



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA



Caracterização química e genética da interação *Capsicum* spp. (Solanacea), pulgão *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) e o parasitóide *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae)

JOÃO GOMES DA COSTA

Orientador: Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana

Maceió - Alagoas

Agosto de 2010



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA



Caracterização química e genética da interação *Capsicum* spp. (Solanacea), pulgão *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) e o parasitóide *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae)

JOÃO GOMES DA COSTA

Tese apresentada à Rede Nordeste de Biotecnologia como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, para obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana

Maceió - Alagoas

Agosto de 2010

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

C837c

Costa, João Gomes da.

Caracterização química e genética da interação *Capsicum* spp. (Solanacea), pulgão *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) e o Parasitóide *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae)/ João Gomes da Costa.- Maceió, 2010.

138 f.: il. tabs., grafs.

Orientador: Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana

Tese (doutorado em Química e Biotecnologia)–Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Programa de Pós-graduação em Biotecnologia.

Inclui bibliografia.

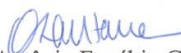
1. Ecologia química. 2. *Capsicum* spp (Solanacea). 3. Pulgão – *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae). 4. *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae). 5. Semioquímicos. 6. Interação tritrófica. I. Título.

CDU: 57.08

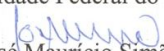
JOÃO GOMES DA COSTA

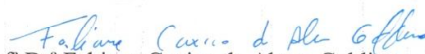
CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E GENÉTICA DA INTERAÇÃO
Capsicum spp., PULGÃO *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) E
O PARASITÓIDE *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera, Braconidae,
Aphidiinae)

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do título de Doutor do
Programa de Pós-graduação Rede Nordeste de Biotecnologia
(RENORBIO), do Ponto Focal: Universidade Federal de Alagoas (UFAL),
pela comissão formada pelos membros:


Orientador: Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana
(Renorbio/UFAL)


Prof. Dr. Paulo Henrique Zarbin
Universidade Federal do Paraná


Prof. Dr. José Maurício Simões Bento
Escola Superior de Agricultura Luiz de Quesiroz/USP


Prof. Dr. Fabiane Caxico de Abreu Galdino
(Renorbio/UFAL)


Dr. Aldomário Santo Negrisoni Júnior
Embrapa Tabuleiros Costeiros

MACEIÓ – ALAGOAS
2010

Aos meus pais, José Gomes (*in memoriam*) e Margarida

A minha esposa, Tâmara

Aos meus filhos, Bruno e Hugo

Aos meus irmãos, sobrinhos e cunhados (as)

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por estar sempre presente na minha vida, iluminando sempre o meu caminho;

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) por meio da Embrapa Tabuleiros Costeiros, pela oportunidade de realização do curso do Doutorado;

À Rede Nordeste de Biotecnologia (Renorbio) e a Universidade Federal de Alagoas por meio do Instituto de Química e Biotecnologia, pelo fornecimento das condições necessárias para desenvolvimento desta pesquisa;

Ao Instituto Rothamsted, em Harpenden, Inglaterra, pelo apoio dado para realização desta pesquisa;

Ao CNPq pelo suporte financeiro que contribuiu para o desenvolvimento desta tese;

Ao Professor Dr. Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana, pelos ensinamentos, paciência e compreensão reveladas no decorrer da realização deste trabalho, a quem sou grato;

Ao Dr. Michael Birkett do Instituto Rothamsted, pela recepção e valorosas sugestões e colaboração indispensáveis para a realização deste trabalho;

Ao Professor Dr. Ervino Bleicher da Universidade Federal do Ceará pelas sugestões em relação à metodologia deste trabalho;

A Professora Dra. Ruth Rufino do Nascimento pelos ensinamentos essenciais sobre ecologia química e sugestões para a realização desta pesquisa;

A Professora Dra. Marília Oliveira Fonseca Goulart pela sua dedicação, comprometimento e pelos ensinamentos importantes durante o curso;

Ao pesquisador Alessandro Riffel da Embrapa Tabuleiros Costeiros pela amizade e pela colaboração durante o desenvolvimento das pesquisas;

Aos membros da banca de qualificação e defesa pelas valiosas críticas e sugestões apresentadas;

A professora Lúcia Rebouças pela amizade e disposição em ajudar;

A pesquisadora Ana da Silva Ledo da Embrapa Tabuleiros Costeiros pela amizade e pelo acompanhamento como conselheiro acadêmica;

A Karine, Dilson e Diana pela atenção e serviços prestados em prol dos alunos da Renorbio;

Ao meu sogro Aderval Freire e minha sogra Neide Freire de Araújo pela grande contribuição durante a realização do curso;

Aos colegas Fernando Lucas, Paulo Pedro, Vélber, Ruy Tenório, Russeau e Adriana Todaro pela amizade e agradável convivência durante a realização das disciplinas;

Ao Aldy dos Santos pela amizade e valiosa contribuição durante toda a etapa do curso, estando sempre disposto a ajudar;

Aos colegas do laboratório de produtos naturais do Instituto de Química e Biotecnologia, Amaro Cavalcante, Cenira, Emília, Edjane, Cristhiane, Roberta, Beatriz, Luciana, Rose, Elica, Erica, Amélia, Jaqueline, Cláudia, Mariana, Inês, Daniele, Ana, Milena, Jeferson (*in memoriam*), Henrique, Karlos, Lúcio, Edilson, Daniel, Michael, Pedro pelos bons momentos compartilhados e amizade realizada;

As colegas Edjane pela grande ajuda em relação às análises de GC/MS e Cenira e Rose Paula pela disposição eterna de ajudar;

Ao Dr. Aldomario e Dr. Elio Guzzo pelas sugestões apresentadas;

A todos os funcionários da Embrapa Tabuleiros Costeiros lotados na Unidade de Execução de Pesquisa em Alagoas;

As estagiárias e estudantes de agronomia Gilcilene e Janúbia pela preciosa contribuição na criação dos insetos e condução dos experimentos;

A Giseli Dantas Ferreira pela dedicação, zelo e carinho dedicados aos meus filhos e pela ajuda na criação dos insetos;

A minha esposa Tâmara e aos nossos filhos Bruno e Hugo, pela compreensão, apoio, carinho e amor dedicados constantemente.

RESUMO

O controle de pragas das espécies vegetais cultivadas tem sido normalmente realizado por meio de inseticidas, o que é indesejável tanto por motivos econômicos quanto ambientais, já que as aplicações sucessivas afetam os inimigos naturais e aumentam a possibilidade de desenvolvimento de populações da praga resistentes aos inseticidas. Esses problemas podem ser minimizados com métodos alternativos de controle como o emprego de variedades resistentes, o uso de substâncias indutoras e o controle biológico. Para isso, estudos envolvendo a interação planta, praga e inimigo natural são de fundamental importância. Dessa forma, este trabalho teve como objetivos: a) Estudar a ação dos compostos orgânicos voláteis na interação tritrófica entre o pimentão *Capsicum* spp., o pulgão *Aphis gossypii* e seu parasitóide *Aphidius colemani*; b) Estudar a ação da *cis*-jasmona na interação tritrófica entre o pimentão, o pulgão *A. gossypii* e o parasitóide *A. colemani* e seu papel na ativação do mecanismo de defesa do vegetal. Variedades de pimentão foram avaliadas em relação à resistência ao pulgão *A. gossypii* e os seus compostos voláteis foram coletados antes e após a infestação. Os compostos voláteis foram tentativamente identificados por cromatografia gasosa/espectrometria de massas. Bioensaios de olfatometria foram realizados com os compostos voláteis em relação ao comportamento de *A. gossypii* e *A. colemani*. As principais conclusões obtidas neste trabalho foram: a) Existe variabilidade genética entre os genótipos de *Capsicum* em relação à emissão de compostos voláteis e em relação à susceptibilidade ao *A. gossypii*; b) O genótipo Cambuci poderá ser utilizado em programas de melhoramento genético visando cultivares de *Capsicum* mais resistentes ao *A. gossypii*; c) Houve diferenças significativas entre os efeitos dos compostos voláteis das duas cultivares sobre os comportamentos de *A. gossypii* e de *A. colemani*; d) Os compostos voláteis emitidos pela cultivar Cambuci após a infestação proporcionaram efeito repelente a *A. gossypii* e atrativo a *A. colemani*; f) A *cis*-jasmona aplicada sobre plantas de pimentão induziu a emissão e/ou produção de compostos voláteis que teve ação de repelência a *A. gossypii* e ação atraente para *A. colemani*; i) A variabilidade genética entre os genótipos, após a infestação, indica que os compostos orgânicos voláteis apresentam-se como variáveis que podem ser utilizadas para seleção e desenvolvimento de cultivares de pimentão resistente ao pulgão *A. gossypii*.

Palavras-chave: *Cis*-jasmona, Ecologia química, Semioquímicos, Interação tritrófica.

ABSTRACT

Pest control of cultivated plant species has been usually performed by insecticides, which is undesirable because of economical and environmental concerns, since successive applications affect natural enemies and increase the possibility of development of resistant population toward insecticides. These problems can be minimized with alternative control methods as the use of resistant varieties, use of substances that induce resistance and biological control. Those studies involving the interaction of plant, pest and natural enemies are of fundamental importance. Thus, this study aimed: a) to study the effect of volatile organic compounds in tritrophic interactions between pepper *Capsicum* spp., the aphid *Aphis gossypii* and its parasitoid *Aphidius colemani*; b) to study the role of *cis*-jasmone in the tritrophic interaction between the pepper, the aphid *A. gossypii* and the parasitoid *A. colemani* and its role in activating the defense mechanism of the plant. Pepper varieties were evaluated for resistance to the aphid *A. gossypii* and their volatiles were collected before and after infestation. Volatile compounds were tentatively identified by gas chromatography/mass spectrometry. Olfactometry bioassays were performed with volatile regarding the behavior of *A. gossypii* and *A. colemani*. The main conclusions obtained in this work were: a) there is genetic variability among genotypes of *Capsicum* in relation to the release of volatile compounds and in the susceptibility toward *A. gossypii*; b) genotype Cambuci can be used in breeding programs aiming *Capsicum* cultivars more resistant to *A. gossypii*; c) there were significant differences between the effects of volatiles from the two cultivars on behavior of *A. gossypii* and *A. colemani*; d) the volatiles emitted by Cambuci cultivar after infestation produced repellent effect on *A. gossypii* and were attractive to *A. colemani*; e) the *cis*-jasmone applied to pepper plants provided emission of volatiles that had repellent action on the *A. gossypii* and attractive one to *A. colemani*; f) the genetic variability between genotypes, after infestation indicates that volatile organic compounds present as variables can be used for selection and development of bell pepper cultivars resistant to the aphid *A. gossypii*.

Keywords: *Cis*-Jasmone, Chemical Ecology, semiochemical, tritrophic interaction

SUMÁRIO

	Página
Resumo	-
Abstract	-
Introdução	10
Revisão de Literatura	12
Objetivos Gerais.....	25
Material e Métodos Geral.....	26
Referências	34

CAPÍTULO I

Differential preference of <i>Capsicum</i> spp. cultivars by <i>Aphis gossypii</i> is conferred by variation in volatile semiochemistry	60
Abstract.....	61
Introduction.....	62
Methods.....	64
Results.....	66
Discussion.....	67
Conclusions.....	69
References.....	71

CAPÍTULO II

Resposta do parasitóide <i>Aphidius colemani</i> aos compostos voláteis de plantas de duas cultivares de pimentão infestadas e não infestadas pelo pulgão <i>Aphis gossypii</i>	81
Resumo.....	81
Abstract.....	82
Introdução.....	83
Material e Métodos.....	84
Resultados.....	86
Discussão.....	89
Conclusões.....	91
Referências	92

CAPÍTULO III

Respostas do afídeo <i>Aphis gossypii</i> e parasitóide <i>Aphidius colemani</i> em relação aos voláteis emitidos após aplicação de cis-jasmona em pimentão.....	97
Resumo.....	97
Abstract.....	98
Introdução.....	99
Material e Métodos.....	101
Resultados e Discussão.....	103
Conclusões.....	109
Referências	110

CAPÍTULO IV

Caracterização química e divergência genética entre cultivares de pimentão em relação aos seus compostos orgânicos voláteis.....	114
Resumo.....	114
Abstract.....	115
Introdução.....	116
Material e Métodos.....	117
Resultados e Discussão.....	118
Conclusões.....	133
Referências	134
Conclusões Gerais	137
Considerações Finais.....	138

1 – INTRODUÇÃO

A estimativa de perdas provocadas por pragas e doenças na agricultura mundial atinge 37% da produção, dos quais aproximadamente 15% se devem a insetos (von ELLRICHTSHAUSEN, 2008). Dentre os insetos que causam sérios danos as culturas estão os afídeos que possuem grande habilidade para sobreviverem em condições climáticas diversas (DIXON et al., 1993) pela sucção contínua da seiva e transmissão de doenças.

Myzus persicae (Sulzer) e *Aphis gossypii* (Glover) (Hemiptera: Aphididae), pragas de diversas culturas, estão entre os principais vetores de vírus de plantas (BLACKMAN & EASTOP, 1984), Sendo consideradas as principais pragas em cultivos protegidos (casa de vegetação e estufa plástica) (BUENO, 1999). Dessa forma, a utilização de parasitóides de pulgões como *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae) apresenta elevado potencial de utilização no controle biológico (van LENTEREN, 2003b; VASQUEZ et al., 2006).

Atualmente os métodos de controle concentram-se basicamente na utilização de agroquímicos dentro do Manejo Integrado de Pragas (MIP). Entretanto, há uma grande demanda pelo desenvolvimento de uma agricultura que utilize menos energia e produtos químicos, com menor emissão de resíduos indesejáveis no meio ambiente e nos alimentos, além de reduzir as contaminações aos agricultores (SILVA-FILHO & FALCO, 2000).

O pimentão, *Capsicum* spp. (Solanacea) é uma hortaliça de grande importância sócio-econômica no Brasil devido à área cultivada e ao número de empregos gerados (FRIZZONE et al., 2001). Com o aumento no uso de cultivo protegido de hortaliças, onde o pimentão é uma das culturas que vêm sendo mais exploradas, houve um aumento da incidência de pulgões causando danos significativos. O controle químico de pulgões é viável, mas devido ao surgimento de biótipos resistentes, da questão ambiental e dos custos dessa operação, torna-se importante a descoberta de formas alternativas para reduzir os seus danos.

Para reconhecer as plantas hospedeiras, os pulgões utilizam, entre outros sentidos, o olfato. Os compostos orgânicos voláteis emitidos pelas plantas são detectados pelos neurônios receptores na antena dos insetos e processados no sistema

nervoso central. Os insetos apresentam respostas comportamentais de acordo com as moléculas odorantes detectadas. Se os compostos voláteis forem provenientes de uma planta hospedeira, os insetos podem fazer movimentos orientados contra o vento para a fonte do odor. Se os compostos voláteis forem provenientes de uma planta não-hospedeira, os insetos podem se afastar da fonte de odor. A compreensão de que os compostos voláteis eliciam o tipo de resposta comportamental em um inseto pode ser útil no controle integrado de pragas, onde compostos voláteis que ativam a resposta comportamental dos insetos podem ser utilizados para proteger as culturas.

Devido à reprodução partenogenética e viviparidade, pulgões completam uma geração em curto tempo, apresentando altas taxas de reprodução, o que significa que mesmo uma pequena infestação inicial pode levar rapidamente a uma grande população e danos significativos à planta (EL-AMRI, 1999). Assim, o manejo eficaz dos afídeos é essencial numa agricultura sustentável. Tradicionalmente, os pesticidas foram efetivamente empregados para isso, mas a investigação sobre estratégias alternativas de controle de pragas é justificada devido aos casos crescentes de resistência de insetos a pesticidas (JUTSUM et al., 1998) e às crescentes preocupações sobre os custos ambientais e econômicas de tais práticas (PRETTY et al., 2000, 2005).

Semioquímicos são substâncias químicas que agem como sinais entre os organismos e podem ser utilizados por insetos fitófagos para localizar e reconhecer uma planta hospedeira adequada. Sabe-se que pulgões utilizam sinais químicos voláteis para localizar seus hospedeiros (NOTTINGHAM et al., 1991) e uma compreensão dos mecanismos envolvidos no reconhecimento olfativo de seu hospedeiro poderia levar ao desenvolvimento de novos meios de controle de pragas. O objetivo deste capítulo introdutório é apresentar um panorama de como isso pode ser alcançado, primeiro, apresentando informações sobre as culturas do pimentão e pimenta (*Capsicum* spp.), a biologia geral e o ciclo de vida de *A. gossypii* e *A. colemani*, em seguida, aspectos fundamentais em ecologia química envolvendo estes dois insetos e, finalmente, como a ecologia química pode ser aplicada no contexto do controle de pragas.

