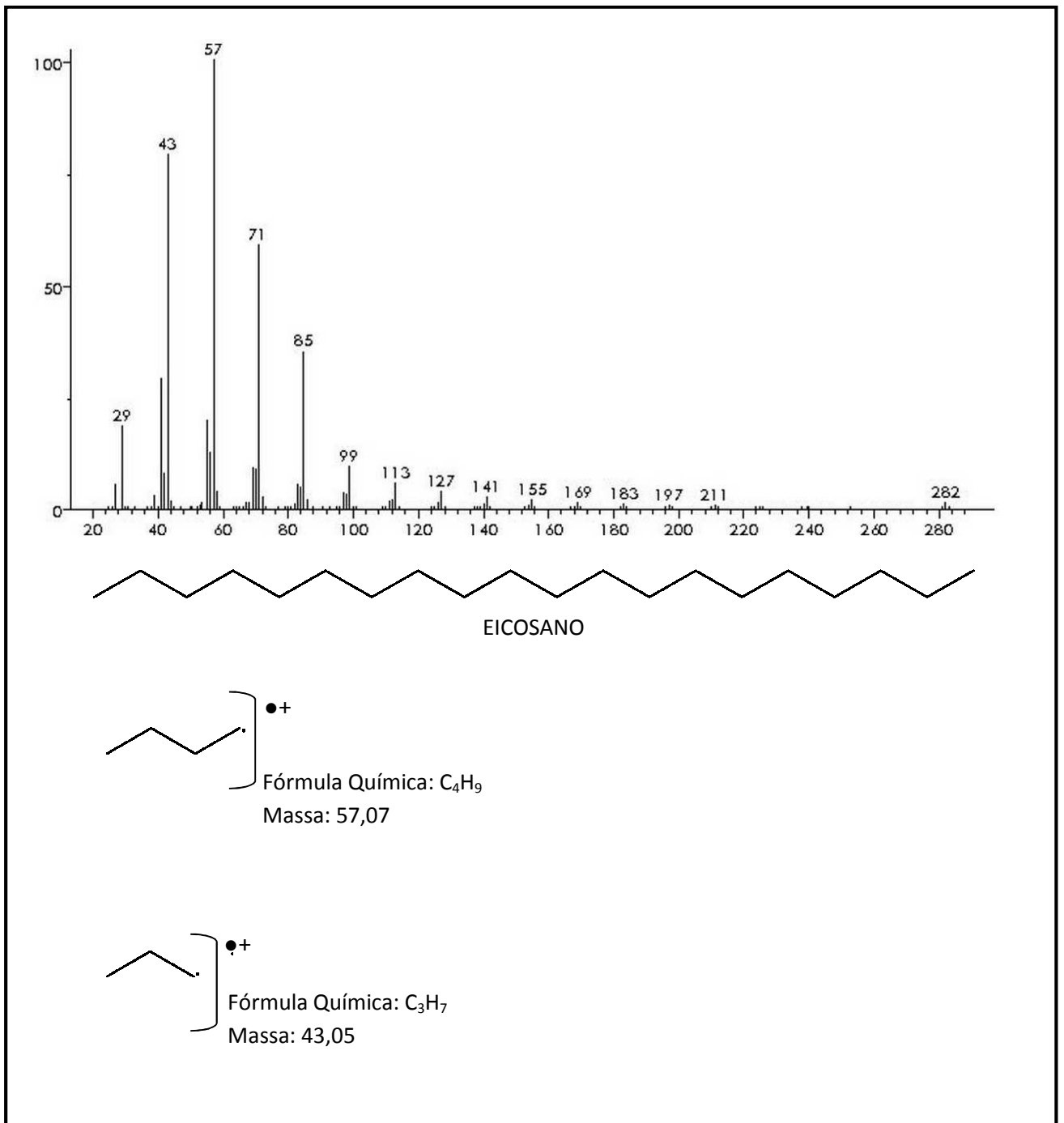


Figura 37. Espectro de Massas e fragmentações do Eicosano



Quando as antenas de *Z. bimaculosus* de machos foram testadas com o extrato da variedade alagoas infestada (Figura 38), foi possível perceber respostas eletrofisiológicas com três compostos do extrato, identificados como 2,6,11-trimetil-dodecano, KI 1034 (KING et al., 1995); Tetradecanal, KI 1183 (DE MARQUES et al., 2000), 2-heptenal, KI 1348 (LE GUEN et al., 2000) e Eicosano, KI 1482 (PEPPARD

et al., 1992), através do cálculo do índice de retenção, possuindo tempos de retenção de 11,712 min; 15,013 min, 17.661 min e 25,314 min, respectivamente. Os fragmentos de massas do 2,7,10-trimetil-dodecano (Figura 35), do tetradecanal (Figura 36), 2-heptenal (Figura 39) e do Eicosano (Figura 37) foram obtidos a partir de seus espectros de massas.

Figura 38. Eletroantenograma apresentando as respostas de machos *Z. bimaculosus* ao extrato da variedade Alagoas de palma forrageira infestada, n-5.

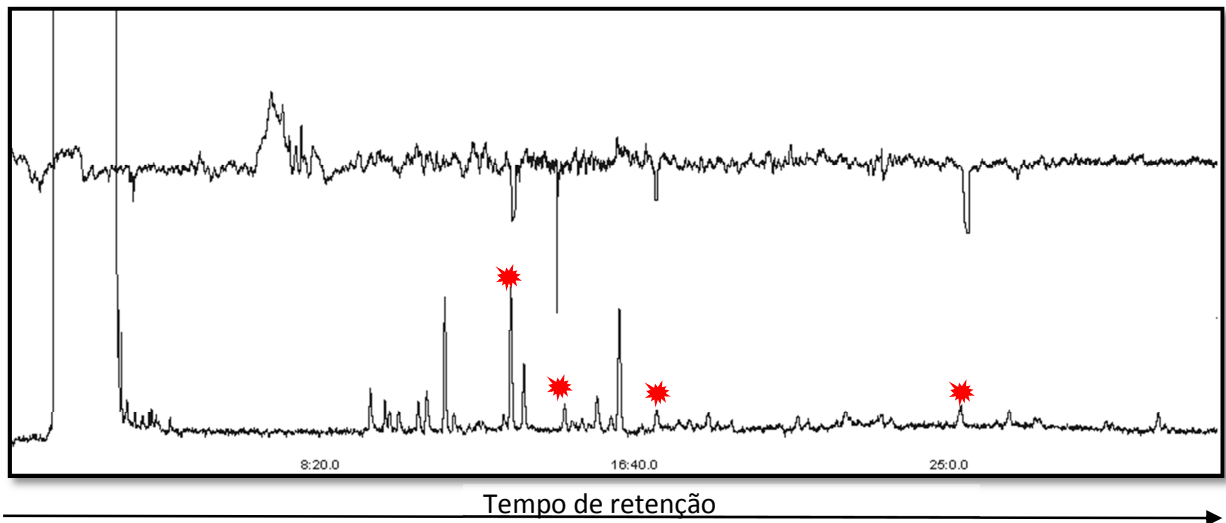
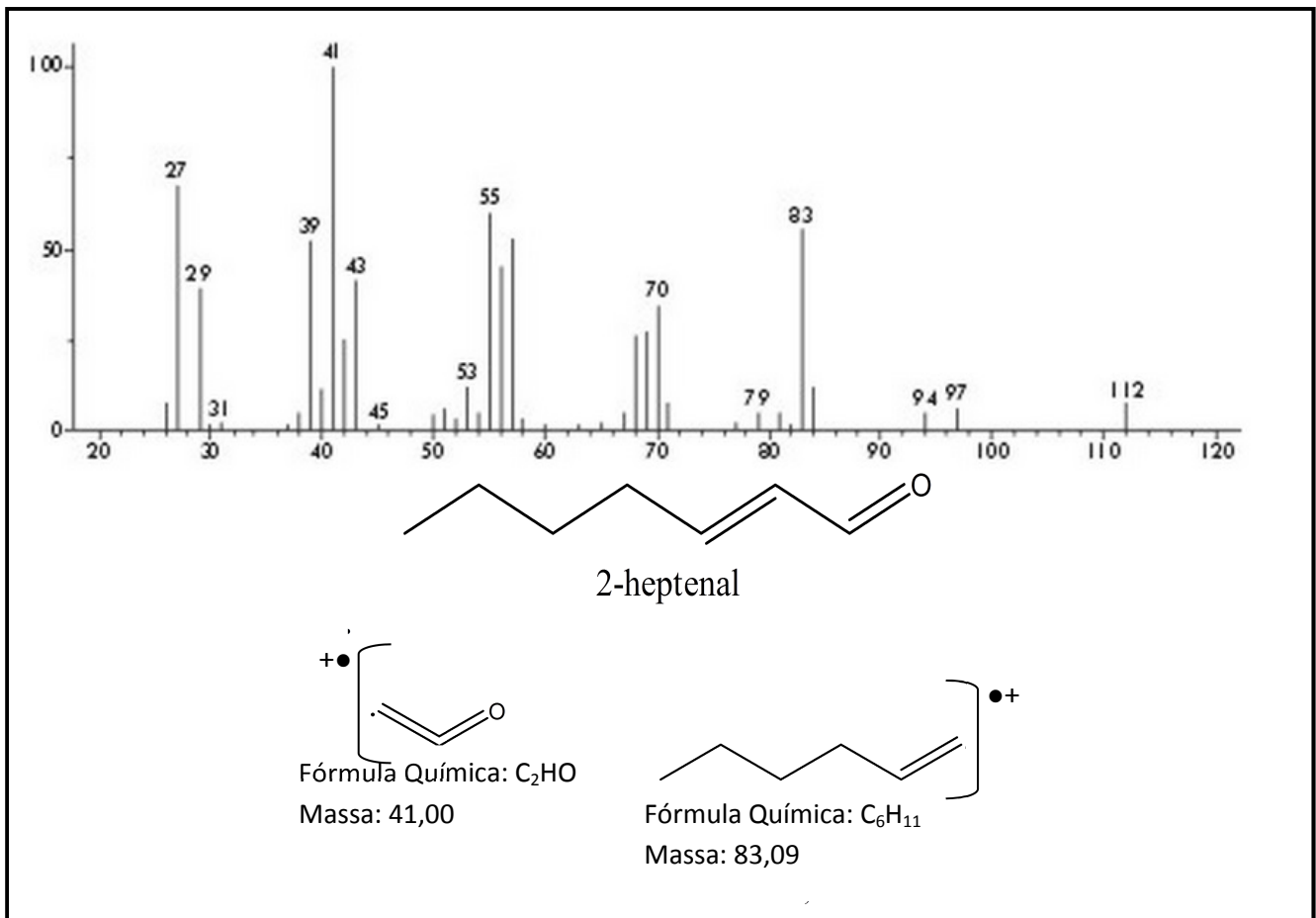


Figura 39. Espectro de Massas e fragmentações do 2-heptenal.



5.3 RELAÇÃO ENTRE PLANTAS SADIAS E INFESTADAS

Além da diferença desse perfil de compostos orgânicos voláteis entre as variedades de palma, foi verificado também qual seria a diferença na emissão de COVs pela planta antes e após a infestação com a cochonilha de escama. Os COVs das variedades estudadas foram analisados por CG-EM antes e após a infestação. Cada variedade foi comparada separadamente. Dessa forma foi possível identificar os COVs que apareceram ou que foram suprimidos depois da infestação. Abaixo encontram-se as tabelas com os compostos identificados, por espectrometria de massas, com seus respectivos tempos de retenção e índice de retenção. Encontram-se dispostos também, os cromatogramas que representam os picos diferenciais e os espectros de massas dos compostos.

Nas figuras 39 e 40 e tabela 9 encontram-se os cromatogramas da variedade melancia, antes e após a infestação, o cromatograma diferencial de compostos e os compostos identificados, respectivamente.

Figura 40. Cromatogramas apresentando os compostos presentes nos extratos de palma forrageira, variedade melancia sadia (preto) e infestada por *D. echinocacti* (rosa).