2 – REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Capsicum

O pimentão “*Capsicum annuum*” (Solanacea) destaca-se como uma das hortaliças mais cultivadas em todo o mundo (REIFSCHNEIDER, 2000; BLAT et al., 2007). No Brasil ele é cultivado em todo o território e está entre as dez hortaliças de maior importância econômica (SANTANA et al., 2004). Além disso, o agronegócio envolvendo o gênero *Capsicum* é de grande importância na agricultura familiar, pois permite integração entre o pequeno produtor e a indústria (RIBEIRO, 2004).

Em relação aos aspectos nutricionais, o pimentão e a pimenta são fontes de vitaminas A, B1, B2 e, quando consumidos *in natura*, são ricos em vitamina C. Os frutos de cor vermelha também apresentam altos teores de carotenóides (VINÀLS et al., 1996). Na culinária, contribuem para acentuar o sabor, o aroma e a cor de diversos pratos típicos em várias partes do mundo (LÚCIO et al., 2003). As espécies desse gênero também podem ter aplicação medicinal, pois têm função digestiva, auxiliam no combate à disenteria e infecções intestinais, e ainda têm funções antiparasitárias e cicatrizantes (VINÀLS et al., 1996).

As pimentas e os pimentões pertencentes ao gênero *Capsicum* vêm se destacando ao longo dos anos como uma nova alternativa de renda para os pequenos produtores, incentivando a agricultura familiar no Brasil (RIBEIRO, 2004). Assim, pimentas e pimentões representam um novo mercado para a agricultura brasileira e para as indústrias alimentícias, farmacêuticas e cosméticas. Os produtos à base de pimentões e pimentas são consumidos por um quarto da população mundial, principalmente na forma de condimentos (CARVALHO et al., 2003). Para estes autores devido ao agronegócio de pimentão e pimentas estar crescendo, existe demanda por novas cultivares com maior produtividade e qualidade. Entretanto, o aparecimento de doenças representa um dos fatores limitantes à produção destas culturas (LOPES & ÁVILA, 2003). Entre as viroses que causam danos às culturas de pimentas e do pimentão, destacam-se as causadas por espécies do gênero *Potyvirus*: “*Potato virus Y*” (PVY), “*Tobacco etch vírus*” (TEV), “*Pepper veinal motle virus*” (PVMV), “*Chilli veinal motle vírus*” (ChiVMV) e “*Pepper yellow mosaic vírus*” (PepYMV) (INOUE-

NAGATA et al., 2001). Entre essas doenças destaca-se o mosaico amarelo do pimentão, causado pelo “*Pepper yellow mosaic virus*”, uma nova espécie do gênero *Potyvirus* que ocorre em pimentão (INOUE-NAGATA et al., 2002), provocando diversas perdas na cultura (MACIEL-ZAMBOLIM et al., 2004; AZEVEDO et al., 2005). O *A. gossypii* ao lado do *M. persicae* é um dos principais afídeos que atacam a cultura do pimentão sendo ambos principais responsáveis pela transmissão dessas doenças.

Ultimamente tem-se observado um aumento significativo no uso de cultivo protegido de hortaliças, sendo o pimentão uma das culturas que vêm sendo mais exploradas. Porém, a incidência acentuada de pulgões proporciona danos significativos. O controle químico de pulgões é viável, até certo ponto, pois pode causar o surgimento de biótipos resistentes e inconvenientes em relação ao meio ambiente. Com relação a esse problema o pimentão foi o alimento que apresentou o maior índice de irregularidades para resíduos de agrotóxicos em 2009 (ANVISA, 2010). Oitenta por cento das amostras analisadas pelo Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) apresentaram problemas. Nestas, foram identificados 22 ingredientes ativos, dos quais 18 não estão autorizados para a cultura e quatro estavam acima do limite mínimo de resíduos estabelecido pela legislação.

2.2 Afídeos

2.2.1 Ciclo de vida e biologia

Afídeos (Hemiptera: Aphididae) são insetos vivíparos que se alimentam da seiva do floema e que podem transmitir vírus para as plantas das quais se alimentam. Há mais de 4700 espécies descritas de afídeos que ocorrem em todo o mundo, principalmente, em regiões temperadas (DIXON et al., 1987; BLACKMAN & EASTOP, 2007). Devido a uma combinação de fatores que lhes permitem alcançar alta taxa reprodutiva, os afídeos podem colonizar novos habitat de forma extremamente eficiente.

A evolução da reprodução (partenogênese) é um dos principais fatores que levam ao sucesso de afídeos. A maioria das espécies alterna entre uma fase sexual que assegura a recombinação genética e a segregação, e uma fase de reprodução

partenogenética que permite o crescimento massal da colônia, onde as taxas de população podem ser duplicadas em comparação a indivíduos com reprodução sexual. A capacidade de se reproduzir sem a necessidade de fertilização diminui o tempo de uma geração (BLACKMAN & EASTOP, 2000; POWELL et al., 2006).

Outro sucesso evolutivo dos afídeos é a maneira pela qual os recursos energéticos são alocados na colônia. Dentro de um mesmo clone, pode haver formas ápteras ou aladas. O surgimento destas duas formas é desencadeado por fatores ambientais, densidade da colônia, fisiologia vegetal e presença de predadores (BLACKMAN & EASTOP, 2000).

2.2.2 Afídeos como praga

Os afídeos se alimentam da seiva do floema, acarretando na perda de nutrientes pelas plantas e, assim, reduzindo a produtividade (Figura 1). No entanto, o principal impacto sobre as plantas é causada por agirem como vetores de vírus (DIXON, 1973) (Figura 2).



Figura 1 – Planta de pimentão infestada por *Aphis gossypii*.

(Foto: João Gomes da Costa, 2008)



Figura 2 – Planta de pimentão com virose (Foto: João Gomes da Costa, 2008)

2.2.3 *Aphis gossypii*

2.2.3.1 Biologia geral

O afídeo *A. gossypii* é uma espécie cosmopolita, amplamente distribuída nas regiões tropicais, subtropicais e temperada (ISIKBER, 2005). É uma praga de diferentes espécies de plantas, incluindo o pimentão, algodão, melão, abobrinha, pepino, frutas cítricas, café, berinjela, quiabo e plantas ornamentais como Hibiscos e crisântemo (BLACKMAN & EASTOP, 1984).

A. gossypii é um inseto pequeno com os adultos medindo entre 1,3 a 1,8 mm de comprimento, corpo ovalado e apresentando policromismo, ou seja, coloração que varia de verde-escuro ao amarelo-claro (Figuras 3 A e B) em função da fonte de alimento, densidade populacional e temperatura a que estão submetidos (GALLO et al., 2002; LEITE, 2006).

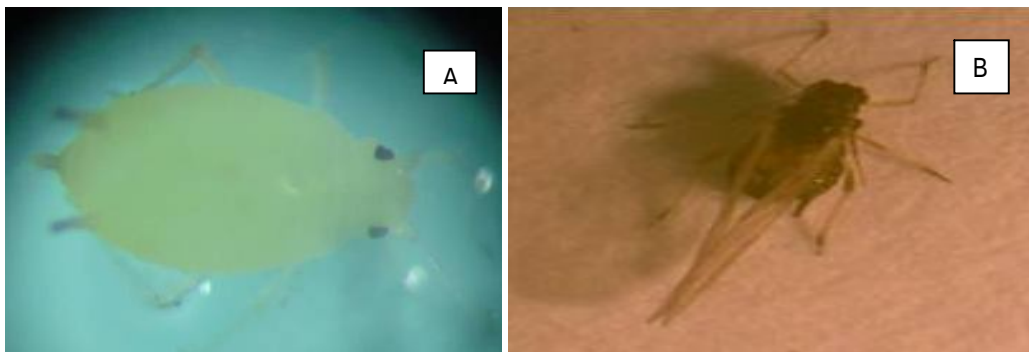


Figura 3 – *Aphis gossypii* áptero (A) e alado (B) (Foto: Gilcilene, 2008)

Os afídeos apresentam duas expansões no final do abdômen denominados sifúnculos, que funcionam como órgãos excretores. Esses, em *A. gossypii*, apresentam formato cilíndrico, com comprimento entre 0,16 a 0,23 mm, mais largos na sua base e mais compridos que sua cauda (codícula). O corpo é segmentado, apresentando os sifúnculos, tíbias e antenas de coloração escura (SANTOS, 2007). Numa única folha encontram-se colônias de indivíduos ápteros e alados, em diferentes estádios de desenvolvimento, sendo que as formas aladas aparecem com maior frequência em altas densidades de infestação, quando a competição por alimento é maior (FERNANDES et al., 2001).

A reprodução dos afídeos em regiões tropicais ocorre por partenogênese telítica, ou seja, sem participação do macho, com fêmeas gerando fêmeas durante o ano todo. São insetos ovovivíparos, pois procriam suas ninfas vivas, as quais se desenvolvem dentro do corpo da mãe (GALLO et al., 2002).

A. gossypii desenvolve-se melhor entre 25 a 30 °C, sendo a temperatura de 27 °C considerada ótima para o desempenho de suas funções biológicas (DEGUINE, 1995). Em temperatura de 26,7 °C, *A. gossypii* leva $4,1 \pm 0,1$ dias para passar pelos quatro estádios ninfaís antes de atingir a fase adulta. Em média produz 1,5 ninfas por dia, com um pico de $2,9 \pm 0,3$ do terceiro ao quinto dia. A longevidade média dos adultos é de $16,1 \pm 1,6$ dias com intervalo variando de 7 a 28 dias (HENNEBERRY & JECH, 2000).

2.2.3.2 Métodos de controle

2.2.3.2.1 Agrotóxicos

Os agrotóxicos têm sido aplicados para reduzir as perdas das culturas causadas por insetos. Apesar das 2,5 milhões de toneladas de agrotóxicos serem aplicados em todo o mundo, mais de 15% do potencial mundial de alimentos ainda está sendo perdido exclusivamente devido ao ataque de insetos (von ELLRICHTSHAUSEN, 2008). A aplicação de inseticidas além de ocasionar prejuízos ao meio ambiente e à saúde humana pode também proporcionar o surgimento de insetos resistentes aos mesmos. No entanto, estima-se que, sem o uso de pesticidas, as perdas das culturas devido às pragas aumentariam de 15 para 20% (PAOLETTI & PIMENTEL, 2000) juntamente com os preços dos produtos agrícolas.

2.2.3.2.2 Cultivares resistentes e modificadas geneticamente

Variedades de *Capsicum* spp. resistentes podem oferecer um meio de controle complementar à predação por inimigos naturais, reduzindo ao mesmo tempo a necessidade de aplicações de inseticidas. Assim, a utilização de cultivares resistentes seria ideal já que é uma prática que pode ser associada a todos os outros métodos de controle. Esse método apresenta as vantagens de não influenciar negativamente o meio ambiente, ser de fácil utilização e não aumentar os custos de produção sendo o seu efeito cumulativo e persistente (LARA, 1991).

As plantas podem apresentar três diferentes tipos de resistência a insetos antibiose, antixenose (não preferência) e tolerância (LARA, 1991). A variedade possui a resistência do tipo antibiose quando o inseto se alimenta dela e esta exerce um efeito adverso sobre a biologia do mesmo. Uma variedade apresenta uma resistência do tipo antixenose, quando ela é menos utilizada pelo inseto do que outra, em igualdades de condições, para alimentação, oviposição ou abrigo. A variedade é tolerante quando ela sofre poucos danos, em relação às outras, sob um mesmo nível de infestação de determinada espécie de inseto, sem afetar o comportamento deste ou sua biologia (LARA, 1991).

Estudos têm identificado cultivares resistentes a afídeos como em fava (*Vicia faba*) (EBADAH et al., 2006) e feijão-de-corda (*Vigna unguiculata*) (MORAES & BLEICHER, 2007) ao *Aphis craccivora* Koch; em batata aos pulgões *M. persicae*, *Macrosiphum euphorbiae* e *A. gossypii* (LARA et al., 1999); em *Brassica napus* ao *Lipaphis erysimi*. Em *Capsicum*, alguns acessos têm apresentado resistência ao *A. gossypii*, mas estes mesmos não têm resistência ou tolerância ao ataque do *M. persicae* (WEINTRAUB, 2007). FRANTZ et al. (2004) concluíram que existem fatores de resistência espécie-específica em *Capsicum*, como tem sido observado em acessos de tomateiro.

Uma alternativa que começou há 20 anos é o uso de culturas geneticamente modificadas. As plantas são melhoradas para resistir a pragas, doenças e herbicidas, ter um sabor melhor, maior valor nutricional e muitas outras características para produzir um produto melhor e mais barato (PAOLETTI & PIMENTEL, 2000; BROOKES & BARFOOT, 2006). Embora as vantagens das culturas geneticamente modificadas ainda estejam sendo discutidas (POPPY, 2000; CLARK & LEHMAN, 2001; van EMDEN, 2003), oferecem uma boa alternativa ao controle químico, em muitos aspectos (POPPY & SUTHERLAND, 2004), mas ainda há necessidade de mais estudos e os resultados e recomendações devem ser bem divulgadas visando o esclarecimento da técnica para o consumidor.

2.2.3.2.3 Indução de resistência nas plantas

Defesa induzida ocorre quando uma planta se torna mais resistente a insetos pragas ou patógenos, após um sinal que provoca uma mudança em seu metabolismo (CHAMBERLAIN et al. 2000). Esses sinais são conhecidos como "eliciadores" ou ativadores e são produzidos naturalmente pela planta quando atacada por organismos (ALBORN et al., 1997). As substâncias químicas de defesa induzidas são sintetizadas em resposta a injúrias causadas no tecido vegetal pelo ataque de herbívoros (BRUCE et al., 2003b). Além de produzirem e estocarem tais substâncias, as plantas produzem semioquímicos (sinais químicos voláteis). Tais sinais químicos mediam interações entre organismos, tanto dentro da mesma espécie quanto entre espécies, podendo influenciar interações entre organismos em vários níveis tróficos (AGELOPOULOS et al., 1999).

Esses compostos voláteis são liberados pela planta quando esta sofre alguma espécie de injúria e atuam repelindo o ataque de insetos. Também podem agir como um mecanismo indireto de defesa, atraindo insetos predadores ou parasitóides dos insetos fitófagos. Mais ainda, esses compostos podem agir sinalizando, internamente entre células, a ativação de genes latentes de defesa que traduzem a produção de compostos secundários e, entre plantas, sinalizando para que as plantas vizinhas não atacadas ativem também seus mecanismos de defesa em resposta aos compostos voláteis produzidos pelas plantas infestadas (BIRKETT et al., 2000; BRUCE et al., 2003a; GATEHOUSE, 2002).

Cada planta produz uma mistura de componentes voláteis específica em resposta a um eliciador específico de uma determinada espécie de herbívoro que se alimentam de alguma de suas partes. Isto sugere fortemente a co-evolução entre as plantas, herbívoros e seus inimigos naturais (PARÉ & TUMLINSON, 1999).

A ativação de mecanismos de defesa em plantas por meio de sinais químicos oferece uma nova e promissora forma de controle de pragas (KHAN et al., 2000). Embora muitos compostos com ação indutora tenham sido testados, sua aplicação em campo é bastante dificultada, devido sua alta volatilidade e instabilidade química.

Estudo realizado por PETTERSSON et al. (1994) mostrou que o salicilato de metila apresenta-se como um semioquímico ligado ao estresse de plantas. A maioria dos insetos estudados mostrou intensa resposta eletrofisiológica a esse composto. Nesse mesmo estudo o salicilato de metila, quando aplicado em trigo, reduziu significativamente (entre 30 - 40%) o número total de afídeos colonizando a cultura. No entanto, PICKETT et al. (2005) afirmam que sua atuação é efêmera, e sua aplicação prática é bastante dificultada devido a sua elevada volatilidade.

As respostas induzidas em plantas danificadas são mediadas por compostos provenientes da via octadecanóide entre os quais estão o ácido jasmônico e o jasmonato de metila (WASTERACK et al., 2006). Os compostos voláteis de plantas compreendem isoprenóides, carotenóides, benzenóides, fenilpropanóides, e compostos derivados de ácidos graxos e aminoácidos (DUDAREVA et al., 2006; TURLINGS et al., 1998). Esses compostos voláteis provêm informação sobre o estado do ataque da planta induzida, podendo ativar também as defesas induzidas de plantas adjacentes da

mesma ou de outra espécie (BRUIN & SABELIS, 2001; DICKE & DIJKMAN, 2001; HEIL & KOST, 2006; KARBAN, 2001).