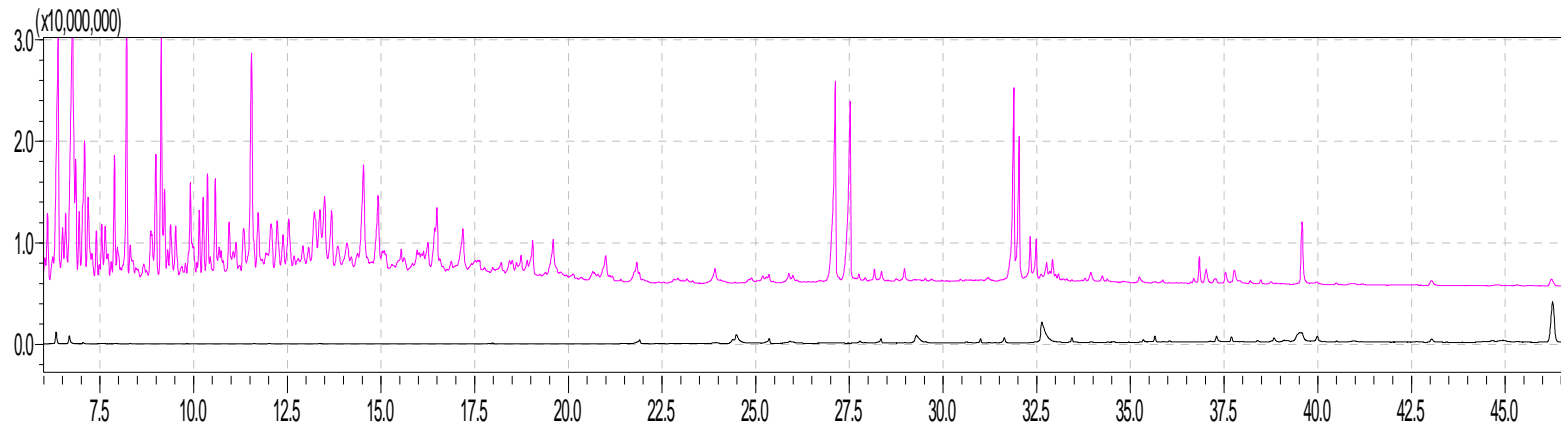


Figura 41. Cromatograma CG-EM diferencial (antes da infestação x depois da infestação) da variedade 02 (Melancia)

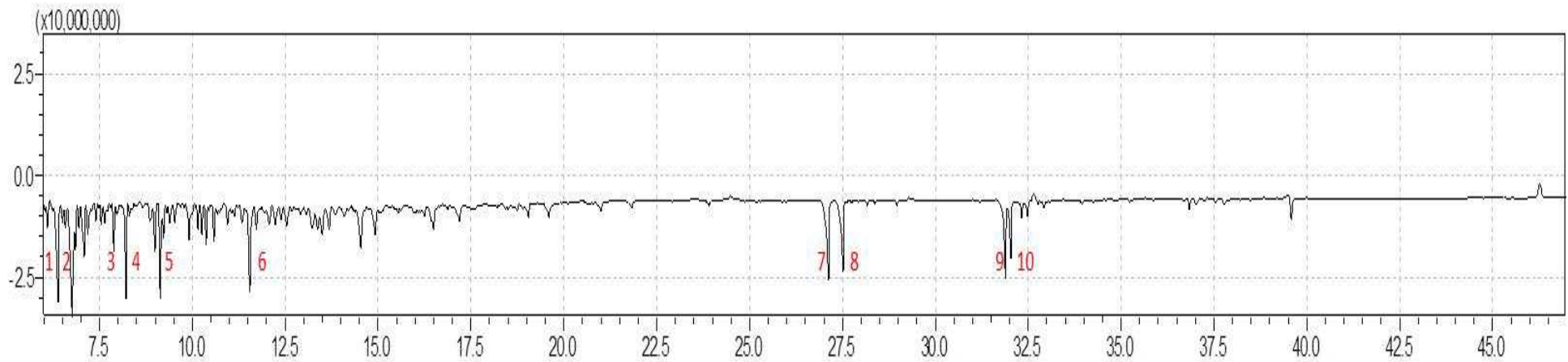


Tabela 9. Compostos Orgânicos Voláteis Presentes na Variedade 2 (Melancia) após a infestação com *D. echinocacti*.

Melancia Depois da Infestação		PM	KI	TR
1	2,4-dimetil-Pentanal	114	904	6.765
2	Ácido 4-Hexenoico	114	913	7.090
3	2,2-dimetil-1-Pentanol	116	942	8.215
4	Octanal	128	967	9.135
5	Citronelol	156	1032	11.545
6	Decanal	156	1118	14.535
7	2-butil-1-octanol	186	1557	27.120
8	6-metil-tridecano	199	1573	27.520
9	1-Hexacoseno	364	1761	31.885
10	1-Heptacosanol	396	1767	32.030

Os cromatogramas da variedade Orelha de elefante africana antes e após a infestação com *D. echinocacti* estão dispostos na figura 42, já o cromatograma dos compostos diferenciais estão na figura 43 e os compostos identificados, na tabela 10.

Figura 42. Cromatogramas obtidos em CG-EM da variedade orelha de elefante africana sadia (preto) e infestada por *D. echinocacti* (rosa).

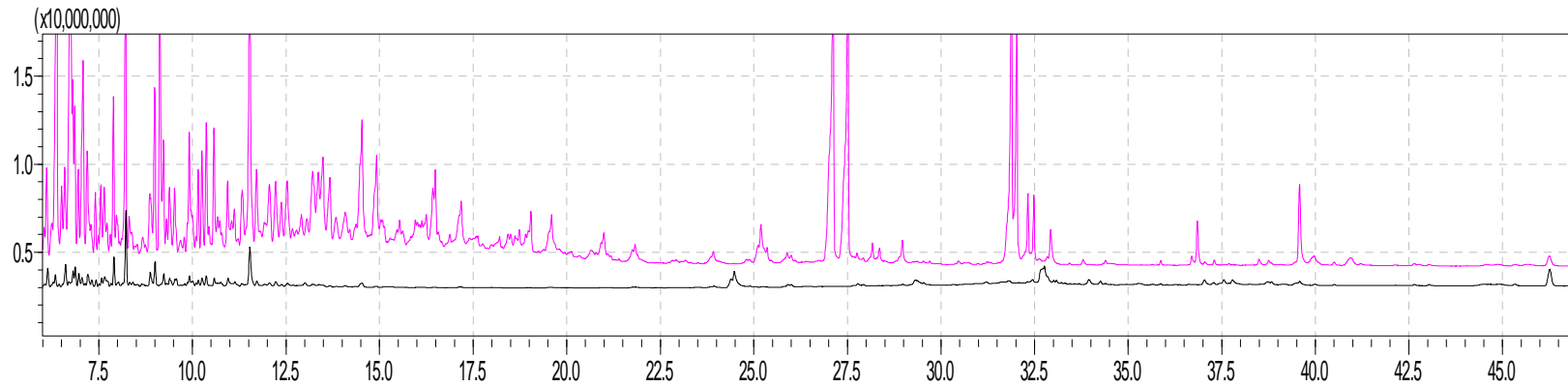


Figura 43. Cromatograma CG-EM diferencial (antes da infestação x depois da infestação) da variedade 03 (Orelha de Elefante Africana)

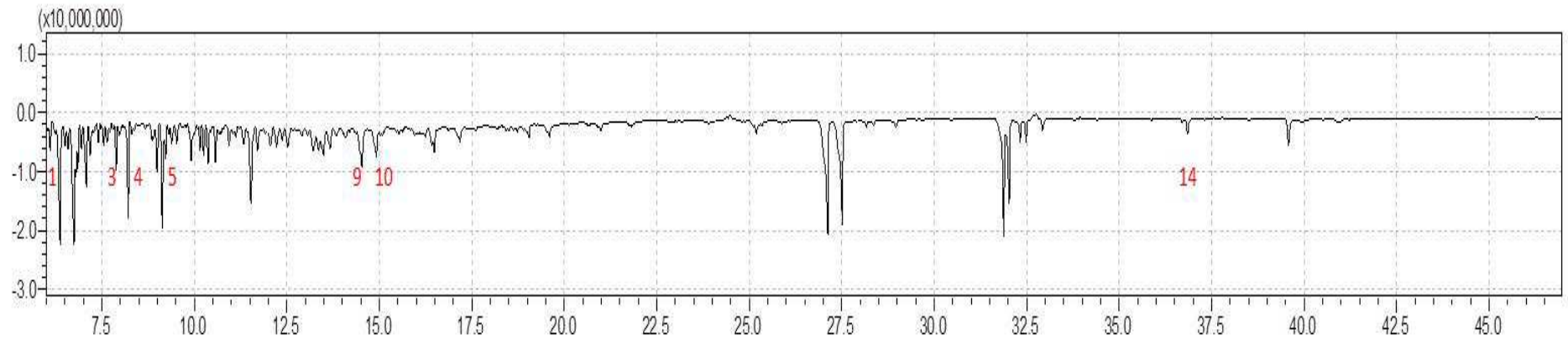


Tabela 10. Compostos Orgânicos Voláteis Presentes na Variedade 3 (Orelha de Elefante Africana) após a infestação com *D. echinocacti*

Orelha Africana Depois da Infestação		PM	KI	TR
1	Octanal	128	894	6.375
3	Citronelol	156	942	8.210
4	Decanal	156	967	9.135
5	1-decanol	158	1032	11.530
6	2,7-dimetil-1-Octanol	158	1118	14.530
7	5-metil-2-Undeceno	168	1130	14.920
8	6-metil-tridecano	198	1557	27.120
9	1-Hexacoseno	364	1573	27.515
14	1-Heptacosanol	396	1997	36.850

Os cromatogramas da variedade palma miúda, antes e após a infestação com *D. echinocacti*, o cromatograma diferencial e os compostos identificados estão dispostos nas figuras 44 e 45 e tabela 11, respectivamente.

Figura 44. Cromatogramas obtidos em CG-EM da variedade palma miúda sadia (preto) e infestada por *D. echinocacti* (rosa).

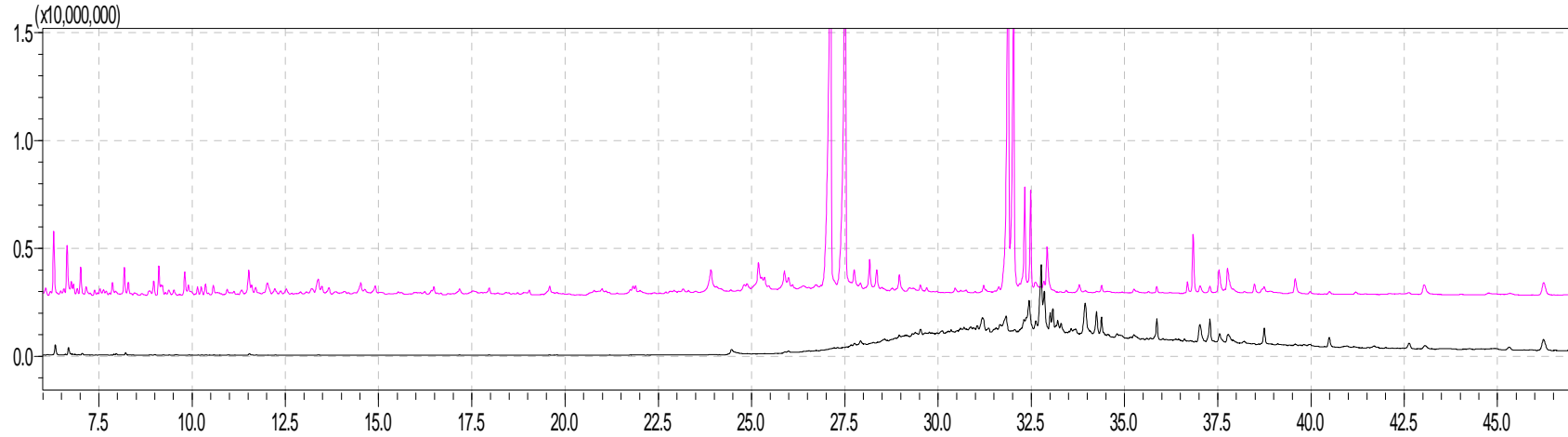


Figura 45. Cromatograma CG-EM diferencial (antes da infestação x depois da infestação) da variedade 04 (Palma miúda)

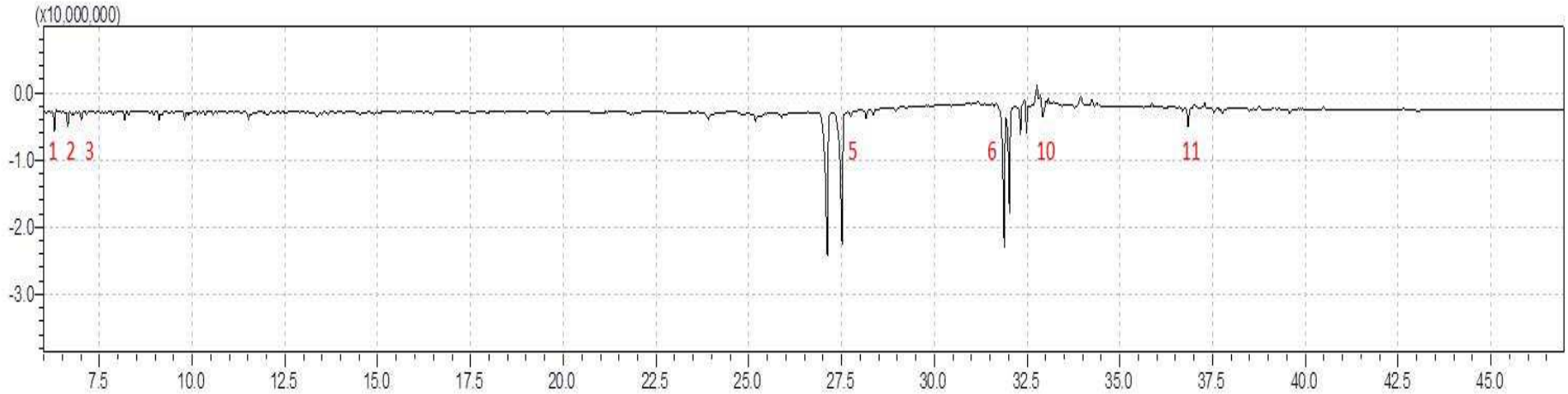


Tabela 11. Compostos Orgânicos Voláteis Presentes na Variedade 4 (Palma miúda) após a infestação com *D. echinocacti*.

Palma miúda Depois da Infestação		PM	KI	TR
1	2,2-dimetil-1,3-Propanodiol	102	892	6.290
2	2,2-dimetil-1-Pentanol	116	901	6.650
3	Octano	130	911	7.010
5	Ácido Propanoico	74	1572	27.495
6	Nonanal	142	1760	31.880
10	1-Decanol	158	1807	32.920
11	7,11-Hexadecadien-1-ol	238	1997	36.840

Nas figuras 46 e 47 estão os cromatogramas da variedade negro miçoacan antes e após a infestação e o cromatograma diferencial dos compostos, já a tabela 12 traz os compostos identificados.

Figura 46. Cromatogramas obtidos em CG-EM da variedade Negro michoacan sadia (preto) e infestada por *D. echinocacti* (rosa).

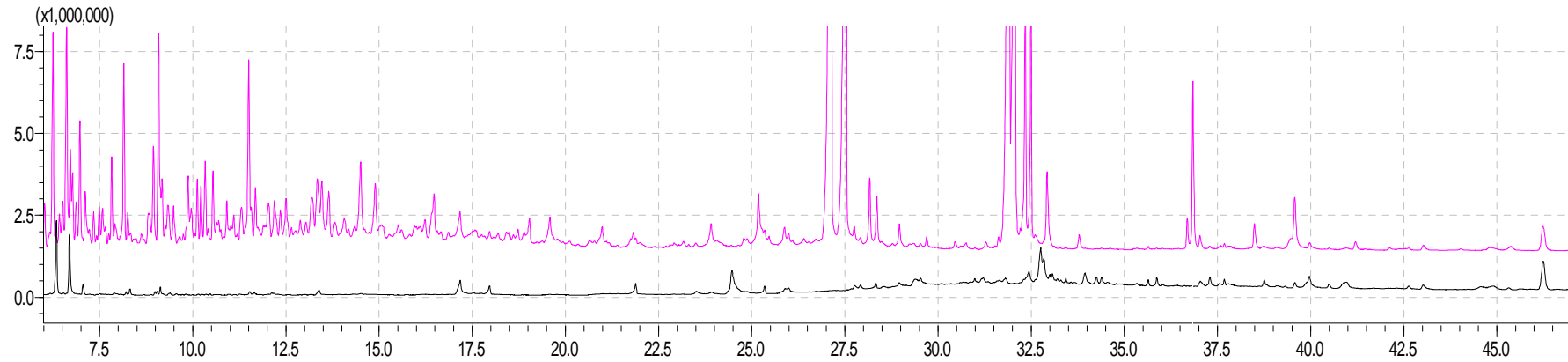


Figura 47. Cromatograma CG-EM diferencial (antes da infestação x depois da infestação) da variedade 05 (Negro Michoacan).

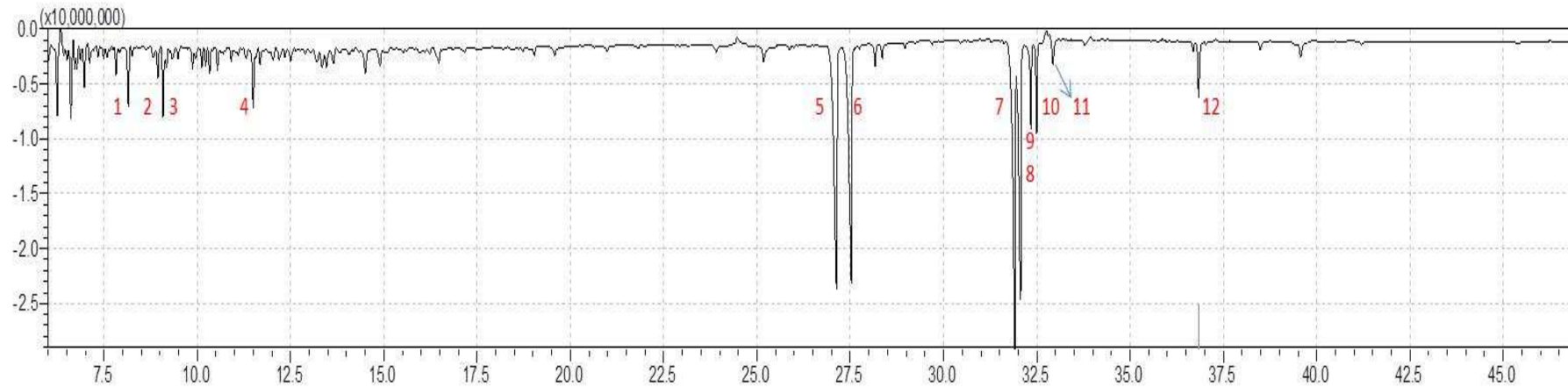


Tabela 12. Compostos Orgânicos Voláteis Presentes na Variedade 5 (Negro Michoacan) após a infestação com *D. echinocacti*.

Negro Michoacan Depois da Infestação		PM	KI	TR
1	Octanal	128	941	8.150
2	2,7-dimetil-1-octanol	158	962	8.945
3	1-decanol	158	965	9.080
4	Dodecano	170	1031	11.505
5	Ácido 4-hexenoico	114	1558	27.130
6	Ácido heptanoico	130	1574	27.530
7	2-Hexadecen-1-ol	240	1762	31.910
8	Hexadecanal	240	1768	32.060
9	1-octadeceno	252	1781	32.340
10	9-eicosino	278	1788	32.495
11	1-eicosanol	298	1808	32.925
12	1-Hexacoseno	364	1997	36.840

Os cromatogramas da variedade blanca michoacan estão dispostos nas figuras 48 e 49 e os compostos identificados encontram-se na tabela 13.

Figura 48. Cromatogramas obtidos em CG-EM da variedade blanca michoacan sadia (preto) e infestada por *D. echinocacti* (rosa).

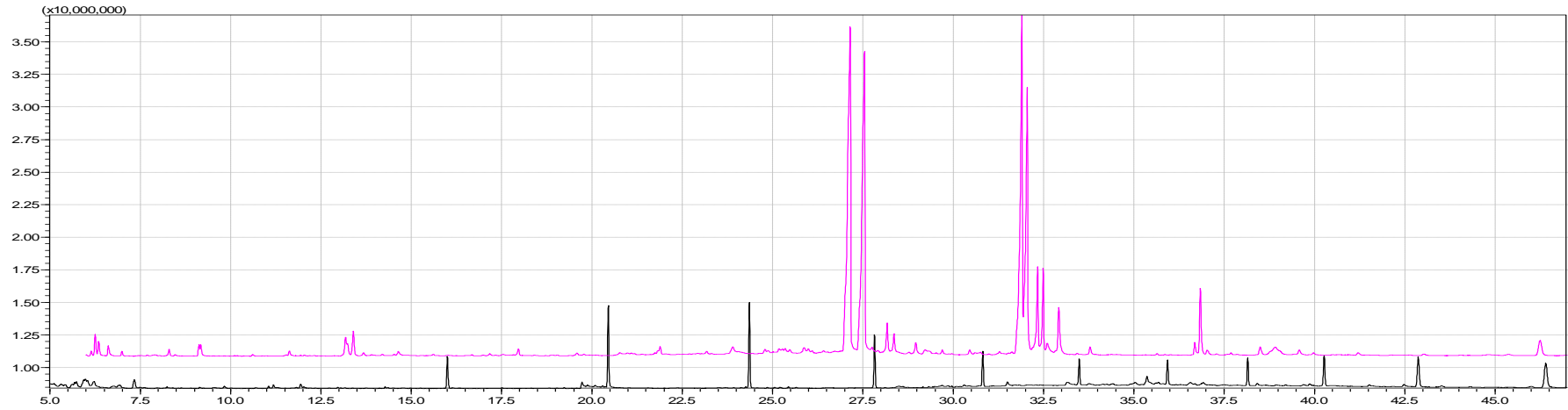


Figura 49. Cromatograma CG-EM diferencial (antes da infestação x depois da infestação) da variedade 06 (Blanca Michoacan).

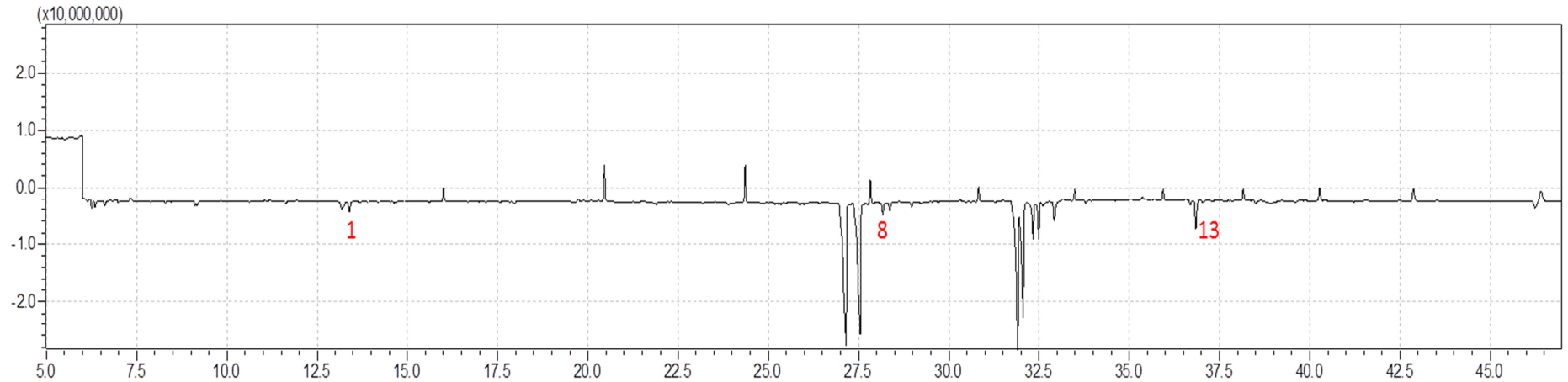


Tabela 13. Compostos Orgânicos Voláteis Presentes na Variedade 6 (Blanca Michoacan) após a infestação com *D. echinocacti*.