Em tomateiro, a aplicação do ácido jasmônico resultou na indução de inibidores de proteases e polifenol oxidase e uma diminuição na preferência, no desempenho e na abundância de muitos herbívoros como *Frankliniella occidentalis* (trips), *Spodoptera exigua* e *Trichoplusia ni* (lepidópteros), *Epitrix hirtipennis* Melsheimer (coleóptero) e *M. euphorbiae* Thomas e *M. persicae* Sulzer (áfideos) (THALER et al., 1996). Entretanto, o ácido jasmônico afeta o desenvolvimento e fisiologia vegetal o que poderia afetar o rendimento de plantas, independentemente dos efeitos sobre a herbivoria (FAN et al., 1997; KODA, 1997). Por exemplo, o ácido jasmônico exógeno diminui a taxa fotossintética das plantas (METODIEV et al., 1996), reduz a formação de gemas (BARENDSE et al., 1985), e aumenta a produção de etileno, um hormônio envolvido na maturação (SANIEWSKI et al., 1987).

Outro composto envolvido na ativação de resistência da planta a insetos é a *cis*-jasmona. Ele atua como um sinal externo alertando tanto a planta receptora quanto a planta vizinha não danificada inicialmente por insetos e, por meio deste, prepara a planta para ativar as suas defesas prévias ao ataque. *Cis*-jasmona, que está associada com a via do ácido jasmônico ou da via octadecanóide (Figura 6) induzido por estresse (LOUGHRIN et al., 1995; PARE & TUMLINSON, 1997), foi identificada inicialmente a partir de voláteis de groselha, *Ribes nigrum* L., o hospedeiro primário do pulgão *Nasonovia ribis-nigri* (Mosley) (Hemiptera: Aphididae). Ensaios comportamentais mostraram que a aplicação de *cis*-jasmona em plantas de alface repeliu esse pulgão (BIRKETT et al., 2000).

No entanto, os efeitos de *cis*-jasmona não ficaram restritos a *N. ribis-nigri*. No mesmo estudo, armadilhas amarelas de água equipados com saquinhos para liberar este composto capturaram um número significativamente menor do pulgão *Phorodon humuli* (Schrank) (Hemiptera: Aphididae), do que nas armadilhas testemunhas. Da mesma forma, parcelas de trigo de inverno, *Triticum aestivum* L., pulverizadas com *cis*-jasmona foram significativamente menos infestadas pelos pulgões de cereais *Metopolophium dirhodum* (Walker), *Sitobion avenae* (Fabricius) e *Rhopalosiphum padi* (Linnaeus) (todos Hemiptera: Aphididae) (BIRKETT et al., 2000; BRUCE et al., 2003), em comparação com as plantas testemunha. Em contraste com as

respostas destas espécies de afídeos, em olfatômetro e estudos em túnel de vento, *cis*-jasmona provocou respostas positivas de comportamento na joaninha *Coccinella septempunctata* Linnaeus (Coleoptera: Coccinellidae), e em um parasitóide de afídeos, *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Braconidae) (BIRKETT et al., 2000).

Plantas de *Vicia faba* L. tratados com *cis*-jasmona, em uma concentração inicial de 0.1ppm em um recipiente de vidro fechado, aumentaram os níveis de (E, E)- α -farneseno, β -cariofileno, (E)-4,8-dimetil-1,3,7 nonatrieno e (E)- β -ocimeno (BIRKETT et al., 2000), compostos que têm sido mostrados previamente como sendo liberados por plantas atacadas por insetos herbívoros (TURLINGS et al., 1995). Este resultado sugere que *cis*-jasmona pode agir como um fitoferomônio, influenciando a liberação de compostos voláteis de plantas vizinhas intactas (BIRKETT et al., 2000; CHAMBERLAIN et al., 2001).

Indução com *cis*-jasmona oferece, portanto, a oportunidade para ativar a defesa das plantas sem influenciar indevidamente outros importantes processos fisiológicos da planta.

2.2.3.2.4 Controle biológico

Uma técnica amplamente aceita para controlar pragas de insetos é o uso de inimigos naturais. As populações de todos os organismos vivos estão sujeitas, em certa medida, a uma redução devido à ação de inimigos naturais, processo conhecido como controle natural. Assim, estima-se que 99% de todas as pragas potenciais podem ser controlados por seus predadores, parasitas, antagonistas e doenças, o que é conhecido como controle biológico (HAJEK, 2004). Esta técnica tem ganhado espaço onde os agrotóxicos não funcionaram como o que era esperado, além disso, para evitar os efeitos negativos proporcionados ao meio ambiente e a saúde dos homens e animais.

As estratégias que dependem de inimigos naturais podem ser agrupadas em quatro categorias: 1) Controle biológico clássico, que é a introdução intencional de um agente de controle biológico exótico para o estabelecimento permanente e controle de pragas de longo prazo (EILENBERG et al., 2001). 2) Controle biológico inundativo que é uma técnica orientada para o rápido controle de pragas durante um curto prazo, sem esperar que o inimigo natural se reproduza. 3) Controle biológico inoculativo que está

centrado na liberação de inimigos naturais no controle da praga durante um período prolongado, mas não permanente. 4) A última técnica é a conservação e valorização que naturalmente ocorre de inimigos. Esta técnica difere das anteriores, pois não há introdução artificial, o objetivo aqui é conservar os inimigos naturais da praga através da utilização alternada de pesticidas e aumento da população, fornecendo comida, abrigo e presas alternativas (HAJEK, 2004).

A demanda dos consumidores por alimentos livres de pesticidas, os custos semelhantes aos do controle químico, facilidade de aplicação, não período de carência entre a aplicação e a colheita e baixa resistência nas espécies-alvo, estimulam a utilização de métodos de controle biológico (van LENTEREN, 2003a). Isso se reflete no número de espécies comercialmente disponíveis para o controle biológico inundativo e inoculativo para pragas em cultivos protegidos, que tem aumentado desde os anos setenta e agora existem mais de 130 espécies disponíveis (HAJEK, 2004). Fungos entomopatogênicos, crisopídeos e vespas parasitas, têm sido utilizadas no controle biológico de *M. persicae* com variados graus de sucesso (McEWEN et al., 2001; KIFT et al., 2005).

2.2.3.2.5 Manejo Integrado de Pragas

A dependência de um único método de controle ao longo dos últimos 50 anos tem levado a dificuldades no manejo de pragas. Problemas variando da resistência da praga alvo aos pesticidas até a degradação ambiental levou à mudança de técnicas de controle para uma abordagem mais consciente e equilibrada para o manejo de pragas que refletem padrões culturais, biológicos e bioracionais (MAREDA, 2003; KOUL & CUPERUS, 2007) e como consequência o manejo integrado de pragas começou a ganhar aceitação. O manejo integrado de pragas combina as estratégias de controle citados anteriormente e priorizam vários fatores, como uma boa compreensão da biologia e ecologia de pragas, a sua interação com o ecossistema, a importância na sociedade e na economia (NORRIS et al., 2003).

2.3 Parasitóides

2.3.1 Biologia geral

Parasitóides são insetos entomófagos amplamente disseminados na natureza. Estima-se que 25% de todos os insetos pertençam a este grupo. Embora existam cerca de 70.000 espécies descritas de parasitóides, acredita-se que possa haver entre 1,5 - 2 milhões ainda sem serem descritas (von ELLRICHTSHAUSEN, 2008). A maioria das espécies pertence à ordem Hymenoptera e Diptera, mas as ordens Coleoptera, Lepidoptera, Trichoptera, Neuroptera e Strepsiptera também têm representantes (GODFRAY, 1994; QUICKE, 1997). A principal característica partilhada pelos parasitóides é a dependência de uma segunda espécie de inseto para completar seu ciclo de vida. Na maioria dos casos, é a fêmea adulta que localiza um hospedeiro adequado para colocar os ovos à superfície, mas em alguns casos, as larvas são as que localizam uma pista (mais comum em parasitóides dípteros, parasitóides neurópteros e parasitóides lepidópteros) (QUICKE, 1997). Parasitóides podem se desenvolver em mais de uma espécie, caso em que eles são conhecidos como generalistas, ou em uma única espécie e são chamados especialistas. Uma vez que a larva do parasitóide emerge do ovo, ela penetra no hospedeiro se ele ainda não estiver dentro dele, e começa a se alimentar. As larvas, em contraste com parasitas normais, mais cedo ou mais tarde matam o hospedeiro. Existem muitas variantes para o modelo básico descrito acima, variando de endoparasitóides ou ectoparasitóide, (dependendo se as larvas estão dentro do hospedeiro ou fora, sugando-as com o seu aparelho bucal). Embora esta condição não seja permanente, já que há alguns exemplos onde larvas de ectoparasitas tornam-se endoparasitas e vice-versa. Alguns parasitóides podem inibir o desenvolvimento do hospedeiro, caso em que são conhecidos como idiobiontes, enquanto outros são conhecidos como coinobiontes, pois permitem que o hospedeiro continue a se desenvolver, por vezes, até a pupação. Também, o número de ovos que se desenvolve por hospedeiro varia de um (solitário) a vários (gregário) e se houver mais de uma fêmea que oviposita em um hospedeiro, ele é chamado superparasitismo (DORN & BECKAGE, 2007).

2.3.2 Parasitóides Aphidiidae

Afidiídeos (Braconidae: Aphidiidae) são parasitóides himenópteros solitários endoparasitóides de pulgões. A reprodução em parasitóides Aphidiidae é sexual, mas como em todos os himenópteros, os ovos não fertilizados dão origem a machos e ovos fertilizados originam fêmeas. Além disso, as fêmeas acasaladas podem colocar ovos fertilizados ou não fertilizados. As fêmeas são sinovigênicas, não levam todos os ovos para a emergência, mas alguns ovos ficam maduros nos ovidutos com o tempo e desenvolvem-se durante o resto da vida adulta das fêmeas. Normalmente fêmeas colocam um ovo por hospedeiro, embora se outra fêmea colocar um segundo ovo no mesmo hospedeiro, apenas uma larva poderá completar o seu desenvolvimento. A oviposição é rápida, variando de 2-9 s, dependendo da espécie. A larva passa por quatro instares no hospedeiro e acredita-se que se alimenta, durante os primeiros três instares, em células especializadas chamadas teratócitos, que derivam da membrana embrionária são liberadas no hemocele dos hospedeiros e ajudam na nutrição e regulação do hospedeiro entre outras funções (GOPALAPILLAI et al., 2005). Somente durante o último instar larval não parece haver um ataque contra os órgãos reprodutivos e de outros tecidos do hospedeiro (HAGVAR & HOF SVANG, 1991). Pouco antes da pupação, o pulgão hospedeiro é morto e sobra somente sua cutícula. A larva, então prende a cutícula na folha com uma secreção das glândulas de seda, por meio de um corte de abertura na parte ventral e, em seguida é tecido um casulo (na maioria dos gêneros) dentro dele.

A cutícula do pulgão com a pupa do parasitóide no seu interior é comumente conhecida como "múmia" e podem ser facilmente diferenciados em uma colônia de pulgões, porque eles mudam de cor e forma, características que por vezes podem ser usadas para diferenciar gênero e espécie (POWELL, 1982). Depois de 4 a 9 dias, os adultos emergem através de um orifício na parte posterior dorsal da múmia. Uma vez que os adultos não se alimentam de pulgões, o honeydew (substância rica em açúcar que corresponde ao excesso de seiva sugada pelo afídeo) dos afídeos é usado como fonte de nutrientes (HOGERVORST et al., 2007).

2.3.3 Parasitóide *Aphidius colemani*

Aphidius colemani Viereck (Hymenoptera: Aphidiidae) (= Brethes *A. platensis*, *A. transcaspicus* Telenga) é um pequeno parasitóide generalista (aproximadamente 3 mm) (Figuras 6 e 7) exibindo uma ampla gama de hospedeiros dentro de membros da família Aphididae, entretanto são considerados generalistas ao nível de espécie e especialistas ao nível de família. Provavelmente é originário do norte da Índia e do Paquistão, mas agora a sua distribuição é generalizada, incluindo América do Norte, América do Sul, Austrália e várias partes da Europa, devido, em vários casos, a introduções artificiais para os programas de controle biológico (HOFSVANG & HAGVAR, 1975; STARÝ, 1975).

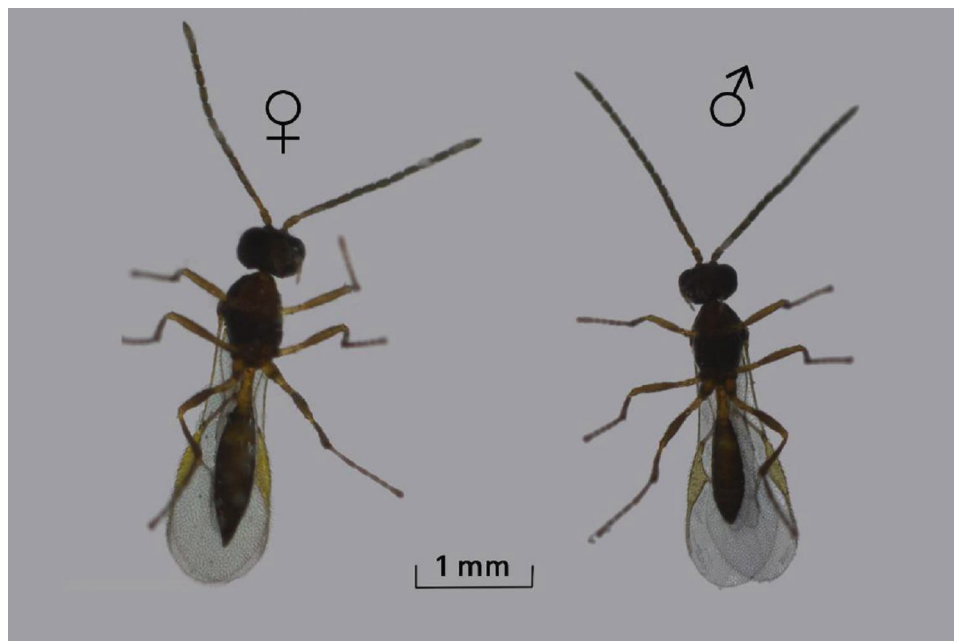


Figura 6 - Fêmea e macho de *A. colemani*. A fêmea, um pouco maior do que o macho tem o abdome pontiagudo no final e o macho tem o abdome mais arredondado. (Fonte: Von Ellichshausen 2008)



Figura 7 – *A. colemani* coletado em plantas de pimentão em Rio Largo, Alagoas. (1 mm). (Foto: Rose Paula, 2009).

A gama de hospedeiros de *A. colemani* varia em diferentes partes do mundo. Embora as populações do Mediterrâneo estejam restritas a um par de hospedeiros, nas populações de regiões tropicais apresentam uma ampla gama de hospedeiros, incluindo espécies de afídeos que são encontrados em ambas as áreas, mas são apenas parasitadas nos trópicos (STARÝ, 1975). TARDIEUX & RABASSE (1986) sugerem que essa diferença de preferências pode ser devido a populações de *A. colemani* sendo constituídas por um complexo de espécies crípticas (espécies que apresentam características morfológicas idênticas ou semelhantes de modo a dificultar a sua identificação).

A. colemani parasita estágios larvais do pulgão e após a picada e oviposição, o parasitóide passa por quatro estádios larvais dentro do hospedeiro. Durante a sua última etapa larval o parasitóide mata o hospedeiro, deixando intacta apenas a cutícula, que é fixada na folha. Dentro dessa "múmia" é tecido um casulo no qual os estágios de pré-pupa e pupa ocorrem antes do adulto cortar um buraco circular no lado dorsal da múmia, com posterior emergência deste (Figura 8). O tempo que decorre da oviposição à emergência de adultos a 20 ° C é de 14 dias (ZAMANI et al., 2007) e depois que eles emergem, se alimentam de honeydew e ficam prontos para acasalar (HOFSVANG & HAGVAR, 1977).



Figura 8 – Múmias de *Aphis gossypii* parasitadas por *A. colemani* obtidas em plantas de pimentão em Maceió, Alagoas. (Foto: Cenira Carvalho, 2009)

2.3.3.1 *A. colemani* como agente de controle biológico

A. colemani está disponível comercialmente desde 1992 para o controle biológico de *Aphis gossypii* Glover e *Myzus persicae*, principalmente para utilização em estufas. É vendido como pupas e as taxas de liberação recomendadas variam entre 0,15 e 1,5 parasitóides/m² (van LENTEREN, 2003b). Um estudo recente (VASQUEZ et al., 2006) mostrou que a liberação inoculativa (taxas de liberação de 5 adultos/m²) de *A. colemani* reduziu o impacto do *A. gossypii* em *Chrysanthemum* spp. para os mesmos níveis de agrotóxicos. Os autores concluíram que embora ainda seja 4,7 vezes mais caro do que o uso padrão de pesticidas, o uso de *A. colemani* é mais seguro para o meio ambiente e aos trabalhadores agrícolas, e é muito improvável que este método possa vir a causar resistência nos pulgões.

2.3.4 Comportamento de busca pelo hospedeiro

2.3.4.1 Modelos conceituais

A interação entre parasitóides e seus hospedeiros está sob forte pressão seletiva para os hospedeiros (com a finalidade de evitar parasitóides) e aos parasitóides (visando

encontrar hospedeiros). Hospedeiros, normalmente herbívoros, encontram formas de se esconder dos parasitóides e, os parasitóides usam sinais relacionados com o hospedeiro que lhes conferem informações sobre a sua presença, quantidade e qualidade (VINSON, 1976).

VET & DICKE (1992) propuseram o modelo de “especialização dietária” que se baseia na utilização de infoquímicos por inimigos naturais. Este modelo prevê que a resposta dos parasitóides e predadores será afetada pela especialização na dieta do inimigo natural e de suas espécies de hospedeiros. Assim, os inimigos naturais podem ser considerados como especialistas ou generalistas ao nível do seu hospedeiro (inseto) e os hospedeiros podem ser considerados especialistas ou generalistas ao nível da planta. Seguindo esta lógica, quatro categorias podem ser distinguidas: categoria A, onde os predadores e os hospedeiros têm hábitos especializados, pelo qual somente resposta inata para infoquímicos está prevista na localização do hospedeiro pelo predador. Categoria B e C são de inimigos naturais, com hábitos generalistas e especialistas, respectivamente, e os hospedeiros com hábitos alimentares especialista e generalista, respectivamente. O modelo prevê que o comportamento do inimigo natural em busca do hospedeiro irá depender de uma combinação de respostas inatas para infoquímicos comum na planta e hospedeiro. A última categoria, D, dispõe de inimigos naturais generalistas e hospedeiros generalistas, e uma série de inimigos naturais com comportamento de busca aleatória por hospedeiros e o uso de infoquímicos não é esperado. Mas, recentemente, uma alteração a este conceito foi proposto por STEIDLE & van LOON (2003) quando analisaram a utilização de pistas (específicas, generalistas, inata e aprendida) por predadores pertencentes às categorias acima mencionadas. Seus resultados só se aplicam aos grupos A, C e D, uma vez que B não foi incluído na revisão porque quase não há estudos dedicados a este grupo específico de insetos. Contrariamente ao modelo “especialização dietária”, os autores sugerem que todas as categorias que usam infoquímicos independentemente de especialização alimentar, os especialistas usam sinais específicos com mais frequência e generalistas utilizam mais frequentemente os sinais gerais. Já o uso inato de infoquímicos ocorre em todos os predadores, independentemente de suas especializações e por último, a aprendizagem ocorre com frequência em predadores generalistas e raramente em especialistas.

2.3.4.2 Tipos de pistas de busca ao hospedeiro

2.3.4.2.1 Fontes

Parasitóides evoluíram em um contexto multitrófico e, conseqüentemente, sua fisiologia e comportamento são influenciados por elementos em todos os níveis da interação. Portanto, faz sentido a visão de que a descoberta do hospedeiro dá-se com ênfase em sinais que são emitidos pelo segundo nível trófico (hospedeiro do parasitóide), o primeiro nível trófico (plantas sobre as quais os hospedeiros dos parasitóides estão alimentando-se) e os sinais provenientes de seus co-específicos (VET & DICKE, 1992).

2.3.4.2.2 Infoquímicos

De toda a gama de estímulos multisensoriais que um parasitóide pode usar (ou seja, visual, auditivo, etc.), o grupo mais explorado são os de sinais químicos, especialmente em distâncias mais longas do hospedeiro. Por causa da variedade de termos utilizados ao longo do tempo para definir as substâncias químicas mediando interações entre organismos, elas se tornaram confusas e heterogêneas. DICKE & SABELIS (1988) propuseram uma classificação alternativa com base nos custos e benefícios da interação de ambos os interlocutores que também incluía os outros organismos que não estão envolvidos na interação que poderiam ser os produtores / emissores dos sinais químicos. Eles introduziram o termo "infoquímicos" para descrever qualquer sinal químico que poderia dar a informação em uma interação entre dois indivíduos, que evoca no receptor uma resposta comportamental ou fisiológica que é adaptável a qualquer um dos interlocutores ou a ambos. Os infoquímicos podem ser divididos em feromônios, que são infoquímicos que atuam entre indivíduos da mesma espécie, e aleloquímico, que são infoquímicos que atuam entre indivíduos de espécies diferentes. Existem três tipos de aleloquímicos: cairomônios, que evocam uma reação adaptativa favorável ao receptor, mas não para o organismo emissor. Alomônio que desencadeia uma reação adaptativa favorável ao emissor e, por último, sinomônio que confere vantagens adaptativas aos dois organismos (emissor e receptor). Parasitóides,

em sua busca por hospedeiros, normalmente dependem de sinais químicos que podem ser provenientes da planta (sinomônio) em que o hospedeiro está se alimentando, do próprio hospedeiro (caiomônio) ou de produtos químicos liberados como resultado das interações entre o hospedeiro e a planta na qual ele se encontra ou de outros organismos associados com o hospedeiro.

2.3.4.2.2.1 Infoquímicos da planta

As plantas normalmente produzem certa quantidade de compostos voláteis, mas quando atacadas por herbívoros, há mudanças na quantidade liberada e na sua composição (PARÉ & TUMLINSON, 1999). Alguns destes compostos voláteis são usados como fontes de informações por herbívoros à procura de plantas e também são exploradas como caiomônios por predadores e parasitóides em busca de hospedeiros. Estudos têm mostrado que os parasitóides *A. colemani*, *Aphidius ervi*, *Aphidius funebris* e *Aphidius rophalosiphi* respondem aos compostos voláteis de plantas não-danificadas da mesma espécie na qual o seu hospedeiro foi criado. Entretanto quando os parasitóides são submetidos aos compostos voláteis de plantas das mesmas espécies danificadas por afídeos eles respondem mais intensamente e, em alguns casos, a discriminação é tal que detectam mudanças na mistura volátil de acordo com as espécies de afídeos que estão atacando as plantas (POWELL et al., 1998; STORECK, 2000; KALULE & WRIGHT, 2004; LO PINTO et al., 2004). Outro exemplo, o parasitóide *A. rophalosiphi*, pode discriminar entre diferentes variedades cultivadas de trigo (WICKREMESINGHE & van EMDEN, 1992).

2.3.4.2.2.2 Infoquímicos do hospedeiro

Caiomônios produzidos pelo segundo nível trófico podem ser tão diversos quanto os feromônios sexuais, de alarme e de agregação, honeydew, fezes e químicos associados com as cutículas do hospedeiro. Todos estes infoquímicos podem agir na forma de compostos voláteis quando os parasitóides ainda estão longe da fonte ou pelo contato químico quando estão próximos da fonte.

Em parasitóides afidiídeo, estudos têm demonstrado que estímulos químicos do hospedeiro podem influenciar o seu comportamento. Em *A. ervi* criados sobre o pulgão *Acyrtosiphon sativum*, secreções do cornículo do hospedeiro e um caiomônio sobre a

cutícula do hospedeiro eliciam sobre o comportamento da fêmea do parasitóide a realização de picadas (BATTAGLIA et al., 2000), além do honeydew (DU et al., 1997) e feromônio do pulgão (POWELL et al., 1998). Além disso, acredita-se que caïromônios de contato associados com a cutícula do hospedeiro mediam o reconhecimento do hospedeiro em *A. rhopalosiphi* criados no afídeo *Sitobion avenae* (MURATORI et al., 2006).

Além disso, os microrganismos, como fungos associados com o hospedeiro e/ou a planta podem fornecer informações químicas (MARTINEZ et al., 2006; STEINER et al., 2007). Também os feromônios de co-específicos podem evitar parasitóides para que os hospedeiros não fiquem com superparasitismo, ou feromônios de outras espécies de parasitóides e predadores que podem afetar seu comportamento de busca por hospedeiros (GODFRAY, 1994).

2.3.4.2.3 Outros fatores afetando o comportamento do parasitóide

Outras pistas também utilizadas por parasitóides, mais comumente, somente quando estão próximos do hospedeiro, podem incluir as vibrações causadas pelas larvas do hospedeiro (FISCHER et al., 2003) e estímulos visuais (MICHAUD & MACKAUER, 1994; KRODER et al., 2007). BATTAGLIA et al. (2000) verificaram que a cor amarela encapsulada em micro-capilares provocou ataques de oviposição do parasitóide *A. ervi* no pulgão *Acyrtosiphon sativum*. Também as condições ambientais, tais como pressão atmosférica, velocidade do vento e a temperatura podem afetar o comportamento de parasitóides (MARCHAND & McNEIL, 2000; KRODER et al., 2007).

Diante de uma variedade de estímulos, parasitóides confiam em pistas que forneçam informações sobre a presença do hospedeiro, espécie, densidade e qualidade, mas eles também necessitam de sinais que sejam facilmente detectáveis. Isto freqüentemente não é o caso, especialmente a longas distâncias já que os hospedeiros normalmente produzem pequenas quantidades de infoquímicos por causa de sua pequena biomassa, e também por causa de pressões seletivas que suprimem a produção de substâncias químicas que possam revelar a sua localização. Os produtos químicos associados com o primeiro nível trófico, a planta, são liberados em grandes quantidades,

mas muitas vezes não são tão confiáveis em conferir informações sobre a quantidade/qualidade do hospedeiro como os derivados do hospedeiro, mas são por outro lado, facilmente detectáveis porque eles são produzidos e liberados em quantidades muito maiores. Isso é conhecido como um problema de confiabilidade "detectável" (VET & DICKE, 1992) e os autores propõem três maneiras pelas quais um parasitóide pode superar este problema. Em primeiro lugar o parasitóide pode fazer um desvio através da detecção de sinais mais evidentes de fases do hospedeiro diferente do que um sob ataque. Uma segunda opção é focar a sua procura sobre as substâncias químicas criadas pela interação do hospedeiro e alimento e, por último, através da experiência, os parasitóides podem aprender a ligação entre estímulos que são fáceis de detectar, com confiança, com aqueles mais difíceis.

2.3.5 Papel dos Compostos Voláteis das Plantas nas Interações Tritróficas

As interações tritróficas envolvendo planta – herbívoro – inimigo natural são amplamente distribuídas no reino vegetal. Este fenômeno tem sido relatado em mais de 23 espécies de plantas em combinação com uma gama diversificada de espécies herbívoras e inimigos naturais (DICKE, 1999). Um dos exemplos mais bem estudados para este tipo de interação tritrófica inclui interações entre plantas de feijão fava (*Phaseolus lunatus*), ácaros herbívoros (*Tetranychus urticae*) e ácaros carnívoros (*Phytoseiulus persimilis*). Outros sistemas são também muito bem caracterizados, para este tipo de interações tritróficas, incluindo as plantas anuais, bem como as árvores. Infestação de folhas de feijão fava por ácaros desencadeia a liberação de compostos voláteis que atraem os ácaros predadores que atacam os ácaros herbívoros (TAKABAYASHI & DICKE, 1996). Semelhante à atividade alimentar do inseto, a sua deposição de ovos pode induzir a emissão de compostos voláteis de plantas que atraem parasitóides de ovos (HILKER & MEINERS, 2002). Isso ocorre logo após a deposição de ovos pelo herbívoro, permitindo que a planta se defenda contra as pragas antes que qualquer dano aconteça, ou seja, antes que as larvas eclodam (HILKER et al., 2002). Além disso, voláteis induzidos por herbívoros e danos mecânicos liberados pelas plantas infestadas atraem predadores ou parasitóides de herbívoros nas interações

planta-lagarta-parasitóide (DICKE & van LOON, 2000) e planta-lagarta-predador (KESSLER & BALDWIN, 2001).

A alta diversidade química dentro da mistura de compostos voláteis induzida por herbivoria dificulta a identificação dos compostos realmente responsáveis pela sinalização de inimigos dos herbívoros. Em tentativas anteriores de dissecar os sinais voláteis emitidos por folhas danificadas por herbívoros em feijão fava (DICKE et al., 1990) e milho (TURLINGS et al., 1991a e 1991b) não conseguiram identificar o composto específico responsável pela atração do inimigo, sugerindo que o sinal ativo é constituído por uma mistura de compostos. No entanto, ficou demonstrado que a aplicação individual de compostos voláteis de plantas, tais como o salicilato de metila e 4, 8,12-trimetil-1, 3 (*E*), 7 (*E*), 11-tridecatetraeno [(*E*, *E*)-TMTT], em experimentos comportamentais podem atrair ácaros predadores (DE BOER et al., 2004). Os progressos recentes no isolamento de genes que codificam enzimas responsáveis pela formação de compostos voláteis de plantas permitiram a utilização da engenharia genética como uma ferramenta inovadora para investigar o papel de cada um dos compostos na sinalização mediando interações tritróficas. A atração do ácaro predador *P. persimilis* para o álcool sesquiterpeno (3*S*) - (*E*)-nerolidol foi recentemente demonstrado em plantas transgênicas de *Arabidopsis* (KAPPERS et al., 2005). Estes resultados sugerem que (3*S*) - (*E*)-nerolidol é um componente do sinal volátil que atrai os ácaros predadores para plantas infestadas por ácaro. A superexpressão em *Arabidopsis thaliana* usando outro gene da síntese de terpeno, o gene TPS10 do milho, que forma (*E*)- β -farneseno, (*E*)- α -bergamoteno, e outros sesquiterpenos liberados a partir de milho danificado por larvas de lepidópteros, aumentaram a atratividade destas plantas transgênicas para as vespas parasitóides *Cotesia marginiventris* (SCHNEE et al., 2006). Os bioensaios de comportamento, conduzidos com olfatômetro, com vespas indicaram que a mistura de sesquiterpenos pode ser um verdadeiro sinal de atração para estes parasitóides em milho danificado por herbívoro. Estes exemplos mostram que, uma vez que os genes envolvidos na biossíntese para a formação de voláteis sejam conhecidos, as plantas transgênicas têm um grande potencial para fornecer voláteis para bioensaios, que permitirão a identificação do potencial funcional dos sinais, individualmente ou em combinações, envolvidos nas interações entre os organismos.

3. OBJETIVOS

Investigar a ação dos compostos orgânicos voláteis na interação tritrófica entre o pimentão *Capsicum* spp., o pulgão *A. gossypii* e seu parasitóide *A. colemani*;

Estudar a ação da *cis*-jasmona na interação tritrófica entre o pimentão, o pulgão *A. gossypii* e o parasitóide *A. colemani* e seu papel na ativação do mecanismo de defesa do vegetal.

Para isso, os seguintes objetivos específicos foram estabelecidos:

Avaliar a susceptibilidade de cultivares de pimentão, de diferentes fontes de material genético, ao afídeo *A. gossypii*.

Selecionar os cultivares mais resistentes e os mais susceptíveis ao *A. gossypii*;

Determinar os compostos voláteis emitidos das plantas sob ação do *A. gossypii*;

Estudar a ação dos compostos voláteis sobre o comportamento de *A. gossypii* e do seu parasitóide *A. colemani*;

Estudar a ação da *cis*-jasmona sobre o cultivar de pimentão suscetível ao ataque do *A. gossypii*;

Determinar os compostos voláteis emitidos das plantas após tratamento com *cis*-jasmona;

Estudar a ação dos compostos voláteis emitidos pelas plantas após tratamento com *cis*-jasmona sobre o comportamento do pulgão *A. gossypii* e seu parasitóide *A. colemani*;

Determinar a existência de variabilidade genética entre genótipos de pimentão em relação aos compostos orgânicos voláteis.

4- MATERIAL E MÉTODOS GERAL

4.1 – Plantas

As sementes das cultivares de pimentão, *Capsicum* spp. utilizadas nos ensaios foram obtidas das empresas Feltrin e Isla, ambas do Rio Grande do Sul: Pimenta Malagueta, Pimenta Dedo de Moça, Pimenta Malaguetinha, Pimentão Yolo Wonder, Pimentão Comprido Amarelo, Pimentão Vermelho, Pimentão All Big, Pimentão Italiano Amarelo, Pimentão Cambuci, Pimenta Luna, Pimenta Bico, Pimentão Casca dura Ikeda, Pimentão Itapuã 501 e Pimentão Amarelo Satrapo. As plantas foram cultivadas em casa-de-vegetação com temperatura de $27 \pm 2^\circ \text{C}$, Umidade Relativa de $75 \pm 5\%$ e 12 horas de fotoperíodo (Figura 9).