Blanca Michoacan Depois da Infestação		PM	KI	TR
1	Octadecanal	268	1097	13.85
8	1-eicosanol	298	1600	28.175
13	1-hexacoseno	364	1997	36.845

Os cromatogramas das figuras 50 e 51 correspondem à variedade Blanca san Pedro, e na tabela 14 constam os compostos identificados.

Figura 50. Cromatogramas obtidos em CG-EM da variedade blanca san piedro sadia (preto) e infestada por *D. echinocacti* (rosa).

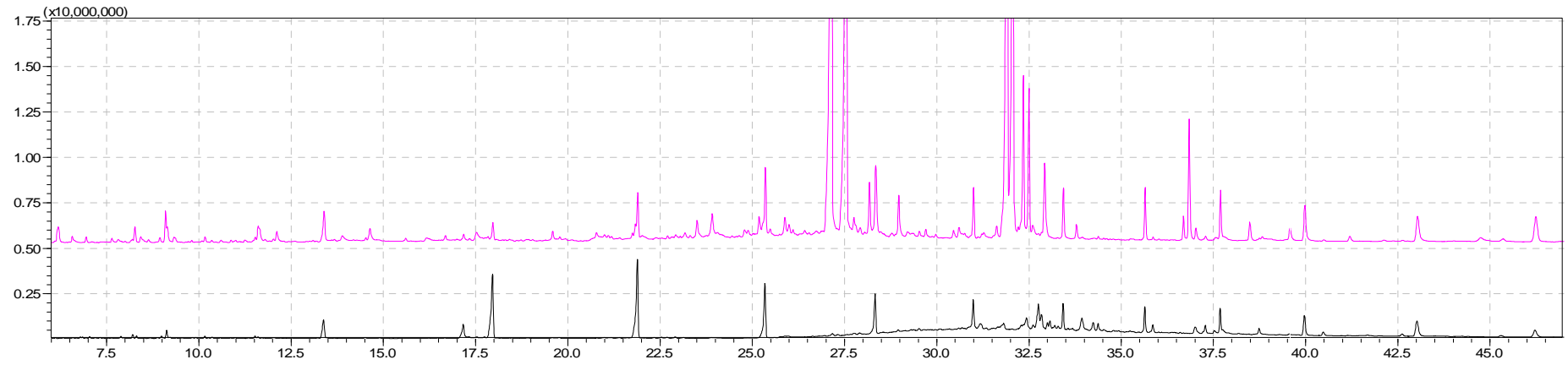


Figura 51. Cromatograma CG-EM diferencial (antes da infestação x depois da infestação) da variedade 07 (Blanca San Pedro).

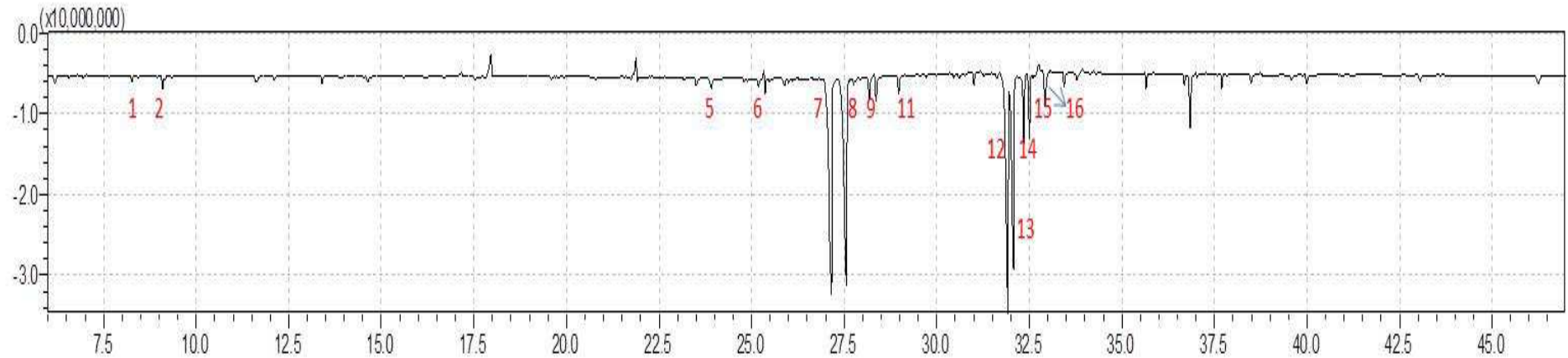


Tabela 14. Compostos Orgânicos Voláteis Presentes na Variedade 7 (*Blanca San Pedro*) após a infestação com *D. echinocacti*.

Blanca San Pedro Depois da Infestação		PM	KI	TR
1	D-Limoneno	136	944	8.265
2	Citronelol	156	966	9.095
5	Decanal	156	1433	23.915
6	2-butil-1-octanol	186	1487	25.355
7	7-Heptadeceno	238	1559	27.155
8	2-Hexadecen-1-ol	240	1575	27.555
9	1-hexadecanol	242	1600	28.180
11	9-octadeceno	252	1634	28.975
12	1-Octadeceno	252	1762	31.915
13	9-octadecenal	266	1769	32.070
14	9-Eicoseno	278	1781	32.350
15	1-Eicosanol	298	1788	32.505
16	Ácido 9-Octadecenoico	282	1807	32.920

Nas figuras 52 e 53 encontram-se os cromatogramas da variedade rio grande do norte, e os compostos identificados estão dispostos na tabela 15.

Figura 52. Cromatogramas obtidos em CG-EM da variedade rio grande do norte sadia (preto) e infestada por *D. echinocacti* (rosa).

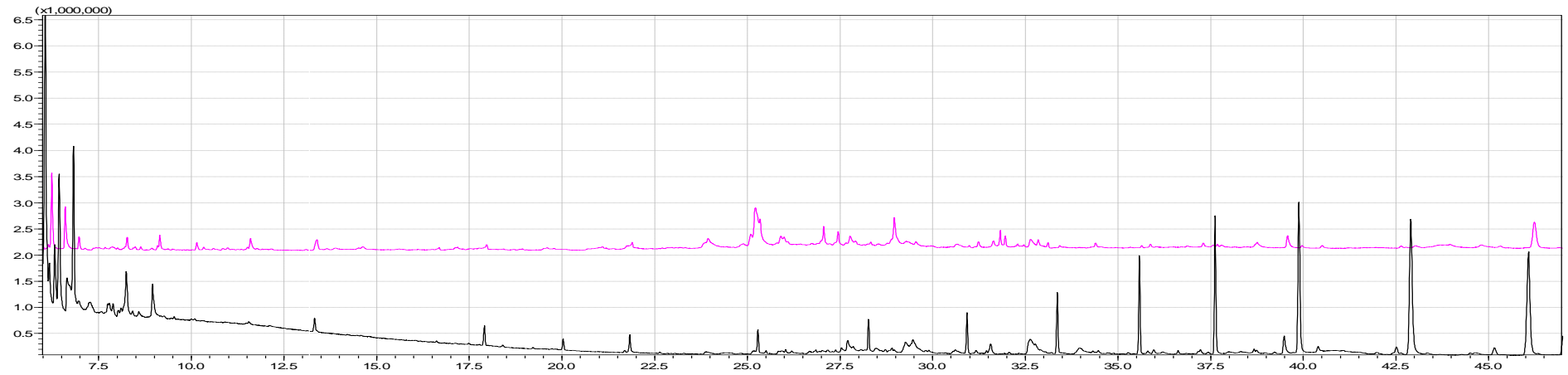


Figura 53. Cromatograma CG-EM diferencial (antes da infestação x depois da infestação) da variedade 08 (Rio Grande do Norte).

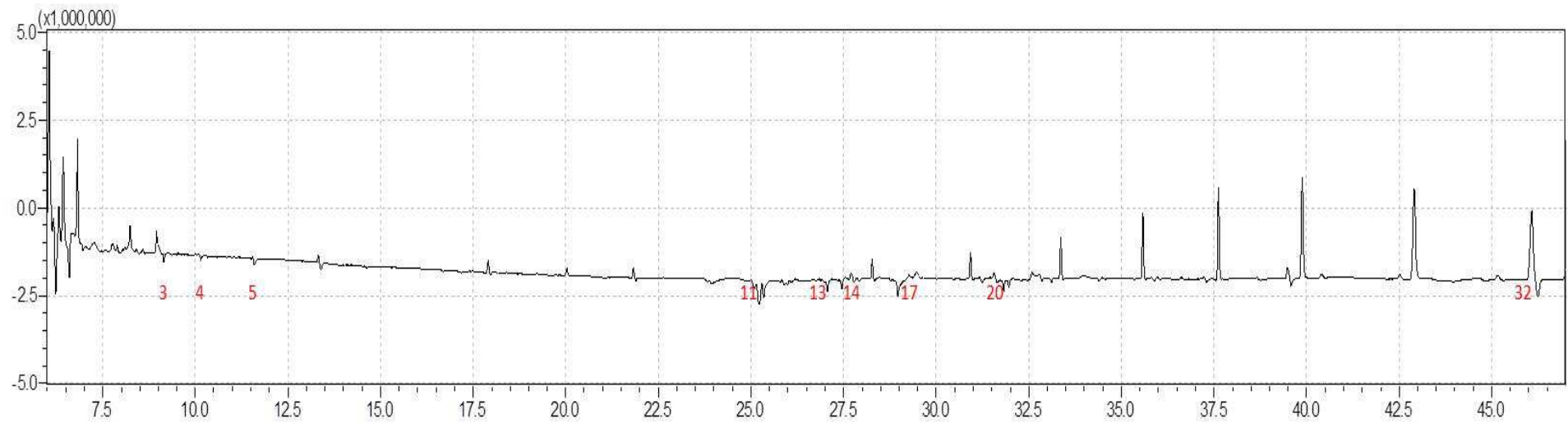


Tabela 15. Compostos Orgânicos Voláteis Presentes na Variedade 8 (*Rio Grande do Norte*) após a infestação com *D. echinocacti*.

Rio Grande de Norte Depois da Infestação	PM	KI	TR
3 Nonanal	142	967	9.150
4 Citronelol	156	993	10.150
5 3,7-dimetildecano	170	1033	11.595
11 Tetradecanal	212	1482	25.220
13 5,6-dipropil-decano	224	1555	27.060
14 2,6-dimetil-tetradecano	226	1571	27.455
17 2,6,10-trimetil-tetradecano	240	1633	28.965
20 Geranil linalol	290	1758	31.825
32 1-hexacosanol	382	2524	46.235

Os cromatogramas da variedade Alagoas antes e após a infestação estão dispostos na figura 54, já o cromatograma de diferencial encontra-se na figura 55 e os compostos identificados estão listados na tabela 16.

Figura 54. Cromatogramas obtidos em CG-EM da variedade alagoas sadia (preto) e infestada por *D. echinocacti* (rosa).

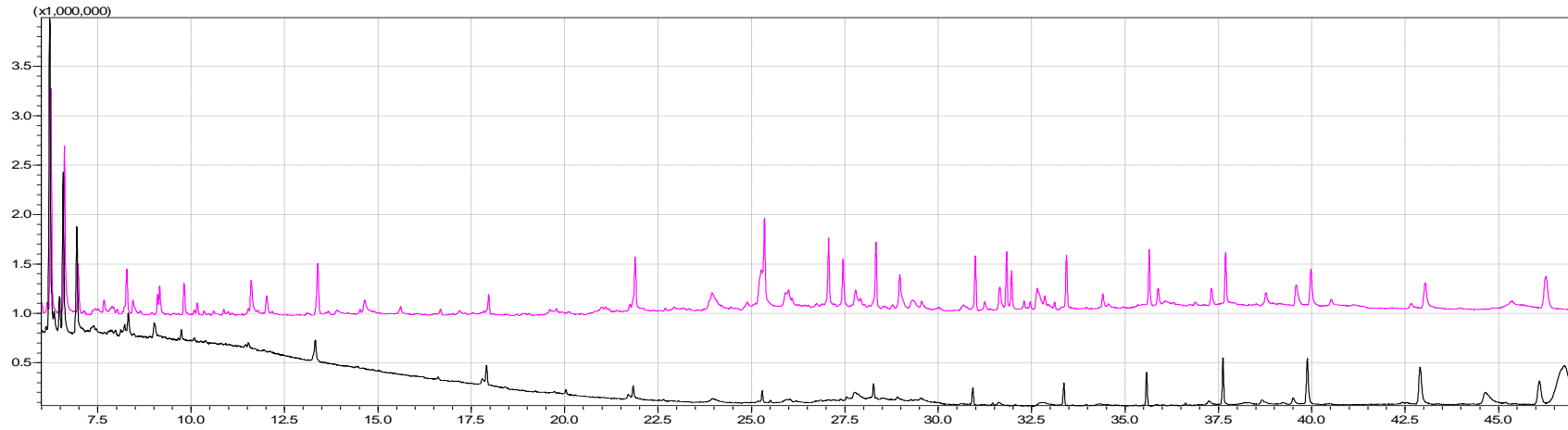


Figura 55. Cromatograma CG-EM diferencial (antes da infestação x depois da infestação) da variedade 09 (Alagoas).