Figura 9 - Casa de vegetação da Embrapa Tabuleiros Costeiros/Unidade de Execução de Pesquisa de Rio Largo, Alagoas. (Foto: João Gomes da Costa, 2008).

4.2 – Obtenção e criação do pulgão e parasitóide

Os pulgões *A. gossypii* foram criados em plantas de pimentão cultivar Yolo Wonder em casa de vegetação (Figura 9) com temperatura e luminosidade naturais e ficaram protegidas em gaiolas (1,0 x 1,0 x 0,5m). Os parasitóides *A. colemani* foram criados utilizando-se os afídeos em plantas de pimentão Yolo Wonder como alimentação, também em gaiolas como a descrita anteriormente.

4.3 – Avaliação de cultivares

Foram realizados dois ensaios com diferentes genótipos de *Capsicum*. No primeiro foi utilizado onze cultivares e no segundo foram utilizados sete cultivares provenientes das Empresas de sementes Feltrin e Isla. Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação da Embrapa Tabuleiros Costeiros/UEP Rio Largo, em Rio Largo, Alagoas (Latitude 9° 29' 45'' S, Longitude 35° 49' 54'' O e 165 m de altitude) durante os meses de janeiro a abril e outubro a dezembro de 2008.

As sementes de cada genótipo foram semeadas em copos plásticos com 500 mL de capacidade, preenchidos com substrato comercial (Figura 10). Colocaram-se duas sementes por copo e, posteriormente foi feito desbaste deixando-se uma planta por copo. A irrigação foi realizada diariamente, sem molhar as folhas. O delineamento experimental utilizado foi blocos completos casualizados com 11 e 7 tratamentos, respectivamente para o primeiro e segundo ensaio, e quatro repetições, sendo a parcela experimental representada por uma planta por copo.



Figura 10 – Plantas das cultivares isoladas em gaiola com tela anti-afídica. (Foto: João Gomes da Costa, 2008).

Sessenta dias após o plantio as plantas foram infestadas com dez fêmeas adultas, do *A. gossypii* por planta e individualizadas em gaiolas, numa proporção de 11 plantas por gaiola, com as dimensões: 1,0 x 1,0 x 0,5m. A partir do momento da infestação,

decorridos cinco dias, foram retiradas as fêmeas adultas que infestavam as plantas, anotando-se o número remanescente de insetos em cada genótipo. Depois de decorridos cinco dias da retirada das fêmeas do pulgão das plantas, fez-se uma segunda avaliação contando-se as ninfas, sem separá-las por instar. Os insetos utilizados para a infestação foram retirados de criações mantidas separadas do experimento.

4.4 – Coleta de compostos voláteis e Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas

Os compostos voláteis foram coletados das plantas infestadas e não-infestadas por *A. gossypii* usando adsorvente Porapak Q (80/100 mesh, 0,05 g; Supelco). As plantas foram colocadas dentro de sacos de poliéster utilizado em microondas e freezer como descrito por STEWART_JONES & POPPY (2006), isolando o vaso com papel alumínio (Figuras 11 e 12). Ar foi injetado no saco plástico passando antes por um filtro de carvão ativado a um fluxo de 400 mL/min. por planta. Tubos com o Porapak Q foram utilizados no topo do saco e o ar coletado a uma vazão de 400 mL/min. para cada planta. As plantas ficaram sendo aeradas por 24 horas. Ao término das aerações a dessorção foi realizada passando 500 µL de éter dietílico nos tubos contendo o Porapak Q e armazenado a -20°C até injeção em um sistema de cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massa (GC/MS) QP5050A , usando DB-5 column (30m x 0.25 mm id x 0.25 µm); J&W Scientific e hélio como gás carreador. Os parâmetros usados para as análises iniciaram com velocidade de temperatura variando de 30°C to 250 °C com uma taxa de 8 °C/min. As temperaturas do injetor e detector foram 250 °C e 280 °C respectivamente. Os compostos foram identificados por comparação automática usando o banco de dados Wiley MS (Wiley Class 5000, sexta edição) usando o GCMSolution software. Somente os compostos com espectros de massa superior a 85% de similaridade com os espectros de referência foram considerados.

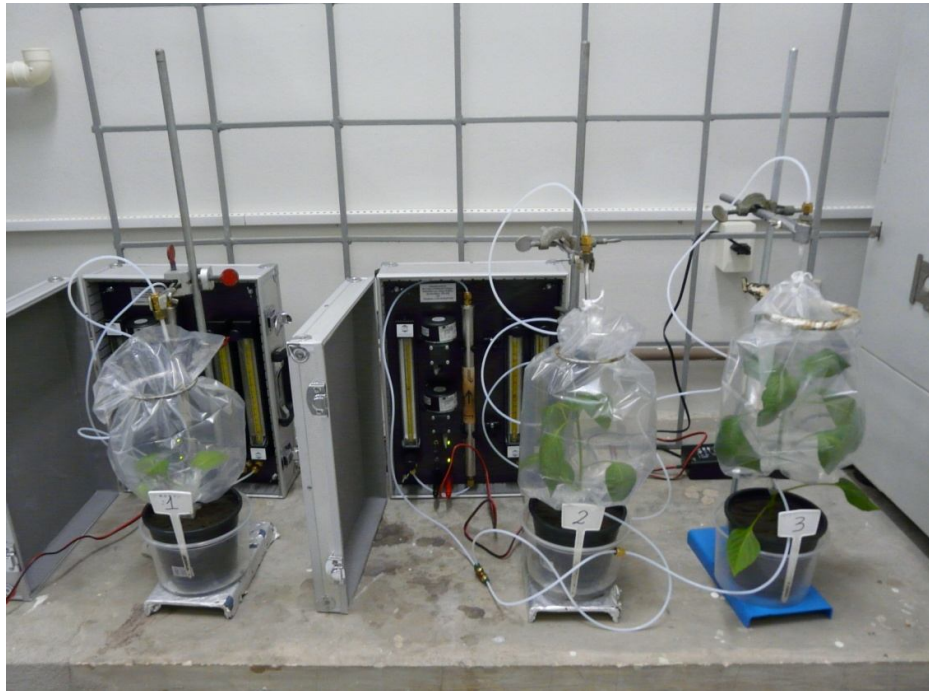


Figura 11 – Coleta de voláteis das plantas de pimentão. (Foto: João Gomes da Costa, 2008)

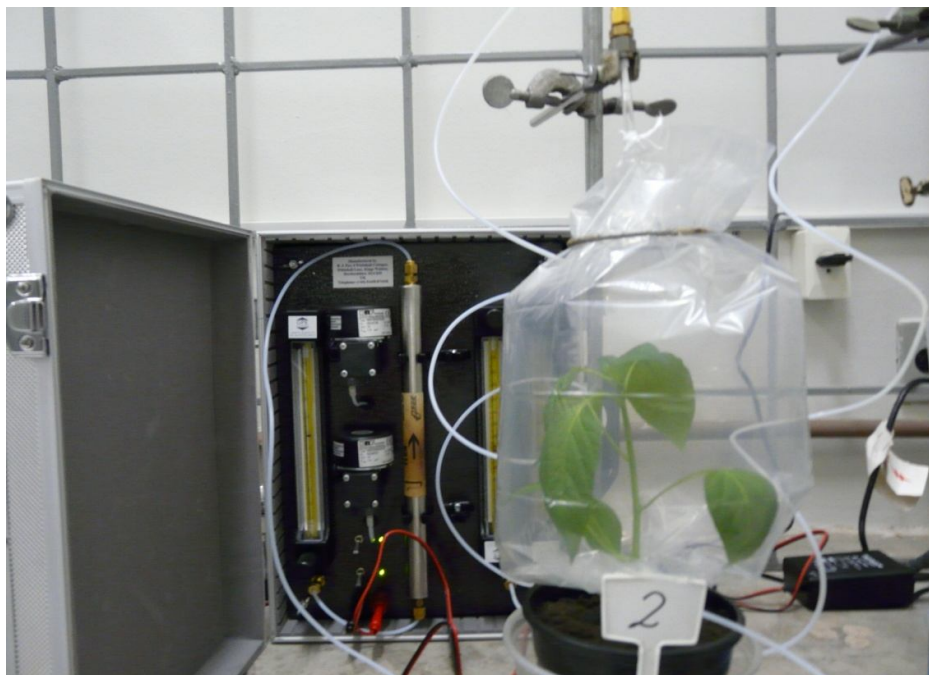


Figura 12 – Detalhe da coleta de voláteis em planta de pimentão. (Foto: João Gomes da Costa, 2008)

4.5 – Bioensaios com olfatômetro

Ensaio comportamentais com afídeos e parasitóides foram conduzidos usando os extratos contendo os constituintes voláteis extraídos do cultivar de pimentão All Big (considerada suscetível ao *Aphis gossypii*) e Cambuci (considerada resistente ao *A. gossypii*). Testes comportamentais foram realizados utilizando olfatômetro de quatro braços (PETTERSSON, 1970) (Figuras 13, 14 e 15) iluminado com uma lâmpada difusa uniforme e com temperatura de 25 ± 2 °C. A parte inferior do aparelho foi forrada com papel filtro (Whatman Nº 1), e o ar foi sugado a uma razão de 350 mL/min. dos quatro braços em direção ao centro do aparelho. Os insetos foram introduzidos na câmara pelo orifício central, e o tempo gasto e o número de entradas em cada braço foram registrados usando o software OLFA durante um período de 16 min. O aparelho foi girado a cada 4 minutos para eliminar o viés direcional. Aliquotas (10 µL) das amostras foram aplicadas a uma tira de papel filtro, e o solvente era deixado evaporar-se durante 30 s. O papel filtro era então colocado no final do braço do lado tratado. Os três braços controle foram igualmente tratados com 10 µL de éter dietílico em papel de filtro. Cada experimento foi repetido 20 vezes e os resultados analisados por estatística não-paramétrica (teste de Wilcoxon). A média de tempo gasto nos braços do tratamento foi comparada com a média de tempo gasto nos braços dos controles.

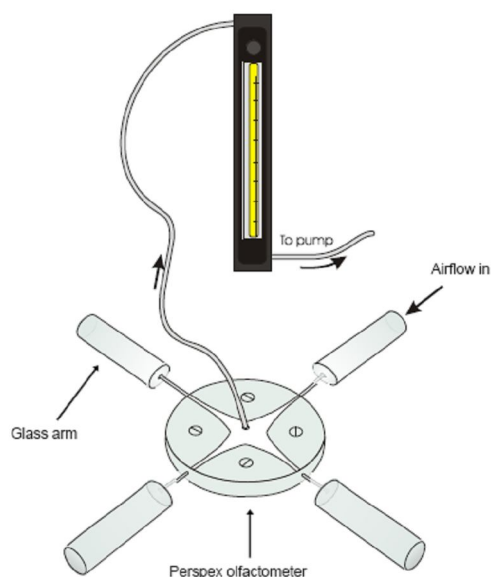


Figura 13 – Esquema ilustrando o olfatômetro de quatro braços

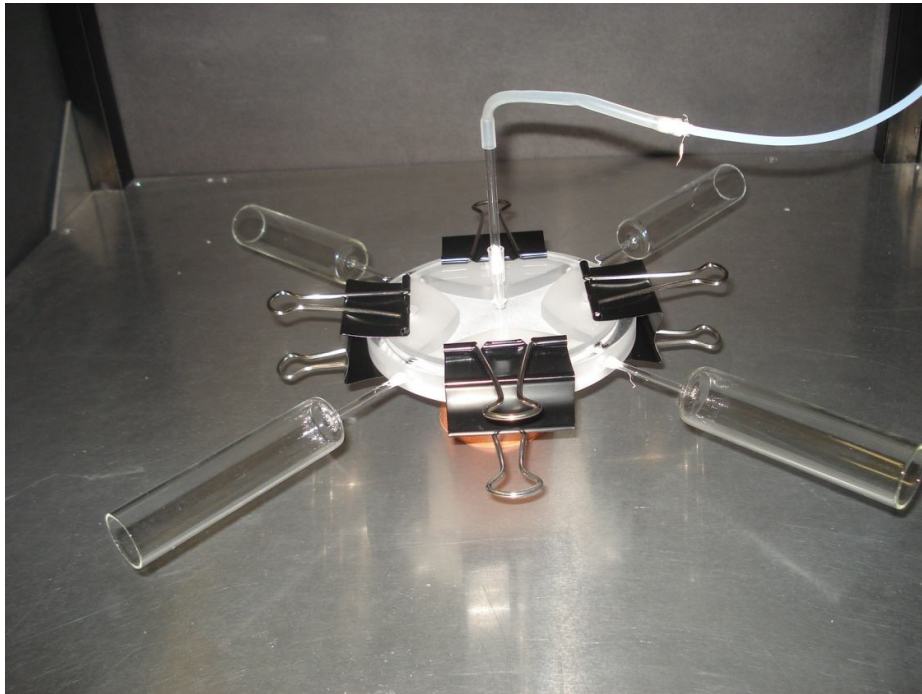


Figura 14– Detalhe do olfatômetro de 4 braços. (Foto: João Gomes da Costa, 2008)



Figura 15– Detalhe do bioensaio com olfatômetro de 4 braços. (Foto: João Gomes da Costa, 2009)

4.6 – Aplicação de *cis*-jasmona

Cada planta foi alocada aleatoriamente em um dos seguintes tratamentos: tratada e não-tratada com *cis*-jasmona. Plantas tratadas com *cis*-jasmona foram pulverizadas com um pulverizador manual em uma dosagem de 50 g ha⁻¹ em uma emulsão com Tween 20 ou 125 µL de *cis*-jasmona em 0,5 L de água e 0,5 µL de Tween 20. As plantas não tratadas foram pulverizadas com água destilada.

4.7 – Análises estatísticas

4.7.1 – Avaliação das cultivares em relação à infestação do *A.gossypii*

Os dados de número de pulgões por planta foram transformados pela fórmula $\sqrt{x+1}$, submetidos à análise de variância e aplicou-se o teste de Scott-Knott para comparações de médias.

4.7.2 – Bioensaios de olfatometria

Para comparar os resultados entre os tratamentos impostos e o controle foi utilizada análise não-paramétrica através do teste de Wilcoxon.

4.7.3 - Efeito da aplicação de *cis*-jasmona em plantas de pimentão sobre a incidência de pulgões em casa de vegetação.

O experimento foi instalado em delineamento de blocos ao acaso no sentido da linha utilizando-se 15 plantas dispostas em três fileiras (5 plantas em cada fileira) adaptando recomendações de LORENTZ et al. (2005) e LORENTZ & LÚCIO (2009). Foram testados dois tratamentos (plantas controle e plantas tratadas com *cis*-jasmona) em 15 blocos ou repetições. As parcelas obedeceram a uma distância de 3 m uma das outras. Foram utilizadas as plantas da fileira central como parcela útil. A *cis*-jasmona foi aplicada em plantas com 60 dias após o transplântio na dosagem de 50 g/ha. A avaliação

da incidência de pulgões foi realizada sete dias após a aplicação da cis-jasmona, coletando-se três folhas de cada planta para contagem em laboratório.

Os dados foram transformados com a equação $\sqrt{x+1}$ e submetidos à análise de variância, utilizando-se o programa de computador SAEG.

4.7.4 - Análise geral dos compostos voláteis

Foi realizada uma caracterização das cultivares em relação ao número de compostos orgânicos voláteis produzidos antes da infestação e após a infestação. Nessa caracterização procurou-se quantificar os compostos presentes em cada cultivar da seguinte forma: a) presentes somente antes da infestação, b) presentes somente após a infestação, c) presentes antes e após a infestação. Além disso, verificou-se em cada cultivar e para cada composto se o mesmo foi modificado pela ação da herbivoria (aumentou ou diminuiu a área relativa). Para esses dados aplicou-se o teste Q de Cochran para detectar a existência de significância.

4.7.5 - Análise individual dos compostos voláteis

A comparação das emissões de compostos voláteis individuais foi realizada para as cultivares com e sem infestação. Uma análise de variância foi realizada considerando os valores registrados para cada composto químico encontrado em cada repetição (representada como a proporção de um determinado produto químico para o respectivo montante total emitido por aquela repetição). Quando foram detectadas diferenças significativas aplicou-se o teste de comparação múltipla de Scott and Knott.

4.7.6 - Análise multivariada

Técnicas estatísticas multivariadas foram utilizadas com a finalidade de determinar a existência de variabilidade genética entre as cultivares de pimentão em relação aos compostos orgânicos emitidos antes e após a infestação por *A. gossypii*. Para isso aplicaram-se técnicas multivariadas como análise de componentes principais com

os cultivares sendo agrupados pelo método de Tocher (CRUZ & REGAZZI, 2001). As análises foram realizadas com o auxílio do software Genes (CRUZ, 2006).

5. REFERÊNCIAS

AGELOPOULOS, N.; BIRKETT, M.A.; HICK, A.J.; HOOPER, A.M.; PICKETT, J.A.; POW, E.M.; SMART, L.E. Exploiting semiochemicals in insect control. **Pesticide Science**, v.55, p. 225-235, 1999.

ALBORN, H.T.; TURLINGS, T.C.J.; JONES, T.H.; STENHAGEN, G.; LOUGHRIN, J.H.; TUMLINSON, J.H. An elicitor of plant volatiles from beet armyworm oral secretion. *Science*, v.296, p.945-949, 1997.

ANVISA (2010) Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos – PARA 2009. www.anvisa.gov.br

AZEVEDO, C.P.; CAFÉ FILHO, A.C.; HENZ, G.P.; REIS, A. Pimentão: Antracnose arrasadora. **Cultivar HF**, 18-20, 2005.

BARENDSE, G.W.M.; CROES, A.F.; van ENDEM, G.; BOSVELD, M.; CREEMERS, T. Role of hormones on flower bud formation in thin-layer explant of tobacco. **Biologia Planarum**, v. 27, p.408–412, 1985.

BATTAGLIA, D.; POPPY, G.; POWELL, W.; ROMANO, A.; TRANFAGLIA, A.; PENNACCHIO, F. Physical and chemical cues influencing the oviposition behavior of *Aphidius ervi*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 94, p.:219-227, 2000.

BIRKETT, M.A.; CAMPBELL, C.A.M.; CHAMBERLAIN, K.; GUERRIERI, E.; HICK, A.J.; MARTIN, J.L.; MATTHES, M.; NAPIER, J.A.; PETTERSSON, J.; PICKETT, J.A.; POPPY, G.M.; POW, E.M.; PYE, B.J.; SMART, L.E.; WADHAMS, G.H.; WADHAMS, L.J.; WOODCOCK, C.M. New roles for cis-jasmone as an insect semiochemical and in plant defense. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. v.97, p.9329-9334, 2000.

BLACKMAN, R.L.; EASTOP, V.F. Aphids on the World's Crops: An Identification and Information Guide. Chichester, UK: John Wiley & Sons Ltd. 2000.

BLACKMAN, R.L.; EASTOP, V.F. Aphids on the world's crops: an identification guide. Wiley, Chichester, 1984.

BLACKMAN, R.L.; EASTOP, V.F. Taxonomic issues. In: Aphids as Crop Pests (van Emden HF, Harrington R, eds). Oxfordshire, UK:CABI, 2007.

BLAT, S.F.; BRAZ, L.T.; ARRUDA, A. da S. Avaliação de híbridos duplos de pimentão. **Horticultura Brasileira**, v.25, p.350-354, 2007.

BRUCE, T.J.A.; MARTIN, J.L.; PICKETT, J.A.; PYE, B.J.; SMART, L.E.; WADHAMS, L.J. cis-Jasmone treatment induces resistance in wheat plants against the grain aphid, *Sitobion avenae* (Fabricius) (Homoptera: Aphididae). **Pest Management Science**, v. 59, p.1031–1036, 2003a.

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

BROOKES, G.; BARFOOT, P. GM crops: The first ten years – global socio-economic and environmental impacts. In: ISAAA Brief. Ithaca, USA: International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications. p.116, 2006.

BRUIN, J.; SABELIS, M.W. Meta-analysis of laboratory experiments on plant–plant information transfer. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 29, p.1089-1102, 2001.

BUENO, V.H.P. Protected cultivation and research on biological control of pests in greenhouses in Brazil. Bulletin IOBC/WPRS, v.22, p.21-24, 1999.

CARVALHO, S.I.C.; BIANCHETTI, L.B.; BUSTAMANTE, P.G.; SILVA, D.B. **Catálogo de germoplasma de pimentas e pimentões (Capsicum spp.) da Embrapa Hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças. 49p, 2003.

CHAMBERLAIN, K.; GUERRIERI, E.; PENNACCHIO, F.; PETERSON, J.; PICKETT, J.A.; POPPY, G.M.; POWELL, W.; WADHAMS, L.J.; WOODCOCK, C.M. Can aphid-induced plant signals be transmitted aurally and through the rhizosphere? **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 29, p.1063–1074, 2001.

CHAMBERLAIN, K.; PICKETT, J.A.; WOODCOCK, C.M. Plant signaling and induced defence in insect attack. **Molecular Plant Pathology**, v.1, p.67-72, 2000.

CLARK, E.A.; LEHMAN, H. Assessment of GM crops in commercial agriculture. **Journal of Agricultural and Environmental Ethics**. v.14, p.3-28, 2001.

CRUZ CD. Programa Genes versão Windows. Aplicativo Computacional em Genética e Estatística. Viçosa: UFV. 2006

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: UFV. 2001.

DE BOER, J. G.; POSTHUMUS, M.A.; DICKE, M. Identification of volatiles that are used in discrimination between plants infested with prey or nonprey herbivores by a predatory mite. **Journal of Chemical Ecology**, v.30, p.2215-2230, 2004.

DEGUINE, J. P. **Bioécologie et épidémiologie du puceron *Aphis gossypii* glover, 1877 (Hemiptera: Aphididae) sur cotonnier en afrique centrale, Vers une évolution de la protection phytosanitaire**. 1995. 124 f Tese Doutorado, École Nationale Superior de Agriculture, Montpellier, França.

DICKE, M. Specificity of herbivore-induced plant defences. In: Chadwick DJ, Goode JA (eds.) *Insect-plant interactions and induced plant defence*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester. 1999.

DICKE, M.; DIJKMAN, H. Within-plant circulation of systemic elicitor of induced defense and release from roots of elicitor that affects neighboring plants. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.29, p. 1075–1087, 2001.

DICKE, M.; SABELIS, M. Infochemical terminology: Based on cost-benefit analysis rather than origin of compounds? **Functional Ecology**. v. 2, p. 131-139, 1988.

DICKE, M.; van LOON, J.J.A. Multitrophic effects of herbivore-induced plant volatiles in an evolutionary context. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 97, p. 237–249. 2000.

- DIXON, A.F.G. Biology of aphids. London, UK: Edward Arnold Limited. 1973.
- DIXON, A.F.G.; HORTH, S.; KINDLMANN, P. Migration in insects: cost and strategies. **Journal of Animal Ecology**, Oxford, v.62, n.1, p.182-190, 1993.
- DIXON, A.F.G.; KINDLMANN, P.; LEPS, J.H. Why there are so few species of aphids, especially in the tropics. **The American Naturalist**, v.129, p. 580-592, 1987.
- DORN, S.; BECKAGE, N.E. Superparasitism in gregarious hymenopteran parasitoids: Ecological, behavioural and physiological perspectives. **Physiological Entomology**, v. 32, p. 199-211, 2007.
- DUDAREVA, N.; NEGRE, F.; NAGEGOWDA, D. A.; ORLOVA, I. Plant volatiles: recent advances and future perspectives. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 25, 417-440. 2006.
- DU, Y.J.; POPPY, G.M.; POWELL, W.; WADHAMS, L.J. Chemically mediated associative learning in the host foraging behavior of the aphid parasitoid *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Braconidae). **Journal of insect Behavior**. v. 10, p. 509-522. 1997.
- EBADAH, I.M.A.; MAHMOUD, Y.A.; MOAWAD, S.S. Susceptibility of some *Faba bean* cultivars to Field infestation with some insect pests. **Resources Journal Agronomy Biology Sciences**, v. 2, p. 537-540, 2006.
- EILENBERG, J.; HAJEK, A.E.; LOMER, C. Suggestions for unifying the terminology in biological control. **Biocontrol**, v. 46, p. 387-400, 2001.
- EL-AMRI, A. Identification of vectors and natural hosts of Faba Bean Necrotic Yellow Virus in Morocco. Al Awamia, p. 27-31, 1999.
- FAN, L.; ZHENG, S.; WANG, X. Antisense suppression of PLD retards abscisic acid- and ethylene-promoted senescence in postharvest *Arabidopsis* leaves. **Plant Cell**, v. 9, p. 2183-2196. 1997.

FERNANDES, A. M. V., FARIAS, A. M. I., SOARES, M. M. M. et al. Development of *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) in three cultivars of herbaceous cotton (*Gossypium hirsutum* L. r. *latifolium* Hutch. **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 3, p.467-470, 2001.

FISCHER, S.; SAMIETZ, J.; DORN, S. Efficiency of vibrational sounding in parasitoid host location depends on substrate density. **Journal of Comparative Physiology**, v. 189, p. 723-730, 2003.

FONTES, R.R. Apresentação. In: **Doenças do pimentão: diagnose e controle**. Brasília: Embrapa Hortaliças, p. 96. 2003.

FRANTZ, J.D.; GARDNER, J.; HOFFMANN, M.P.; JAHN, M.M. Green-house screening of *Capsicum* accessions for resistance to green peach aphid (*Myzus persicae*). **Horticultural Science**, v. 39, p. 1331-1335, 2004.

FRIZZONE, J.A.; GONÇALVES, A.C.A.; REZENDE, R. Produtividade do pimentão amarelo, *Capsicum annuum* L., cultivado em ambiente protegido, em função do potencial mátrico de água no solo. **Acta Scientiarum**, Maringá, v.23, n.5, p.1111-1116, 2001.

GALLO, D. et al. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.

GATEHOUSE, J.A. Plant resistance towards insect herbivores: a dynamic interaction. **New Phytology**. V.156, p.145-169.

GODGRAY, H.C.J. Parasitoids. Behavioural and Evolutionary Ecology. Princeton, USA: Princeton University Press. 1994.

GOPALAPILLAI, R.; KADONO-OKUDA, K.; OKUDA, T. Molecular cloning and analysis of a novel teratocyte-specific carboxylesterase form the parasitic wasp, *Dinocampus coccinellae*. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**. v. 35, p. 1171-1180. 2005.

HAGVAR, E.B.; HOF SVANG, T. Aphid parasitoids (Hymenoptera, Aphididae): Biology, host selection and use in biological control. **Biocontrol News and Information**. v. 12, p. 13-41. 1991.

HAJEK, A.E. Natural Enemies. An Introduction to Biological Control. Cambridge University Press. 2004.

HEIL, M.; KOST, C. Priming in indirect defences, *Ecology Letters*, v. 9, p. 813-817. 2006.

HENNEBERRY, T.J.; JECH, L.F. Cotton aphid biology and honeydew production. **Southwestern Entomologist**, v.25, n.3, p. 161-174. 2000.

HILKER, M.; ROHFRITSCH, O.; MEINERS, T. The plant's response towards insect egg deposition. In: *Chemoecology of Insect Eggs and Egg Deposition* (eds Hilker, M. and Meiners, T.), Blackwell Publishers, Berlin, 2002. p. 205-233.

HILKER, M.; MEINERS, T. Induction of plant response to oviposition and feeding by herbivorous arthropods: A comparison. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v.104, p.181-192. 2002.

HOF SVANG, T.; HAGVAR, E. Duration of development and longevity in *Aphidius ervi* and *Aphidius platensis* (Hym.: Aphididae), two parasitoids of *Myzus persicae* (Hom.: Aphididae). **Entomophaga**. v. 20, p. 11-22. 1975.

HOF SVANG, T.; HAGVAR, E. Cold storage and supercooling points of mummies of *Ephedrus cerasiola* Starý and *Aphidius colemani* Viereck (Hym. Aphididae). **Norwegian Journal of Entomology**. v. 24, p. 1-6. 1977.

HOGERVORST, P.A.M.; WACKERS, F.L.; ROMEIS, J. Effects of honeydew sugar composition on the longevity of *Aphidius ervi*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**. v. 122, p. 223-232. 2007.

INOUE-NAGATA, A.K.; FONSECA, M.E.N.; LOBO, T.O.T.A.; ÁVILA, A.C.; MONTE, D.C. Analysis of the nucleotide sequence of the coat protein and 3' untrans

lated region of two Brazilian *Potato virus Y* isolates. **Fitopatologia Brasileira** v. 26, p. 45-52. 2001.

INOUE-NAGATA, A.K.; FONSECA, M.E.N.; RESENDE, R.O.; BOITEUX, L.S.; MONTE, D.C.; DUSI, A.N.; ÁVILA, A.C.; VAN, D.E.R.; VLUGT, R.A.A. *Pepper yellow mosaic virus*, a new potyvirus in sweet pepper, *Capsicum annuum*. **Archives of Virology**. v.147, p. 849-855. 2002.

ISIKBER, A.A. Functional response of two Coccinellid predators, *Scymnus levaillanti* and *Cycloneda sanguinea*, to the Cotton Aphid, *Aphis gossypii*. **Turk Journal Agricultural Forest**, v. 29, p. 347-355, 2005.

JUTSUM, A. R.; HEANEY, S.P., PERRIN, B.M.; WEGE, P.J. Pesticide resistance: assessment of risk and the development and implementation of effective management strategies. **Pesticide Science**, v .54, p. 435-446. 1998.

KALULE, T.; WRIGHT, D.J. The influence of cultivar and cultivar-aphid odours on the olfactory response of the parasitoid *Aphidius colemani*. **Journal of Applied Entomology**, v. 128, p.120-125. 2004.

KAPPERS, I.F.; AHARONI, A.; van HERPEN, T.W.JM.; LUCKERHOFF, L.L.P.; DICKE, M.; BOUWMEESTER, H.J. Genetic engineering of terpenoid metabolism attracts bodyguards to Arabidopsis. **Science**, v. 309, p. 2070-2072. 2005.

KARBAN, K. Communication between sagebrush and wild tobacco in the field. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 29, p. 995–1005. 2001.

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

KESSLER, A.; BALDWIN, I.T. Plant-mediated tritrophic interactions and biological pest control. **AgBiotechNet**, v. 4, p. 1-6, 2002.

KHAN, Z. R. et al. Exploiting chemical ecology and species diversity: stem borer and striga control for maize and sorghum in Africa. **Pest Management Science**, v.56, p.957-962. 2000.

KIFT, N.B.; SIME, S.; REYNOLDS, K.A.; JONES, J.E.; TATCHELL, G.M. *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) controls *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) despite behavioural differences between aphid clones that are associated with MACE-based insecticide resistance. **Biocontrol Science and Technology**, v. 15, p. 97-103. 2005.

KODA, Y. Possible involvement of jasmonates in various morphogenic events. **Physiology Plant**, v. 100, p. 639-646. 1997.

KOUL, O.; CUPERUS, G.W. Ecologically based integrated pest management: Present concept and new solutions. In: Ecologically Based Integrated Pest Management (Koul O, Cuperus G, eds). Wallingford, UK: CABI. 2007.

KRODER, S.; SAMIETZ, J.; DORN, S. Temperature affects interaction of visual and vibrational cues in parasitoid host location. **Journal of Comparative Physiology**, v. 193, p. 223-231. 2007.

LARA, F.M.; SILVA, E.A.; BOIÇA JUNIOR, A.L. Resistência de genótipos de batata, *Solanum spp.*, a afídeos (Homoptera: Aphididae) e influência sobre parasitóides. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 28, p. 721-728. 1999.

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

LEITE, M. V. Biologia de *Aphis gossypii* Glover, 1877 (Hemiptera: Aphididae) em cultivares de *Cucurbita* spp, e sua interação com o predador *Ceraeochrysa cubana* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae). 2006. 64 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Lavras- Lavras.

LOPES, C.A.; ÁVILA, A.C. *Doenças do pimentão: diagnose e controle*. Brasília: Embrapa Hortaliças, p. 96. 2003.

LO PINTO, M.; WAJNBERG, E.; COLAZZA, S.; CURTY, C.; FAUVERGUE, X. Olfactory response of two aphid parasitoids, *Lysiphlebus testaceipes* and *Aphidius colemani*, to aphid-infested plants from a distance. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 110, p.159-164. 2004.

LORENTZ, L.H.; LÚCIO, A.D. Tamanho e forma de parcela para pimentão em estufa plástica. **Ciência Rural**, v.39, n.8, p.2380-2387. 2009.

LORENTZ, L.H.; LÚCIO, A.D.; BOLIGON, A.A.; LOPES, S.J.; STORCK, L. Variabilidade da produção de frutos de pimentão em estufa plástica. **Ciência Rural**, v. 35, p.316-323. 2005.

LOUGHRIN, J.H.; MANUKIAN, A.; HEATH, R.R.; TUMLINSON, J.H. Volatiles emitted by different cotton varieties damaged by feeding beet armyworm larvae. **Journal of Chemical Ecology**, v. 21, p. 1217-1227. 1995.