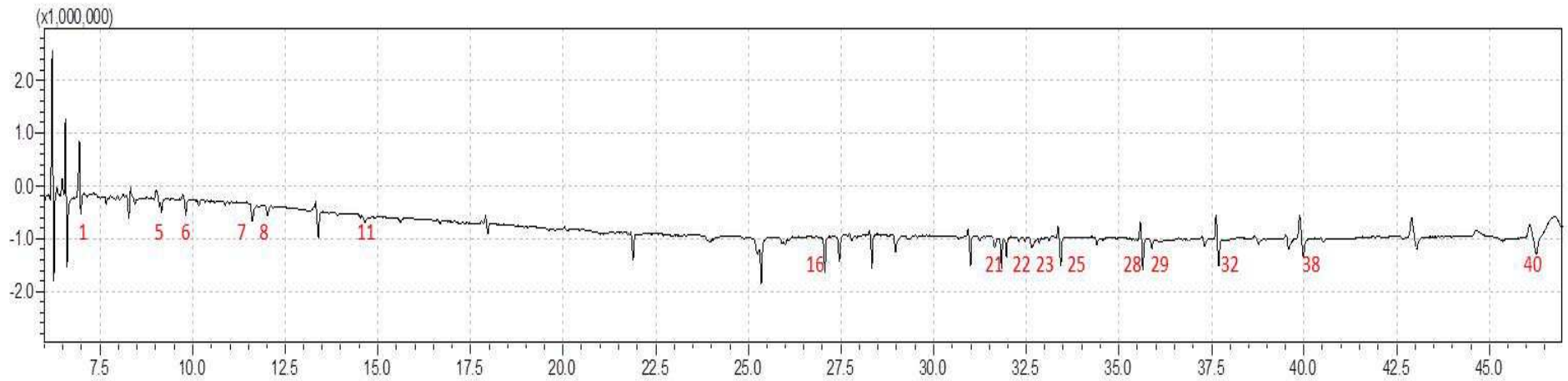


Tabela 16. Compostos Orgânicos Voláteis Presentes na Variedade 9 (Alagoas) após a infestação com *D. echinocacti*.

Alagoas Depois da Infestação		PM	KI	TR
1	2-etil-hexanol	130	909	6.940
5	3,7-dimetil-1,3,6-Octatrieno	136	944	8.275
6	Nonanal	142	984	9.810
7	Geraniol	154	1034	11.615
8	Decanal	156	1046	12.025
11	4-metil-decanol	172	1121	14.655
16	Farnesol	222	1555	27.060
21	2,6,10-trimetil-Tetradecano	240	1758	31.835
22	Hexadecanal	240	1764	31.970
23	2-Hexadecanol	242	1795	32.660
25	3-Heptadecanol	256	1832	33.440
28	Nonadecano	266	1938	35.650
29	Octadecanal	268	1950	35.890
32	1-octadecanol	270	2040	37.695
38	Esqualeno	410	2332	43.035
40	Tetratriacontano	478	2526	46.270

Os cromatogramas das figuras 56 e 57 correspondem à variedade tamazunchale, já os compostos identificados desta variedade estão na tabela 17.

Figura 56. Cromatogramas obtidos em CG-EM da variedade tamazunchale sadia (preto) e infestada por *D. echinocacti* (rosa).



Figura 57. Cromatograma CG-EM diferencial (antes da infestação x depois da infestação) da variedade 10 (Tamazunchale).

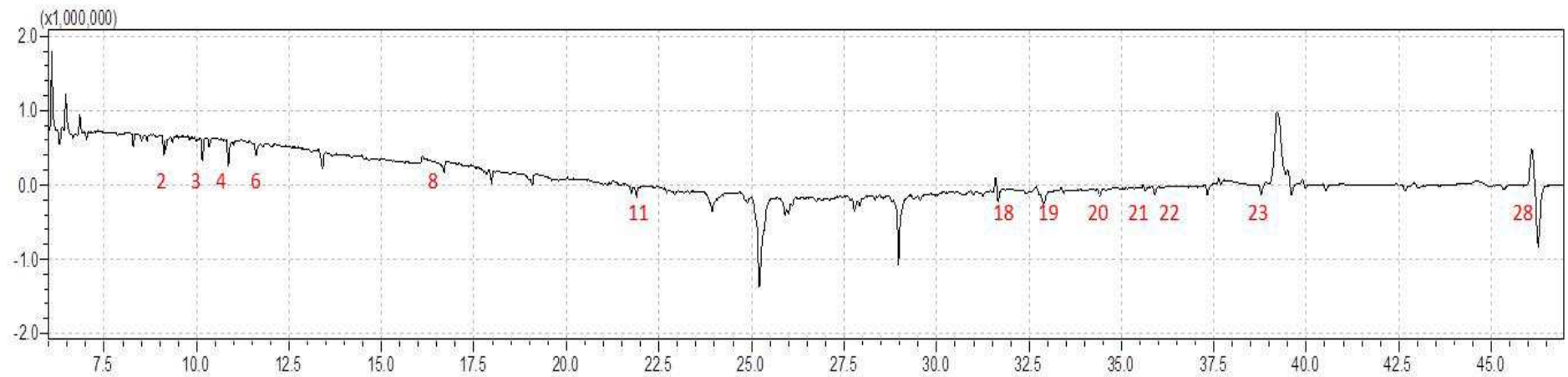


Tabela 17. Compostos Orgânicos Voláteis Presentes na Variedade 10 (Tamazunchale) após a infestação com *D. echinocacti*.

Tamazunchale Após a Infestação		PM	KI	TR
2	D-limoneno	136	966	9.110
3	3,4-dimetil-1-Deceno	168	993	10.160
4	2,3,5,8-tetrametil-decano	198	998	10.340
6	2,7,10-trimetil-dodecano	212	1034	11.610
8	Tetradecanal	212	1183	16.690
11	2,6,11-trimetil-dodecano	212	1359	21.895
13	Eicosano	282	1482	25.215
14	2,6,10,15-tetrametil-heptadecano	296	1508	25.900
16	1-Eicosanol	298	1634	28.975
18	9-Tricoseno	322	1751	31.660
19	Tricosano	324	1806	32.900
20	Pentacosano	352	1878	34.415
21	Heptacosano	380	1950	35.895
22	Esqualeno	410	2021	37.325
23	Tetratriacontano	478	2095	38.775
28	Tritetracontano	605	2526	46.265

Quando o herbívoro inicia seu ataque, as plantas são capazes de produzir e liberar compostos orgânicos voláteis capazes de atrair inimigos naturais (ZHANG et al. 2009). Os voláteis de plantas são derivados de complexos processos bioquímicos e alguns destes compostos parecem ser comuns a diferentes espécies de plantas. No entanto, existem também compostos que são específicos da espécie, e são induzidos por sinais específicos de herbívoros (HALITSCHKE et al. 2001). Compostos Orgânicos Voláteis de plantas incluem álcoois de seis carbonos, monoterpenos, sesquiterpenos e compostos derivados de rota do ácido chiquímico (TURLINGS et al. 1998, FERRY et al. 2004).

A diferença no perfil de compostos orgânicos voláteis liberados pelas diferentes variedades de palma forrageira estudadas, tanto antes, como após a infestação, demonstra que essa diferença de produção e emissão de voláteis pode estar relacionada à atração ou repelência de insetos-praga. Todas as variedades estudadas apresentaram novos voláteis após a infestação. Muitos desses COVs, como, octanal, geranyl linalol, linalol, nonanal, decanal e esqualeno, presentes em algumas variedades de palmas após a infestação, são voláteis induzidos após o ataque de herbívoros na agricultura, responsáveis pela atração de predadores generalistas de diferentes ordens

taxonômicas em diferentes culturas, como observado por PINTO-ZEVALLOS et. al. (2013) em culturas de algodão e maçã..

Os COVs liberados por plantas a partir do ataque de herbívoros são provenientes de diversas vias biossintéticas e apresentam uma diversa variabilidade que depende, segundo alguns trabalhos, de diversos fatores, como, espécie da planta, cultivar (ou variedade) plantada, herbívoro, fase do ciclo de vida do herbívoro, genótipo, tempo e partes da planta (TAHMASEBI, et. al. 2014; KAPPERS et. al. 2011; MORAES, et al. 1998; YONEYA et. al. 2009; ARIMURA, et. al. 2008). Isso pode explicar as diferenças na composição qualitativa de COVs das plantas infestadas, bem como a diferença obtida nos ensaios comportamentais.

Como alguns voláteis tem sua produção e liberação mediadas, também, por fatores relacionados ao cultivo da planta, como solo, umidade e fotoperíodo, os inimigos naturais têm informações também a respeito do estado fisiológico da planta, além das informações sobre a presa (GOUINGUENÉ e TURLINGS, 2002).

Pôde-se verificar, que além de aldeídos e álcoois, foram emitidos alguns hidrocarbonetos, lineares e ramificados pelas variedades de palma, como: 1-hexacoseno, 5-metil-2-undeceno, octano, 9-eicoseno, 3,7-dimetil-decano, nonadecano e 9-tricoseno. A presença de alguns hidrocarbonetos lineares e ramificados, em voláteis de plantas estão relacionados à atração para oviposição de alguns insetos, inclusive de duas espécies de joaninhas, a *Adalia bipunctata* e *Coccinella septempunctata* (HEMPTINNE e DIXON, 2000). Alguns desses hidrocarbonetos estão presentes, inclusive, na superfície dos próprios insetos, o que pode ser importante para o reconhecimento de companheiros para acasalamento (HEMPTINNE e DIXON, 2000).

O presente estudo evidencia, portanto, que os inimigos naturais *Z. bimaculosus* e *C. nigrita* são capazes de diferenciar os voláteis de plantas quando estão sob infestação de *D. echinocacti* e quando estão sadias. São também capazes de diferenciar as variedades estudadas, já que as mesmas apresentaram diferentes perfis de emissão de voláteis, isso pôde ser evidenciado pelos resultados dos bioensaios comportamentais já explicitados.

5.4 RELAÇÃO ENTRE DUAS VARIEDADES DE PALMA FORRAGEIRA – PALMA MIÚDA X RIO GRANDE DO NORTE

Todas as dez variedades de palma forrageira estudadas tiveram seus COVs extraídos pelo método de aeração, antes e após a infestação com *Diaspis echinocacti* e analisadas no CG-EM. Com os resultados obtidos já foi possível perceber que houve uma diferença na emissão de compostos orgânicos voláteis, quando comparados os compostos voláteis emitidos antes e após a infestação. Entretanto, também foi possível verificar uma diferença na emissão de compostos orgânicos voláteis entre as variedades de palma, mesmo quando estão sob as mesmas condições, como por exemplo, sem infestação por *D. echinocacti*.

Dessa forma, foram comparados os cromatogramas de duas variedades de palma forrageira sadias (figuras 58 e 59), a palma miúda e a rio grande do norte, uma vez que são variedades de duas espécies diferentes, *Nopalea cochinilifera* e *Opuntia ficus-indica*, respectivamente, e os compostos identificados, exclusivamente, em cada variedade estão na tabela 18.

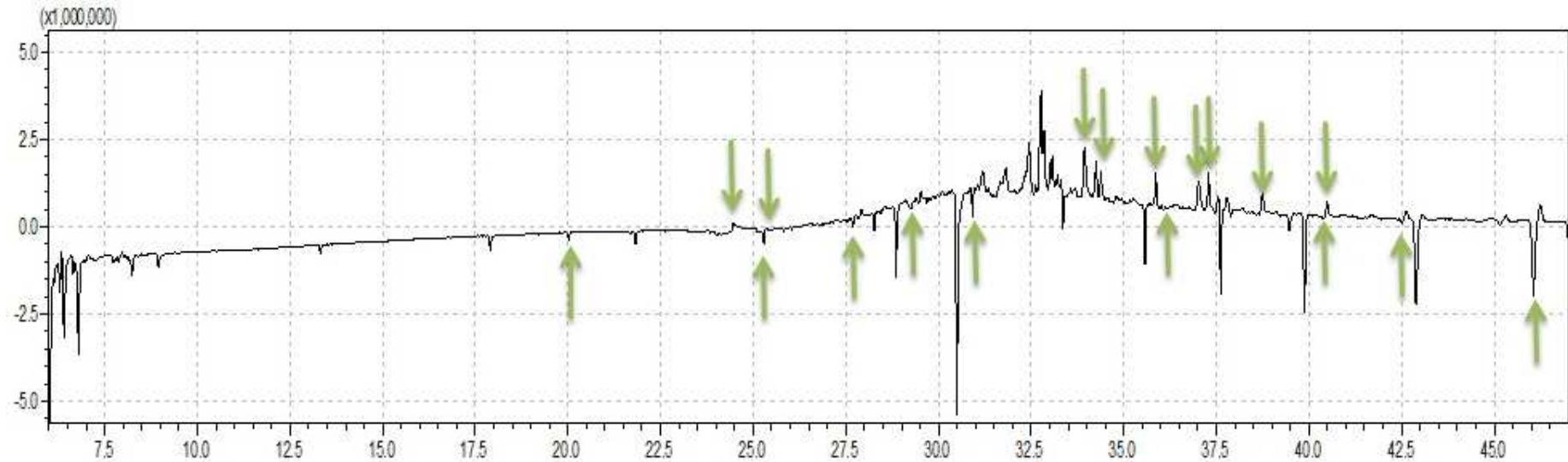
Tabela 18. Compostos orgânicos voláteis presentes nas variedades palma miúda e rio grande do norte, quando comparados entre si, identificados por CG-EM.

Palma miúda				Rio grande do norte			
Composto	PM	KI	TR	Composto	PM	KI	TR
Ácido dodecanoico	200	1455	24.460	Farnesol	222	1256	20.025
2-hexil-1-octanol	242	1525	25.895	2,6,10-trimetil-tetradecano	240	1521	25.815
Nonadecano	268	1972	33.945	9-octadecen-1-ol	268	1616	27.680
Ácido eicosa-5,11,12,14-tetraenoico	296	1999	34.380	3-eicoseno	280	1699	29.255
Docosano	310	2094	35.865	Ácido octadecanoico	284	1829	31.550
Nonacosano	408	2170	37.020	2,6,10,15-tetrametil-heptadecano	296	2106	36.055
Ácido nonacosano-10,12,14-trienoico	426	2188	37.290	Heptacosano	380	2401	40.385
Tetratriacontano	479	2289	38.745	11-metil-esqualeno	424	2518	42.500
Pentatriacontano	492	2407	40.490	Hexatriacontano	507	2667	46.065

Figura 58. Cromatogramas sobrepostos das variedades palma miúda (preto) e rio grande do norte (rosa) sadias.



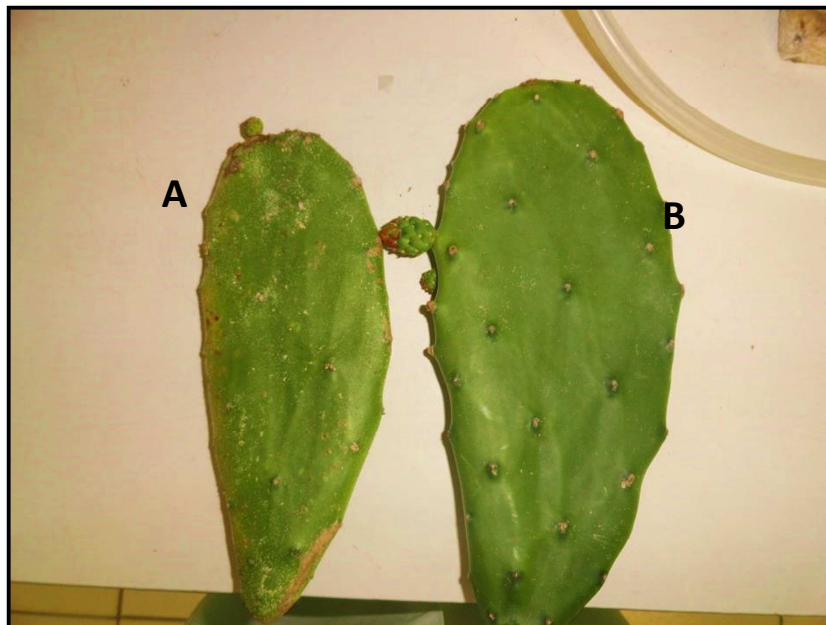
Figura 59. Cromatograma diferencial das variedades palma miúda (picos para cima) e rio grande do norte (picos para baixo).



Com a análise em CG-EM pôde-se avaliar que houve compostos emitidos exclusivamente por cada espécie, apesar de ambas estarem nas mesmas condições antes do processo da coleta dos COVs.

Aos voláteis de plantas, diversas funções têm sido atribuídas, entre elas a polinização, proteção antimicrobiana e proteção anti-herbívoros (DUDAREVA et. al. 2004). A maior parte dos voláteis de plantas é restrita a linhagens específicas, estando envolvida em interações ecológicas espécie-espécie, (PICHERSKY et. al. 2006). Entretanto, diferentes cultivares, ou variedades, de um mesmo gênero podem apresentar uma diferente emissão de voláteis, o que gera uma resposta diferenciada no que diz respeito à atratividade de alguns insetos-praga, podendo ser uma explicação para susceptibilidade e resistência de cultivares a diversas pragas agrícolas, o mesmo ocorre com espécies diferentes (RAGHAVA et. al. 2010). Isso pôde ser observado ao submeter as duas variedades, palma miúda e rio grande do norte, sob as mesmas condições de infestação com *D. echinocacti*, e um padrão diferente nessa infestação foi observado, como mostra a figura 60.

Figura 60. Padrão de infestação com *D. echinocacti* das variedades palma miúda (A) e rio grande do norte (B). Foto: Mariana Oliveira.



Quando todas as variedades estudadas foram submetidas à infestação, sob condições similares, através da preparação de um sanduíche, foi observado um padrão diferente nessa infestação, tendo sido algumas variedades mais infestadas do que outras, através de uma avaliação visual. Essas variedades, quando sadias, tiveram seus COVs extraídos foram submetidas a bioensaios comportamentais para avaliar a atração de inimigos naturais, apresentando atratividades diferentes, podendo estar relacionada aos voláteis emitidos por cada planta, e quando comparadas duas espécies diferentes, verificamos que tanto na emissão de COVs, quanto nos bioensaios comportamentais, obtivemos diferenças que podem ser relativas à resistência e suscetibilidade dessas duas espécies de palma.

Foram estudadas espécies que a literatura cita como susceptíveis à cochonilha em escama (espécies do gênero *Nopalea*) e espécies consideradas como resistentes a essa cochonilha (espécies do gênero *Opuntia*) (SANTOS et. al. 2006; LIMA e GAMA, 2001).

A diferença na emissão de voláteis entre as variedades (e espécies) pode estar associada tanto com a infestação, como com a atração de inimigos naturais, mesmo antes de uma infestação, já que a concentração desses compostos pode aumentar, depois de uma infestação (FROST, et al. 2008).

7 CONCLUSÕES

Tendo em vista os aspectos observados, conclui-se que os predadores *Z. bimaculosus* emitem COVs que apresentam respostas eletrofisiológicas e comportamentais, podendo esses compostos serem possíveis feromônios de agregação desta espécie. A espécie *C. nigrita* também emite COVs que parecem estar associados a feromônios de agregação, emitidos por machos e verificado em bioensaios comportamentais.

Além disso, pôde-se verificar que as variedades de palma forrageira estudadas emitem diferentes COVs quando comparados os extratos antes e após a infestação por *D. echinocacti*, sugerindo que a infestação induz rotas metabólicas de COVs que podem estar associados a defesa indireta de plantas e atração de inimigos naturais.

Os predadores se mostraram atraídos, através de bioensaios comportamentais, aos extratos das plantas após o processo de infestação por *D. echinocacti*, confirmando essa atração por novos COVs produzidos pelas plantas após a herbivoria.

A comparação de duas espécies de palma, a *N. cochonilifera* e a *O. fícus-indica* mostrou que há diferenças na emissão de COVs, e que esta diferença pode estar associada a resistência da espécie *O. fícus-indica*, assim como, a susceptibilidade de a *N. cochonilifera* à espécie de cochonilha *D. echinocacti*.

REFERÊNCIAS

- AGRAWAL, A. A. Macroevolution of plant defense strategies. **Trends in ecology and evolution**, v. 22, p. 103-109, 2007.
- AGUIAR-MENEZES, E. L.; MENEZES, E. B. Bases ecológicas das interações entre insetos e plantas no manejo ecológico de pragas agrícolas. Apud: AQUINO, A. M.; ASSIS, R. L. Agroecologia: princípios e técnicas para uma agricultura orgânica sustentável. Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica**, p. 324-339, 2005.
- AMBROGI, B. G. **Feromônio de agregação de *Sternechus subsignatus* Boheman, 1836 (Coleoptera: Curculionidae): evidência, identificação estrutural e avaliação da atividade comportamental**. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.
- AMBROGI, B. G., VIDAL, D. M., ZARBIN, P. H. G. Feromônios de agregação em curculionidae (insecta: coleoptera) e sua implicação taxonômica. **Quim. Nova**, v. 32:8, p. 2151-2158, 2009.
- AMORIM, P. L. **Caracterização morfológica e produtiva em variedades de palma forrageira**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)- Universidade Federal de Alagoas. Centro de Ciências Agrárias, Rio Largo. 2011.
- ANDRADE, J. C. **As palmas forrageiras em Alagoas**. Maceió: Ed. Grupo Tércio Wanderley, 1990.
- APEL, M.A., SOBRAL, M., SCHAPOVAL, E.E.S., AND HENRIQUES, A.T., MENUT, C., BESSIERE, J.M. Essential oil composition of *Eugenia florida* and *Eugenia mansoi*. **J. Essent. Oil Res.** 16:321-322. 2004.
- ARAÚJO FILHO, J. A.; CARVALHO, F. C. Fenologia e valor nutritivo de espécies lenhosas caducifólias da caatinga. Sobral: **Embrapa Caprinos (Embrapa Caprinos. Comunicado Técnico, 39)**, 1998. 5p.
- ARAÚJO-FILHO, J. A. Manipulação da vegetação lenhosa da caatinga para fins pastoris. Sobral: **EMBRAPA-CNPC**, 1985.
- ARIMURA, G. I., KÖPKE, S., KUNERT, M., VOLPE, V., DAVID, A., BRAND, P., DABROWSKA, P., MAFFEI, M. E., BOLAND, W. Effects of feeding *Spodoptera littoralis* on Lima Bean leaves IV: diurnal and nocturnal damage differentially initiate plant volatile emission. **Plant. Physiol.** v. 146 (3), p. 965-973, 2008.
- ARRUDA FILHO, G. P.; ARRUDA, G. P. Manejo integrado da cochonilha *Diaspis echinocacti* praga da palma forrageira em Brasil. **Manejo Integr. Plagas Agroecol.**, Costa Rica, n. 64, p. I - V I , 2002.

BALDWIN, I. T., KESSLER, A. HALITSCHKE, R. Volatile signaling in plant-plant-herbivore interactions: what is real? **Plant Biology**, v. 5, 2002.

BARTELT, R.J. Pheromones of non-lepidopteran insects associated with agricultural plants. **CABI Publishing, Wallingford, UK. Weevils**. p. 91-112, 1999.

BEAUHAIRE, J., DUCROT, P-H., MALOSSE, C., ROCHAT, D., NDIEGE, I.O., OTIENO, D.O. Identification and synthesis of sordidin, a male pheromone emitted by *Cosmopolites sordidus*. **Tetrahedron Lett**. v. 36, p. 1043-1046. 1995.

BLIGHT, M.M., PICKETT, J.A., SMITH, M.C. & WADHAMS, L.J. An aggregation pheromone of *Sitona lineatus*: identification and initial field studies. **Naturwissenschaften** v. 71, p. 480. 1984.

BLIGHT, M.M., WADHAMS, L.J. Male-produced aggregation pheromone in pea and bean weevil, *Sitona lineatus* (L.). **J. Chem. Ecol.** v. 13, p. 733-739. 1987.

BLOMQUIST, G. J., SOLIDAY, C. L., BYERS, B. A., BRAKKE, J. W., JACKSON, L. L. Cuticular lipids of insects: V. Cuticular wax esters of secondary alcohols from the grass hoppers *Melanoplus packardii* and *Melanoplus sanguinipes*. **Lipids**. v.7:5, 356-362, 1972.

BOARETTO, M. A. C.; BRANDÃO, A. L. S. **Manejo integrado de pragas**. Vitória da Conquista, BA. Maio/2000. Disponível em: <http://www.uesb.br/entomologia/manejo.html> Acesso em 02/04/13 às 16:35h

BRASIL, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. **Produção da Pecuária – 2011**. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2011/default_pdf.shtm Acesso em: 16/06/2014 às 21:28h

BRITO, C. H.; LOPES, E. B.; ALBUQUERQUE, I. C.; BATISTA, J. L. Avaliação de produtos alternativos e pesticidas no controle da cochonilha-do carmim na Paraíba. **Revista de Biol. Cien. da Terra**, v. 8, n. 2, Universidade Estadual da Paraíba Brasil, p. 1-5, 2008.

CASTRO, R. M. **Biologia e exigências térmicas de *Zagreus bimaculosus* (MULSANT) (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE)**. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) - Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife, 2011.

CAVALCANTI, M. G.; VIELA, E. F.; EIRAS, A. E.; ZANUNCIO, J. C.; PICANÇO, M. C. Interação Tritrófica entre *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae), *Eucalyptus* e Lagartas de *Thyrintina arnobia* (Stoll) (Lepidoptera: Geometridae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29:4, p. 697-703, 2000.

CAVALCANTI, V. A. L. B.; SENA, R. C.; COUTINHO, J. L. B.; ARRUDA, G. P.; RODRIGUES, F. B. **Controle das cochonilhas da palma forrageira**. Recife: Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA (IPA Responde, 39), 2001.

CHIACCHIO, F P B. Incidência da cochonilha do carmim em palma forrageira. **Bahia Agríc.**, v.8, n. 2, 2008.

CHIBNALL, A. C., PIPER, S. H., POLLARD, A., WILLIAMS, E. F., SAHAI, P. N. The constitution of the primary alcohols, fatty acids and paraffins present in plant and insect waxes. **Biochem J.** v.28:6, 2189–2208, 1934.

CHUNG, T.Y., EISERICH, J.P., SHIBAMOTO, T. Volatile compounds isolated from edible Korean chamchwi (*Aster scaber* Thunb). **J. Agric. Food Chem.** 41:1693-1697. 1993.

CORRÊA, G. H. **Estudo de seis gêneros Neotropicais de Chilocorini e revisão de Harpasus Mulsant, 1850 (Coleoptera, Coccinellidae, Chilocorinae)**. Dissertação de mestrado. Pós-Graduação em Ciências Biológicas. Curitiba: UFPR, 2008.

COSTA LIMA, A. **Insetos do Brasil**. Rio de Janeiro : Escola Nacional de Agronomia (Série didática n.5), p. 141, 1943.

COSTA, B. N. C.; MENDONÇA, C. A. G; CALAZANA, J. A. M. **FORAGEIRAS arbóreas e suculentas para formação de pastagens**. Cruz das Almas: IPEAL (IPEAL, Circular, 34), p. 24, 1973.

COSTA, M. R. G. F. **Palma forrageira na alimentação animal**. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Agronomia) – Universidade Federal do Ceará, 2007.

CRUZ, C.D. GENES . A software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Sci., Agron. (Online)**, v. 35, p. 271-276, 2013. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1807-86212013000300001&script=sci_arttext Acesso em: 11/2013.

DAPPORTO, L., BARACCHIB, D., BENASSAID, D., CAPRETTIA,P., ROVERSID, P. F., TURILLAZZI, S. Major changes in the sex differences in cuticular chemical profiles of the western conifer seed bug (*Leptoglossus occidentalis*) after laboratory rearing. **J of Insect Physiol.** v. 59:7, 738–744, 2013.

DE MARQUES, F.A., MCELFFRESH, J.S., MILLAR, J.G. Kováts retention indexes of monounsaturated C12, C14, and C16 alcohols, acetates and aldehydes commonly found in lepidopteran pheromone blends. **J. Braz. Chem. Soc.** 11:592-599. 2000.

DICKE, M., LOON, J. J. A. Multitrophic effects of herbivore induced plant volatiles in an evolutionary context. **Entomol. Exp. Appl.** v.97, 237, 2000.

DUDAREVA,N., PICHERSKY, E., GERSHENZON, J. Biochemistry of Plant Volatiles. **Plant Physiology**, v. 135, 1893–1902, 2004.

DUTTON, A., MATTIACCI, L., AMADÒ, R., DORN, S. A Novel Function of the Triterpene Squalene in a Tritrophic System. **J of Chem Ecol.** v. 28:1, 103-116, 2002.

ENGEL, E., BATY, C., LECORRE, D., SOUCHON, I., MARTIN, N. Flavor-active compounds potentially implicated in cooked cauliflower acceptance. **J. Agric. Food Chem.** 50:6459-6467. 2002.

ERICHSEN, C.; SAMWAYS, M.J.; HATTINGH, V. Avoidance by the ladybird *Chilocorus nigrita* (F.)(Coleoptera: Coccinellidae) of a doomed scale host resource. **J. Appl. Entomol.** v. 112, p. 493 – 498, 1991.

FARINE, J. P., LEGAL, L., MORETEAU, B., QUERE, J. L. L. Volatile compounds of ripe fruits of *Morinda citrifolia* and their effects on *Drosophila*. **Phytochemistry** 41:433-438. 1996.

FERREIRA, J.T.; CORRÊIA, A.G. **Produtos naturais no controle de insetos**. Editora da UFSCAR. 176p, 2001.

FERRY, N.; EDWARDS, M. G.; GATEHOUSE, J. A.; GATEHOUSE, A.M.R. Plant-insect interactions: Molecular approaches to insect resistance. **Curr. Opin. Biotechnol.** v. 15, p. 155-161, 2004.

FROST, C. J., MESCHER, M. C., CARLSON, J. E., MORAES, C. M. Plant Defense Priming against Herbivores: Getting Ready for a Different Battle. **Plant Physiol.** v. 146, 818–824, 2008.

GOINGUENÉ, S.P., TURLINGS, T.C.J. The effects of abiotic factors on induced volatile emissions in corn plants. **Plant Physiol.** v.129, p. 1296-1307, 2002.

GUERREIRO, J. C.A importância das joaninhas no controle biológico de pragas no Brasil e no mundo. **Revista Cient. Eletr. de agronomia**, ano III n. 5, junho, 2004.

HALITSCHKE, R.; SCHITTKO, U.; POHNERT, G.; BOLAND W.; BALDWIN, I.T. Molecular interactions between the specialist herbivore *Manduca sexta* (Lepidoptera: Sphingidae) and its natural host *Nicotiana attenuata*. III. Fatty acid-amino acid conjugates in herbivore oral secretions are necessary and sufficient for herbivore-specific plant responses. **Plant Physiol.** v. 125, p. 711-717, 2001.

HARRIS M. O.; FOSTER, S. P. **Behavior and Integration** in CARDÉ, R. T.; BELL, W. J. **Chemical Ecology of insects 2**. New York: Chapman & Hall. 1995.

HEMPEL, A. As Coccidas brasileiras. **Rev. Mus. Paul.**, Brasil, v. 4, n. 520, 1900.

HEMPTINNE, J. L.; DIXON, A. F. G. Defence, oviposition and sex: semiochemical parsimony in two species of ladybird Beetles (Coleoptera, Coccinellidae)? A short review. **Eur. J. Entomol.** v. 97, 443-447, 2000.

HICK, A. J., LUSZNAK, M. C., PICKETT, J. A. Volatile isoprenoids that control insect behaviour and Development. **Nat. Prod. Rep.**, v. 16, 39–54, 1999.

HOGNADOTTIR, A., ROUSEFF, R.L. Identification of aroma active compounds in orange essence oil using gas chromatography - olfactometry and gas chromatography - mass spectrometry. **J. Chromatogr. A.** 998:201-211. 2003.

HÖLLDOBLER, B., MORGAN, E.D., OLDHAM, N.J., LIEBIG, J., LIU, Y. Dufour gland secretion in the harvester ant genus *Pogonomyrmex*. **Chemoecology.** 14:101-106. 2004.

HUANG, Q.; ATTYGALLE, A.B.; MEINWALD, J.,;HOUCK, M.A.; EISNER, T. Chilocorine C: a new "dimeric" alkaloid from a coccinellid beetle, *Chilocorus cacti*. **J. Nat. Prod.** 61, 598 -601. 1998.

KAPPERS, I. F., HOOGERBRUGGE, H., BOUWMEESTER, H. J., DICKE, M. Variation in herbivory-induced volatiles among cucumber (*Cucumis sativus* L.) varieties has consequences for the attraction of carnivorous natural enemies. **J Chem Ecol.** v. 37(2), 150-60, 2011.

KARLSON, P., LÜSCHER, M. 'Pheromones': a New Term for a Class of Biologically Active Substances. **Natur.** v. 183, 55 – 56, 1959.

KHORASHEH, F., GRAY, M.R., SELUCKY, M.L. Correlation for Kováts retention index of C9-C26 monoalkyl and polymethyl alkanes and alkenes. **J. Chromatogr.** 481:1-16. 1989.

KING, M. F., MATTHEWS, M.A., RULE, D.C., FIELD, R.A. Effect of beef packaging method on volatile compounds developed by oven roasting or microwave cooking. **J. Agri. Food Chem.** 43:773-778. 1995.

KOHL, E., HÖLLDOBLER, B., BESTMANN, H.J. Trail and recruitment pheromones in *Camponotus socius* (Hymenoptera: Formicidae). **Chemoecology.** 11:67-73. 2001.

LE GUEN, S., PROST, C., DEMAIMAY, M. Characterization of odorant compounds of mussels (*Mytilus edulis*) according to their origin using gas chromatography - olfactometry and gas chromatography - mass spectrometry. **J. Chromatogr. A.** 896:361-371. 2000.

LIMA, I. M. M.; GAMA N. S. Registro de plantas hospedeiras (Cactaceae) e de nova forma de disseminação de *Diaspis echinocacti* (Bouché) (Hemiptera: Diaspididae), Cochonilha-da-Palma-Forageira, nos estados de Pernambuco e Alagoas. **Neotrop. Entomol.**, v. 30, n. 3, p. 479-481, 2001.

LIMA, J. S., PINTO, O. R. O., HONORATO, T. B., MELO, J. G. M., PINTO, C. M. **Interações tritróficas nos agroecossistemas.** Enciclopédia biosfera, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.9:16, p. 1347. 2013.

LOPES, E. B.; ALBUQUERQUE, I. C., BRITO, C. H.; BATISTA, J. L. Velocidade de infestação e dispersão de *Dactylopius opuntiae* Cockerell, 1896 em palma gigante na Paraíba. **Eng. Ambient.**, Espírito Santo do Pinhal, v. 6, n. 1, p. 196-205, jan/abr 2009.

LUVIZOTTO, R. A. G., BENTO, J. M. S., AGOSTIN, K., NARDI, C. **Comportamento sexual de *Diabrotica speciosa* Germar.** 2010. Disponível em: <http://www.unimep.br/phpg/mostraacademica/anais/7mostra/4/363.pdf> Acesso em: 01/07/2013.

MARTINS, C. B. C. **Semioquímicos envolvidos nas interações intra e interespecíficas de *Oryzophagus oryzae* (Lima, 1936) (Coleoptera: Curculionidae) e *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé, 2006 (Heteroptera: Thaumastocoridae).** Tese de Doutorado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

MENDONÇA, A. L. **Comportamento reprodutivo, extração e identificação do feromônio sexual da broca pequena da cana-de-açúcar *Diatraea flavipennella*, box, 1931 (Lepidoptera: crambidae).** Tese de Doutorado. Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2009.

MOONEY, K. A.; PRATT, R. T.; SINGER, M. S. The tri-trophic interactions hypothesis: interactive effects of host plant quality, diet breadth and natural enemies on herbivores. **Plos One**, v. 7, n. 4, Abril 2012.

MORAES, C. M., LEWIS, W. J., PARÉ, P. W., ALBORN, H. T., TUMLINSON, J. H. Herbivore-infested plants selectively attract parasitoids. **Natur.**, v. 393, 570-573, 1998.

MORAES, C. M.; LEWIS, W. J.; TUMLINSON, J. H. Examining plant-parasitoid interactions in tritrophic systems. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.29, n 2, p. 189-203, 2000.

NASCIMENTO, J. B. Fatores que afetam a liberação e a eficiência de parasitoides no controle biológico de insetos-praga. **Enciclopédia Biosfera**, v. 7, n. 13, p. 550-570, 2011.

NINKOVIC, V., AL ABASSI S., PETTERSSON, J. The influence of aphid-induced plant volatiles on ladybirds Beetle searching behavior. **Biol. Control** 21: 191-195. 2001.

OLIVEIRA, R. S.; SOUZA, M. F.; MAGELA, M. L. M.; ALVES FILHO, A.; PAULA, C. O. Silício na proteção de plantas contra herbívoros: uma abordagem sobre as interações tritróficas no sistema trigo, pulgões e parasitoides. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n. 14, p. 876-898, 2012.

OMKAR, A. P. Ecology and Biocontrol Potential of a Scale-Predator, *Chilocorus nigritus*, **Biocontrol Science and Technology**, 13, 379-390. 2003.

ONG, P.K.C., ACREE, T.E. Similarities in the aroma chemistry of Gewürztraminer variety wines and Lychee (*Litchi chinesis* Sonn.) fruit. **J. Agric. Food Chem.** 47:665-670. 1999.

PARKER, J.K., HASSELL, G.M.E., MOTTRAM, D.S., GUY, R.C.E. Sensory and instrumental analyses of volatiles generated during the extrusion cooking of oat flours. **J. Agri. Food Chem.** 48:3497-3506. 2000.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. **Controle biológico: terminologia**, p. 1-16. In PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J.M. S. **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo, Manole, 609 p. 2008.

PEÑAFLORES, M. F. G. V. **Resposta olfativa do parasitóide de ovos *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) aos voláteis de plantas de milho *Zea mays* L. na presença de estágios imaturos de seu hospedeiro, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)**. Dissertação de Mestrado. Piracicaba. 2006.

PEPPARD, T.L. Volatile flavor constituents of *Monstera deliciosa*. **J. Agric. Food Chem.** 40:257-262. 1992.

PICHERSKY, E., NOEL, J. P., DUDAREVA, N. Biosynthesis of Plant Volatiles: Nature's Diversity and Ingenuity. **Scienc.** v. 311, 808, 2006.

PINTO-ZEVALLOS, D. M., MARTINS, C. B. C, PELLEGRINO, A. C., ZARBIN, P. H. G. Compostos orgânicos voláteis na defesa induzida das plantas contra insetos herbívoros. **Quim. Nova**, Vol. 36, No. 9, 1395-1405, 2013.

PONSONBY, D.J. Factors affecting utility of *Chilocorus nigritus* (F.) (Coleoptera: Coccinellidae) as a biocontrol agente. CAB Reviews: **Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources**, v. 4, n. 46, 2009.

PONSONBY, D.J., COPLAND, M.J.W. Aspects of prey relations in the coccidophagous ladybird *Chilocorus nigritus* relevant to its use as a biological control agent of scale insects in temperate glasshouses. **BioControl** 52, 629-640. 2007.

PRESTES, A. C., CUNHA, H. F. Interações entre cupins (isoptera) e formigas (hymenoptera) co-habitantes em cupinzeiros epigeos. **Revista de Biotecnologia & Ciência**. Vol. 1, Nº. 1, p. 50 – 60. 2012.

PRIESTAP, H.A., VAN BAREN, C.M., DI LEO LIRA, P., COUSSIO, J.D., BANDONI, A.L. Volatile constituents of *Aristolochia argentina*. **Phytochem.** 63:221-225. 2003.

RAGHAVA, T., RAVIKUMAR, P., HEGDE, R., KUSH, A. Spatial and temporal volatile organic compound response of select tomato cultivars to herbivory and mechanical injury. **Plant Science**, v. 179:5, 520–526, 2010.

RODRÍGUEZ-SAONA, C. La Ecología Química de Interacciones Tri-Tróficas, In: ROJAS, J. C.; MALO, E. A. (Eds.). **Temas Selectos en Ecología Química de Insectos**. Mexico: **El Colegio de la Frontera Sur**. p. 315-342, 2012.

SALAK, M. In search of the tallest cactus. **Cactus Succul. J.**, v. 72, n. 3, 2000.

SAMWAYS, M. J.; TATE, B.A. Sexing of *Chilocorus nigritus* (F.) (Coccinellidae). **Citrus & Subtropical Fruit Journal** v. 4, n. 5, p. 607, 1984.

SANTOS, D. C., SANTOS, M. V. F., FARIAS, I., DIAS, F. M., LIRA, M. A. Desempenho Produtivo de Vacas 5/8 Holando/Zebu Alimentadas com Diferentes Cultivares de Palma Forrageira (*Opuntia e Nopalea*). **Rev. bras. zootec.**, 30(1):12-17, 2001.

SANTOS, D. C.; FARIAS, I.; LIRA, M. A.; SANTOS, M. V. F.; ARRUDA, G. P.; COELHO, R. S. B.; DIAS, F. M.; MELO, J. N. **Manejo e utilização da palma forrageira (Opuntia e Nopalea) em Pernambuco**. Recife: IPA, 48 p., 2006.

SANTOS, D. C.; LIRA, M. A.; FARIAS, I.; SANTOS, M. V. F. **Programa de melhoramento e coleção de palma forrageira**: Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste Brasileiro. Empresa Brasileira de Agropecuária. 2006. Disponível em: <http://www.cpatsa.embrapa.br:8080/catalogo/livrorg/palmaforrageira.pdf>. Acesso em: 05/02/2012, às 17:26h.

SANTOS, E. D.; HENDGES, E. A.; MOREIRA, E. F. **Controle biológico de pragas agrícolas no Brasil**. In: colóquio internacional “ educação e contemporaneidade” São Cristovão. Anais... São Cristovam: educon, p. 1-16, 2011.

SANTOS, E. N. **Seletividade fisiológica de produtos fitossanitários sobre *Coccidophilus citricola* (Brèthes, 1905) (Coleoptera: Coccinellidae) em *Diaspis echinocacti* (Bouché, 1833) (Hemiptera: Sternorrhyncha: Diaspididae) palma forrageira**. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Agronomia) – Universidade Federal de Alagoas, 2010.

SECRETARIA DE AGRICULTURA DE ALAGOAS. **Pesquisas indicam melhores variedade de palma forrageira**. Disponível em: <http://www.agricultura.al.gov.br/.../pesquisas-indicam-melhores-variedades-de-palma-forrageira>. 2010. Acesso em: 09/05/2012 às 15:50.

SILVA, C. A. D. **Impacto da pilosidade do algodoeiro sobre o curuquerê *Alabama argillacea* (Lepdoptera: Noctuidae) e seu predador *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae)**. Tese (Doutorado em Entomologia), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

SILVA, C. C. A.; BARBOSA, S. M. L. **Ciclo biológico de *Zagreus bimaculosus* (Muls) (Coleoptera: Coccinellidae), um predador da cochonilha da palma forrageira *Diaspis echinocacti* (Bouché 1833)**. Maceió, EPEAL, 15p. (Boletim de pesquisa 2).1984.

SILVA, C. C. S.; SANTOS, L. C. Palma Forrageira (*Opuntia Fícus- Indica* Mill) como alternativa na alimentação de ruminantes. **Redvet.**, v. 7, n. 10, Outubro 2006.

SINGER, M. S.; STIREMAN, J. O. The tri-trophic niche concept and adaptive radiation of phytophagous insects. **Ecol. Lett.** v. 8, p. 1247–1255, 2005.

SOTO, A. G., MOREIRA, M. D., PALLINI, A. Análisis de la composición química de la cutícula de *Tetranychus evansi* backer & pritchard Y de *Tetranychus urticae* koch (acari: tetranychidae). **Bol.cient.mus.hist.nat.** v.15:2. p. 171 – 190. 2011.

STILING, P. D. Ecology, Theories and Applications. **Prentice Hall**, New Jersey, 1996.

TAHMASEBI, Z., MOHAMMADI, H., ARIMURA, G. I., MUROI, A., KANT, M.,R. Herbivore-induced indirect defense across bean cultivars is independent of their degree of direct resistance. **Exp Appl Acarol.** 2014.

TORTO, B., NJAGI, P. G. N., HASSANALI, A., AMIANI, H. Aggregation pheromone system of nymphal gregarious desert locust, *Schistocerca gregaria* (forskål). **J of Chem Ecol.**, v. 22:12, 2273-2281, 1996.

TÓTH, M., FURLAN, L., YATSYNIN, V. G., UJVÁRY, I., SZARUKÁN, I., IMREI, Z., TOLASCH, T., FRANCKE, W., JOSSI, W. Identification of pheromones and optimization of bait composition for click beetle pests (Coleoptera: Elateridae) in Central and Western Europe. **Pest Mana. Scien.** v. 59:4, p. 417– 425, 2003.

TRIGO, J. R.; BITTRICH, V.; AMARAL, M. C.. Ecologia química. **Chemkeys.** 2012. Disponível em: <http://www.portalmedquimica.com.br/arquivos/article1.php.pdf>. Acesso em: 22/06/2012.

TURLINGS, T.C.J.; LENGWILER, U.B.; BERNASCONI, M.L.; WECHSLER, D. Timing of induced volatile emissions in maize seedlings. **Planta** v. 207, p. 146-152, 1998.

WANDERLEY, W.L.; FERREIRA, M.A.; ANDRADE, D.K.B. Palma forrageira (*Opuntia ficus indica*, Mipp) em substituição à silagem de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) na alimentação de vacas leiteiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.1, p.273-281, 2002.

YONEYA, K., KUGIMIYA, S., TAKABAYASHI, J.. Can herbivore-induced plant volatiles inform predatory insect about the most suitable stage of its prey?. **Physiol Entomol.**, v. 34:4, 379–386. 2009.

ZANETTI, R.; CARVALHO, G. A.; SOUZA-SILVA, A.; SANTOS, A.; GODOY, M. S. Manejo integrado de cupins. **Lavras: UFLA.** 2009. 29p.

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

ZARBIN, P.H.G. in: VILELA, E.F.; DELLA LUCIA, T.M.C. Feromônios de insetos: Biologia, química e aplicação. **Holos.** 9-12, 2001.

ZARBIN, P;H;G.; FERREIRA, J.T.B.; LEAL, W.S. Metodologias gerais empregadas no isolamento e identificação estrutural de feromônios de insetos. **Quím. Nova.** v. 22 (2), p. 263-268, 1999.

ZHANG, B., YIN, X.R., LI, X., YANG, S.L., FERGUSON, I.B., CHEN, K.S. Lipoxygenase gene expression in ripening kiwifruit in relation to ethylene and aroma production. **J. Agr. Food Chem.** 57:2875–2881. 2009.