LÚCIO, A.D.; SOUZA, M.F.; HELDWEIN, A.B.; LIEBERKNECHT, D.; CARPES, R.H.; CARVALHO, M.P. Tamanho da amostra e método de amostragem para avaliação de características do pimentão em estufa plástica. **Horticultura Brasileira**, v. 21, n. 2, p. 180-184. 2003.

MACIEL-ZAMBOLIM, E.; CAPUCHO, H.C.A.S.; AVIA, A.C.; INOUE-NAGATA, A.K.; KITAJIMA, E.W. Surto epidemiológico de *Pepper yellow mosaic virus* em tomateiro na região Serrana do Estado do Espírito Santo. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, p. 325-327. 2004

MARCHAND, D.; McNEIL, J.N.) Effects of wind speed and atmospheric pressure on mate searching behavior in the aphid parasitoid *Aphidius nigripes* (Hymenoptera: Aphidiidae). **Journal of Insect Behavior**, v. 13, p.187-199. 2000.

MAREDIS, K.M. Introduction and Overview. In: Integrated Pest Management in the Global Arena (Maredia KM, Dakouo D, Mota-Sanchez D, eds). Wallingford, England: CABI. 2003.

MARTINEZ, A.S.; FERNANDEZ-AHREX, V.; CORLEY, J.C. Chemical information from the fungus *Amylostereum* and host-foraging behavior in the parasitoid *Ibalia leucospoides*. **Physiological Entomology**, v. 31, p. 336-340. 2006.

McEWEN, P.; NEW, T.R.; WHITTINGTON, A.E. *Lacewings in the Crop Environment*, 1 ed. Cambridge, UK: Cambridge University Press. 2001.

METODIEV, M.V.; POPOVA, L.P.; TSONEV, T.S. Effect of jasmonic acid on the stomatal and non-stomatal limitation of leaf photosynthesis in barley leaves. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 15, p. 75–80. 1996.

MICHAUD, J.P.; MACKAUER, M. The use of visual cues in host evaluation by aphidiid wasps. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 70, p. 273. 1994.

MORAES, J.G.L.; BLEICHER, E. Preferência do pulgão-preto, *Aphis craccivora* Koch, a diferentes genótipos de feijão-de-corda, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. **Ciência Rural**, v. 37, p. 1554-1557, 2007.

MURATORI, F.; LE RALEC, A.; LOCGNAY, G.; HANCE, T. Epicuticular factors involved in host recognition for the aphid parasitoid *Aphidius rhopalosiphi*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 32, p. 579-593. 2006.

NORRIS, R.F.; CASWELL-CHEN, E.P.; KOGAN, M. *Concepts in Integrated Pest Management*. New Jersey, USA: Prentice Hall. 2003.

NOTTINGHAM, S.F.; HARDIE, J.; DAWSON, G.W.; HICK, A.J.; PICKETT, J. A.; WADHAMS, L.J.; WOODCOCK, C.M. Behavioral and electrophysiological responses of aphids to host and nonhost plant volatiles. **Journal of Chemical Ecology**, v. 17, p. 1231-1242. 1991.

PAOLETTI, M.G.; PIMENTEL, D. Environmental risks of pesticides versus genetic engineering for agricultural pest control. **Journal of Agricultural and Environmental Ethics**, v. 12, p. 279-303. 2000.

PARÉ, P.W.; TUMLINSON, J.H. De novo biosynthesis of volatiles induced by insect herbivory in cotton plants. **Plant Physiology**, v. 114, p. 1161-1167. 1997.

PARÉ, P.W.; TUMLINSON, J.H. Plant volatiles as a defense against insect herbivores. **Plant Physiology**, v. 121, p. 325-331, 1999.

PETTERSSON, J. Studies on *Rhopalosiphum padi* (L.). An aphid sex attractant. I. Biological studies. *Entomology Scandinavian*, v. 1, p. 63-73, 1970.

PETTERSSON, J. et al. Winter host component reduces colonization by bird-cherry-oat aphid, *Rhopalosiphum padi* (L.) (Homoptera, Aphididae), and other aphids in cereal fields. **Journal of Chemical Ecology**. v.20, p.2565-2574. 1994.

PICKETT, J. A.; BIRKETT, M.A.; BRUCE, T.J.A; CHAMBERLAIN, K.; GORDON-WEEKS, R.; MATTHES, M.C.; MORAES, C.B.; NAPIER, J.A.; SMART, L.E.; WADHAMS, L.J.; WOODCOCK, C.M. *Cis*-jasmone as an allelopathic agent through plant defence induction. **Pesticide Outlook**, v. 14, p. 96-98, 2005.

POPPY, G.M. GM crops: Environmental risks and non-target effects. **Trends in Plant Science**, v. 5, p. 4-6. 2000.

POPPY, G.M.; SUTHERLAND, J.P. Can biological control benefit from genetically-modified crops? Tritrophic interactions on insect-resistant transgenic plants. **Physiological Entomology**, v. 29, p. 257-268. 2004.

POWELL, G.; TOSH, C.R.; HARDIE, J. Host selection by aphids: Behavioural, evolutionary, and applied perspectives. **Annual Review of Entomology**, v. 51, p. 309-330. 2006.

POWELL, W. The identification of hymenopterous parasitoids attacking cereal aphids in Britain. **Systematic Entomology**, v. 7, p. 465-473. 1982.

POWELL, W.; PENNACCHIO, F.; POPPY, G.M.; TREMBLAY, E. Strategies involved in the location of hosts by the parasitoid *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Braconidae: Aphididae). **Biological Control**, v. 11, p. 104-112. 1998.

PRETTY, J.N.; BRETT, C.; GEE, D.; HINE, R.E.; MASON, C.F.; MORISON, J. I.L.; RAVEN, H.; RAYMENT, M.D.; van der BIJL, G.A.S. An assessment of the total external costs of UK agriculture. **Agricultural Systems**, v. 65, p. 113-136. 2000.

PRETTY, J.; LANG, T.; BALL, A.; MORISON, J. Farm costs and food miles: an assessment of the full cost of the weekly food basket. **Food Policy**, v. 30, n. 1, p. 1-20, 2005.

QUICKE, D.L.J. Parasitic Wasps. London, UK: Chapman & Hall. 1997.

REIFSCHNEIDER, F.J.B. Capsicum. Pimentos e pimentões no Brasil. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia/Embrapa Hortaliças, 2000. 113p.

RIBEIRO, C.S. da C. Pesquisa em *Capsicum* spp. na Embrapa. In: ENCONTRO NACIONAL DO AGRONEGÓCIO PIMENTA (*Capsicum* spp.), 1. Brasília, DF, (CDROM). 2004.

SANIEWSKI, M.; CZAPSKI, J.; NOWACKI, J. Relationship between stimulatory effect of methyl jasmonate on ethylene production and 1-aminocyclopropane-1 carboxylic acid content in tomatoes. **Biologia Plantarum**, v. 29, p. 17-21. 1987.

SANTANA, M.J.; CARVALHO, J.A.; FAQQUIN, V.; QUEIROZ, T.M. Produção do pimentão (*Capsicum annuum* L.) irrigado sobre diferentes tensões de água no solo e doses de cálcio. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, p. 1385-1391. 2004.

SANTOS, W. J. Manejo das pragas do algodão com destaque para o cerrado brasileiro. In: FREIRE, E. C. **Algodão no cerrado do Brasil**. Brasília: Associação Brasileira dos Produtores de Algodão, 2007. Cap. 12, p.403-478.

SCHNEE, C.; KÖLLNER, T.G.; HELD, M.; TURLINGS, T.C.J.; GERSHENZON, J.; DEGENHARDT, J. The products of a single maize sesquiterpene synthase form a volatile defense signal that attracts natural enemies of maize herbivores. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, p. 1129-1134. 2006.

SILVA-FILHO, M.C.; FALCO, M.C. Interação planta-inseto: Adaptação dos insetos aos inibidores de proteinases produzidos pelas plantas. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v.2, n.12, p.38-42, 2000.

STARÝ, P. *Aphidius colemani* Viereck: its taxonomy, distribution, and host range. **Acta Entomologica Bohemoslovaca**, v. 72, p.156-163. 1975.

STEIDLE, J.L.M.; van LOON, J.J.A. Dietary specialization and infochemical use in carnivorous arthropods: Testing a concept. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 108, p. 133-148. 2003.

STEINER, S.; ERDMANN, D.; STEIDLE, J.L.M.; RUTHER, J. Host habitat assessment by a parasitoid using fungal volatiles. **Frontiers in Zoology**, v. 4, p. 3. 2007.

STEWART-JONES, A.; POPPY, G.M. Comparison of glass vessels and plastic bags for enclosing living plant parts for headspace analysis. **Journal of Chemical Ecology**, v. 32, p. 845-864. 2006.

STORECK, A. Learning and memory in the aphid parasitoid *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae) (Ph.D). Reading, UK: The University of Reading. 2002.

TAKABAYASHI, J.; DICKE, M. Plant-carnivore mutualism through herbivore-induced carnivore attractants. **Trends Plant Science**. v. 1, p. 109-113. 1996.

TARDIEUX, I.; RABASSE, J.M. Host-parasite relationships in the case of *Aphidius colemani*. In: Ecology of Aphidophaga (Hodek I,ed). Prague, Check Republic: W. Junk; p.125-135. 1986.

THALER, J.S.; STOUT, M.J.; KARBAN, R.; DUFFEY, S.S. Exogenous jasmonates simulate insect wounding in tomato plants (*Lycopersicon esculentum*) in the laboratory and field. **Journal of Chemical Ecology**, v. 22, p. 1767-1781. 1996.

TURLINGS, T.C.J.; BERNASCONI, M.; BERTOSSA, R.; BIGLER, F.; CALOZ, G.; DORN, S. The induction of volatile emissions in maize by three herbivore species with different feeding habitats: Possible consequences for their natural enemies. **Biological Control**, v. 11, p. 122-129. 1998.

TURLINGS, T.C.J.; TUMLINSON, J.H.; ELLER, F.J.; LEWIS, W.J. Larval-damaged plants: Source of volatile synomones that guide the parasitoid *Cotesia marginiventris* to the microhabitat of its hosts. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 58, p. 75-82. 1991a.

TURLINGS, T.C.J.; TUMLINSON, J.H.; HEATH, R.R.; PROVEAUX, A.T.; DOOLITTLE, R.E. Isolation and identification of allelochemicals that attract the larval parasitoid, *Cotesia marginiventris* (Cresson), to the microhabitat of one of its hosts. **Journal Chemical Ecology**, v. 17, p. 2235-2251. 1991b.

TURLINGS, T.C.J.; LOUGHRIN, J.H.; McCALL, P.J.; ROSE, U.S.R.; LEWIS, W.J.; TUMLINSON, J.H. How caterpillar-damaged plants protect themselves by attracting parasitic wasps. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United State America.**, v. 92, p. 4169-4174. 1995.

van EMDEN, H.F. GM crops: a potential for pest mismanagement. **Acta agriculturae Scandinavica Section B, Soil and Plant Science**, v. 53, p. 26-33. 2003.

van LENTEREN, J.C. Integrated Pest Management in Greenhouses: Experiences in European Countries. In: Integrated Pest Management in the Global Arena (Maredia KM, Dakouo D, Mota-Sanchez D, eds). Wallingford, UK: CABI. 2003a.

van LENTEREN, J.C. Commercial Availability of Biocontrol Agents. In: Quality Control and Production of Biological Agents Theory and Testing Procedures (van Lenteren JC, ed). Wallingford, UK: CABI. 2003b.

VASQUEZ, G.M.; ORR, D.B.; BAKER, J.R. Efficacy assessment of *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Braconidae) for suppression of *Aphis gossypii* (Homoptera:

Aphididae) in greenhouse-grown Chrysanthemum. **Journal of Economic Entomology**, v. 99, p. 1104-1111. 2006.

VET, L.E.M.; DICKE, M. Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. **Annual Review Entomology**, v. 37, p.141-172. 1992.

VIÑALS, F.N.; ORTEGA, R.G., GARCIA, J.C. El cultivo de pimientos, chiles y ajies. Madri: Mundi-Prensa, p.607. 1996.

Von ELLRICHTSHAUSEN, A.S.M. Chemical ecology and olfactory behavior of an aphid parasitoid and a lacewing predator. Thesis doctoral Imperial College London. 2008.

WASTERACK, C.; STENZEL, I.; HAUSE, G.; KUTTER, C.; MAUCHER, H.; NEUMERKEL, J.; FEUSSNER, I.; MIERSH, O. The wound response in tomato – role of jasmonic acid. **Journal of Plant Physiology**, v. 163, p. 297-306. 2006.

WEINTRAUB, P.G. Integrated control of pests in tropical and subtropical sweet pepper production. **Pest Management Science**, v. 63, p. 753-760. 2007.

WICKREMESINGHE, M.G.V.; van EMDEN, H.F. Reactions of adult female parasitoids, particularly *Aphidius rhopalosiphi*, to volatile chemical cues from the host plants of their aphid prey Wickremesinghe e van Emden, 1992. **Physiological Entomology** 17:297-304. 1992.

ZAMANI, A.A.; TALEBI, A.; FATHIPOUR, Y.; BANIAMERI, V. Effect of temperature on life history of *Aphidius colemani* and *Aphidius matricariae* (Hymenoptera: Braconidae), two parasitoids of *Aphis gossypii* and *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae). **Environmental Entomology**, v. 36, p. 261-263. 2007.

6. MANUSCRITOS DERIVADOS DOS DADOS EXPERIMENTAIS

6.2 Differential preference of *Capsicum* spp. cultivars by *Aphis gossypii* is conferred by variation in volatile semiochemistry

João Gomes da Costa^{1*}; Edjane Vieira Pires², Alessandro Riffel¹, Michael A Birkett³,
Ervin Bleicher⁴ Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana².

¹Embrapa Tabuleiros Costeiros, Tabuleiro do Martins, P.O. Box 2013, 57061-970, Maceió, Alagoas, Brazil

²Instituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, 57092-970, Maceió, AL, Brazil

³Department of Biological Chemistry, Rothamsted Research, Harpenden, Herts, AL5 2JQ UK

⁴Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal do Ceará (UFC), Campus do Pici, 60451-970, Fortaleza, CE, Brazil.

*Corresponding author: e-mail: jgomes@cpatc.embrapa.br. Phone: +55 82 3261 1322, Fax: +55 82 3261 2177.

Aceito para publicação, no periódico Euphytica, em 24/08/2010.

ABSTRACT The aim of this study was to demonstrate that *Capsicum* spp. cultivars are differentially preferred by the cotton aphid, *Aphis gossypii*, and to investigate the role of volatile semiochemicals in conferring differences in host preferences. Two preference assays were conducted in 2008 under greenhouse conditions. Fourteen different commercially available cultivars were grown in cages protected by an anti-aphid net, and were infested 60 days after planting, through the release of ten adult female *A. gossypii* per plant. The results showed that after a five-day infestation period, statistically significant differences in the mean number of *A. gossypii* between cultivars were observed, with Sweet Pepper Hybrid Green Belt (SPHGB) being one of the cultivars with the lowest number of *A. gossypii* per plant. To test the hypothesis that the preference of cultivars was associated with release of volatile, *Capsicum* spp.-derived semiochemicals, olfactometer behavior bioassays were conducted with *A. gossypii*, using volatile organic compounds (VOCs) collected from non-preferred SPHGB and preferred SPAB cultivars. *A. gossypii* was significantly repelled only by the VOCs of infested SPHGB. Furthermore, coupled gas chromatography – mass spectrometry (GC-MS) analysis of VOCs released by plants prior to, and after, *A. gossypii* infestation, revealed that the non-preferred SPHGB cultivar released nine additional compounds after infestation, including 6-methyl-5-hepten-2-one, a known plant defence semiochemical involved in plant – aphid interactions. These data suggest that non-preferred cultivars releasing this semiochemical have the potential to be used in breeding programs aimed at producing *A. gossypii*-resistant *Capsicum* spp. cultivars.

Keywords: *Capsicum* spp., *Aphis gossypii*, plant breeding, semiochemicals, resistance

INTRODUCTION

Bell pepper, *Capsicum annuum* (Solanaceae), stands out as one of the leading vegetables grown around the world (Weintraub 2007; Blat et al. 2007), and is one of the ten most important vegetable crops grown in Brazil (Santana et al. 2004). A major barrier to the production of *Capsicum* spp. is the viral disease caused by Potato Virus Y (PVY), a species of the genus Potyvirus, belonging to the family *Potyviridae*, transmitted by aphids (Nagai 1983). Typical symptoms of PVY in *Capsicum* spp. are widespread mosaic in the leaves, necrosis, deformation and reduced fruit and plant size (Pasko et al. 1996).

The cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover, and the peach-potato aphid, *Myzus persicae* (Sulz.) (Homoptera: Aphididae) are major aphid species that attack *Capsicum* spp. crops (Weintraub 2007). *A. gossypii* is found on all continents, and is particularly abundant in the tropics. In Brazil, it is found on around 57 different species, and over 20 families are attacked by this species (Silva et al. 1968). This insect sucks sap from meristematic areas, causing deformations in the shoots, besides being responsible for virus transmission to some of these species (Blackman and Eastop 1984). Large populations of *A. gossypii* can cause chlorosis, necrosis, wilting, stunting, flower abortion and fruit and leaf distortion and defoliation. Moreover, their excreta can be accompanied by the growth of sooty mold, contaminating fruits and a reduction of photosynthetic capacity. Aphids are even more important as vectors of viruses such as Cucumber Mosaic Virus (CMV), Tobacco Etch Virus (TEV), Pepper Mottle Virus (PepMoV), Pepper Veinal Mottle Virus (PVMV), Chilli Veinal Mottle Virus (Chi VMV), Pepper Yellow Mosaic Virus (PepYMV) and Potato Virus Y (PVY). Chemical control of aphids is often inadequate due to resistance to insecticides and negative impacts on populations of natural enemies.

Plants have evolved a variety of mechanisms to withstand the damage and stresses caused by pathogens and herbivorous animals, as well as by many abiotic factors (Birkett et al. 2000). One such mechanism involves the emission of volatile organic compounds (VOCs), either constitutively or as a result of biotic infestation or physical damage, which can affect pathogen development and the behavior of insect herbivores searching for a food source. VOCs produced by plant defensive mechanisms during herbivory act directly to repel insect attack (Bruce and Pickett 2007). These

volatiles emitted can directly affect physiology and behavior of herbivores, due to their toxic properties, repellents or deterrents (De Moraes et al. 2001; Kessler and Baldwin, 2001; Vancanneyt et al., 2001; Aharoni et al., 2003). They can also have indirect effects by attracting predators and parasitoids of the pest insect (Pare and Tumlinson, 1999; Drukker et al., 2000; Kessler and Baldwin, 2001; Bruce and Pickett 2007). When attacked by herbivorous insects, released VOCs act as semiochemicals (chemical signals) which cause neighboring intact plants to become 'repellent' to incoming herbivores and 'attractive' to predators and parasitoids (Bruce and Pickett 2007).

Resistant, or non-preferred, varieties of *Capsicum* spp. may offer a potential way of control that would be complemented by the predation by natural enemies, while reducing requirement for insecticide applications. There is no genetic resistance to *M. persicae* described in commercial pepper varieties, but resistance to this aphid has been reported in *C. pubescens* (Frantz et al. 2004). Unfortunately, there are sexual barriers between these species and peppers grown commercially (Frantz et al. 2004). *Capsicum* spp. have been tested for resistance to *A. gossypii*, revealing several sources of resistance / tolerance. Resistant accessions were detected from the species *C. baccatum*, which can be crossed with *C. annuum* with some difficulty, whilst other resistant accession genotypes have been detected from *C. annuum* (Frantz et al. 2004).

Studies have identified aphid-resistant cultivars in bean, *Vicia faba* (Ebadah et al. 2006), in barley, *Hordeum vulgare*, towards *Rhopalosiphum padi* L., (Kellner et al. 2010), in wheat, *Triticum aestivum*, towards *R. padi* (Akhtar et al. 2008), in cabbage, *Brassica oleracea* var. *capitata*, towards *Brevicoryne brassicae* L. (Broekgaarden et al. 2008) and in cotton, *Gossypium hirsutum* L., towards *A. gossypii* (Furtado et al. 2009). Some *Capsicum* accessions have shown resistance to *A. gossypii*, but these do not show resistance or tolerance to the attack of *M. persicae* (Weintraub 2007). Frantz et al. (2004) concluded that there are species-specific resistance factors in *Capsicum*, as has been observed in tomato accessions. As previous reports suggest that resistance in plants can be associated with the release of volatile semiochemicals (Bruce and Pickett, 2007), the aim of this study was to provide evidence for semiochemical-based resistance in commercial *Capsicum* spp. cultivars towards *A. gossypii*, and to isolate and identify VOCs which may be wholly or partially responsible for this resistance.

METHODS

Plants

Capsicum spp. cultivars were obtained as seed from the Feltrin and Isla seed companies (Rio Grande do Sul, Brazil; see Table 1 for details). All plants were grown in a greenhouse with a temperature of 27 ± 2 ° C, relative humidity of $75 \pm 5\%$ and 12:12 light:dark regime.

Insects

Cotton aphids, *A. gossypii*, were collected from the field at Embrapa Tabuleiros Costeiros,/UEP in Rio Largo, Alagoas, Brazil, between January and February 2008, and reared on sweet pepper cultivar Yolo Wonder at 27 ± 2 ° C, relative humidity of $75 \pm 5\%$ and 12 hours light photoperiod and were protected in cages (1.0 x 1.0 x 0.5 m). Between nine and twelve plants were placed inside wooden-framed cages. Every three weeks, plants infested with aphids were removed from the cages and replaced with clean plants to maintain the culture. To transfer the aphids, some of the infested leaves were detached and placed on the new plants.

Aphid preference test

Two experiments were conducted with different *Capsicum* cultivars. In the first experiment, eleven cultivars were used (Table 1), whilst in the second experiment, seven cultivars were used (Table 2). Experiments were conducted in a greenhouse at Embrapa Tabuleiros Costeiros,/UEP in Rio Largo, Alagoas, Brazil, (lat 9° 29' 45'' S, long 35° 49' 54'' W and 165 m asl) during the months from January to April, and from October to December 2008. The seeds of each cultivar were sown in plastic pots with 500 mL capacity, filled with commercial substrate (a mixture of plant fibers and vermiculite). Irrigation was performed daily without wetting the leaves. The experimental design was randomized in complete blocks with 11 and 7 treatments for the first and second experiments respectively and 4 blocks or replicates. Each block or replicate was contained within a cage, and comprised of one plant of each cultivar.

After 60 days from planting, plants were infested with ten apterous adult females of *A. gossypii* per plant, and these were protected in cages (1.0 x 1.0 x 0.5 m, 11 and 7 per cage for the first and second experiments respectively). Five days after

infestation, adult females were counted and removed from the plants. Five days after the withdrawal of adult female aphids from the plants, there was a second evaluation by counting the number of adults. The aphids used for infestation came from rearing facilities kept separately. The data were analysed using analysis of variance (ANOVA), followed by a Tukey test to detect significant differences between treatments.

Volatile collection and GC-MS analysis

Volatile organic compounds (VOCs) were collected from the plants of all seven *Capsicum* spp. cultivars used in the second preference test. VOCs were collected from plants prior to, and after, infestation with *A. gossypii* using the adsorbent Porapak Q (80/100 mesh, 0.05 g, Supelco). Collections were replicated 3-4 times. Plants were placed in polyester bags as described by Stewart-Jones and Poppy (2006), isolating the soil pot with aluminum foil. Air filtered through activated charcoal was pumped into the plastic bag at a flow of 700 mL/min per plant. Pyrex tubes with Porapak Q were inserted at top of the bag and the air collected at a flow rate of 400 mL/min for each plant. The plants were aerated for 24 hours. At the end of the aeration, tubes containing trapped VOCs were desorbed with 500 μ L of diethyl ether and samples stored at -20°C until required for analysis by coupled gas chromatography - mass spectrometry (GC/MS), QP5050A system, using a DB-5 column (30m x 0.25 mm id x 0.25 μ m; J&W scientific) and helium as carrier gas. The oven temperature was set to commence at 30°C and rise to 250 °C at a rate of 8 °C/min, with the injector and detector temperatures set at 250 °C and 280 °C respectively. Compounds were tentatively identified by comparison of mass spectra with those in the Wiley library.

Aphid olfactometer bioassay

Y-tube olfactometry behavioral bioassays with aphids were also conducted using the cultivar Sweet Pepper Hybrid Green Belt (considered to be resistant) and Sweet Pepper All Big (susceptible). Behavioral assays used Perspex four-arm olfactometers (Pettersson 1970) lit from above by diffuse, uniform lighting and maintained at 25 ± 2 °C. The bottom of the apparatus was lined with filter paper (n° 1; Whatman), and air was drawn through the four arms toward the center at 350 ml min⁻¹. Single alate aphid virginoparae were introduced into the central chamber, and the time spent and number

of entries into each arm was recorded by using specialist software (OLFA; Exeter Software) over 16-min period. The apparatus was rotated a one-quarter turn every 4 min to eliminate directional bias. Aliquots (10 μ L each) of samples of VOCs were applied to a filter paper strip, and the solvent (diethyl ether) was allowed to evaporate for 30 s. The filter paper was then placed at the end of the treated side arm.

The three control arms were similarly treated with 10 μ L of diethyl ether alone on filter paper. Each experiment was replicated 20 times and results analyzed by nonparametric statistics (Wilcoxon one-tailed rank-sum test for two groups); the mean time spent in the treatment arms was compared with the mean time spent in the control arms.

Statistical Analysis

Statistical analyses were performed using SAEG 9.1 (System for Statistical Analysis, Viçosa, MG, Brazil).

RESULTS

The results of analysis of variance revealed significant differences in the number of *A. gossypii* between different *Capsicum* spp. cultivars in preference tests (Table 1 and 2). For the first experiment which included 11 cultivars, significant differences ($P < 0.05$) in the mean numbers of aphids among the tested cultivars were observed, with the highest mean number of aphids being recorded on Hot Pepper Malagueta (42 individuals/plant; 82.61% more than the general average of the test) (Tukey test, Table 1). The lowest infestation was observed on Sweet Pepper Hybrid Green Belt (SPHGB), Hot Pepper Luna and Hot Pepper Bico (14 individuals/plant; 39.13% less than the general average), 13 individuals/plant (43.48% less than the general average) and 11 individuals/plant (52.17% less than the general average), respectively. The existence of variability in *A. gossypii* preferences between cultivars was confirmed in the second experiment, where of the seven cultivars tested, the SPHGB cultivar was again shown to have a lower than expected infestation of *A. gossypii* (Table 2). The data also suggest a difference between the two experiments regarding the number of aphids per plant, indicating the existence of interaction experiment x cultivar. Despite this interaction it

appears that the performance of the cultivar SPHGB remained the same, i.e., as the least preferred by aphids, showing stability in their behavior in relation to aphid infestation.

Behavioral bioassays with *A. gossypii* were conducted using VOCs collected from non-preferred SPHGB and aphid-preferred Sweet Pepper All Big cultivars. Olfactometry bioassays showed that *A. gossypii* was significantly repelled by the VOCs from infested SPHGB, compared to the solvent control (Fig 1B). However, *A. gossypii* was not significantly repelled by the VOCs from aphid-infested Sweet Pepper All Big compared to the solvent control (Fig. 1D). There was also no significant difference in behavioral activity between VOCs from non-infested plants, compared to the solvent control, for both SPHGB and SPAB (Figs. 1A and 1C).

Gas chromatography/mass spectrometry (GC-MS) analyses of VOCs collected from cultivars are shown in Table 3. The results showed that although there were qualitative differences between cultivars, no significant quantitative differences between cultivars were observed (data not shown). Qualitative differences were observed between cultivars prior to, and after, infestation. Prior to infestation, tentatively identified compounds that were common only to preferred cultivars included 2-dodecenal, 3-tetradecene and pentadecane. Six compounds were common to most of the cultivars after infestation, including 3-hydroxy-2-butanone, decanal, dodecane, hexadecane, nonanal and tetradecene. The non-preferred SPHGB cultivar emitted four cultivar-specific VOCs prior to infestation, tentatively identified as 3-methyl-2-undecene, 2-ethoxypropane, 2-butyloctanol and tetradecane. Nine additional cultivar-specific VOCs released after infestation were tentatively identified as 1-undecanol, 2-oxo-propanoic acid, tridecane, 1,3-dioxane-5-ol, 3-penten-2-ol, 2-undecenoic acid, 6-methyl-5-hepten-2-one, 4-methyl-4-hydroxy-2-pentanone and octanoic acid (Table 3).

DISCUSSION

The results in this study appear to confirm the existence of differential preference of *Capsicum* cultivars by *A. gossypii*, as verified by Weintraub (2007) in other cultivars. The SPHGN cultivar was shown to be a non-preferred, resistant cultivar in two preference assays. Similar results were obtained by Bosland and Ellington (1996) where it was suggested that the resistance of *C. pubescens* towards *M. persicae* is due to antixenosis (non-preference). Ellis and Farrell (1995) showed that the six brassicas

tested possessed different combinations of resistance/susceptibility to *B. brassicae*, which can be summarized as follows: *B. fruticulosa* - very high levels of antixenosis and antibiosis; *B. spinescens* - very high levels of antixenosis and moderate levels of antibiosis; *B. insularis* - very high levels of antixenosis and low levels of antibiosis; 'Green Glaze Glossy' collard - low levels of antibiosis; 'Derby Day' cabbage - no forms of resistance and 'Rangi' rape - tolerance to aphid attack. Coleson and Miller (2005) identified 'Iluana,' Purple ',' TC-83 001 'and 'Putih' as less preferred cultivars in aphid choice tests.

Whilst it is possible that a number of mechanisms could play a role in conferring the observed non-preferred effect, evidence for the role of volatile semiochemicals was provided by olfactometry experiments, which showed that the VOCs released by *A. gossypii*-infested SPHGB plants were significantly repellent to *A. gossypii*. Furthermore, the VOC profile released by SPHGB was changed by infestation with *A. gossypii*. Similar results were obtained in beans, *Vicia faba*, after infestation with the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*, which led to the increase of the production of certain components, reduction of the production of others, and formation of some new compounds (Du et al., 1998; Pickett et al. 2003). VOCs released by plants after insect infestation can directly affect the behavior and physiology of the aggressor because of their toxic, repellent or deterrent properties (Bernasconi et al. 1998; De Moraes et al. 2001; Kessler and Baldwin 2001; Vancanneyt et al. 2001; Aharoni et al. 2003). Expression of antixenosis through host plant odour has also been reported for many insects. Gaum *et al.* (1994) reported that *Frankliniella occidentalis* showed different response to odour source of rose cultivars in an olfactometer. Similarly, Storer and van Emden (1995) showed that *A. gossypii* showed different responses to host plant odours from different cultivars of chrysanthemum when tested in an olfactometer.

Ekesi et al. (1998) studied the mechanisms of resistance of two cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) varieties, ICV 8 and IT84S-2246 widely grown by farmers, and which have been reported to have less thrips in field samples, to the legume flower thrips, *Megalurothrips sjostedti*. The high mortality of larval stages and slower developmental rates on ICV 8 indicated presence of antibiotic mechanisms of resistance. Adult longevity and oviposition rates of thrips fed on pollen of ICV 8 were greatly reduced. Mean larval and pupal weights were also low on this variety but adult

weight was not affected. Mortality a rate on IT84S-2246 was low and developmental rates was normal, indicating an absence of antibiotic mechanisms. However, a choice experiment using cowpea flowers, and olfactometer assessment, showed that IT84S-2246 was the least preferred variety, indicating evidence of antixenosis as the mechanism of resistance in this variety.

In our study, the non-preferred SPHGB cultivar was shown to emit nine additional VOCs, including 6-methyl-5-hepten-2-one, after infestation with *A. gossypii*. This compound is released by wheat seedlings, along with (*R*) and (*S*)-6-methyl-5-hepten-2-ol and 2-tridecanone, that are heavily infested with the bird-cherry-oat aphid, *Rhopalosiphum padi* (Quiroz et al. 1997). 6-Methyl-5-hepten-2-one is known to repel *R. padi* (Quiroz et al. 1997), is attractive to the aphid parasitoids, *Aphidius ervi* (Du et al. 1998) and *A. funebris* (Pareja et al. 2007), and was also reported as a repellent of females of *Cephus norton cintus*, a wheat pest in North America (Piesik et al. 2008). With regard to compounds other than 6-methyl-5-hepten-2-one produced by the non-preferred SGHGB cultivar after infestation by *A. gossypii*, there are, up to now, no reports on their effects on aphids. However, octanoic acid has been described as a repellent to the mite *Varroa destructor* Anderson and Trueman, a parasite of *Apis mellifera* L. that represents the main threat to beekeeping in the Western world (Nazzi et al. 2008). Thus, this compound may also have an effect on aphids, but further laboratory evidence is required.

CONCLUSIONS

Variability among cultivars of *Capsicum* spp. in relation to preferences of *A. gossypii* was observed. The SPHGB cultivar was shown the lowest number of *A. gossypii* per plant. This cultivar released nine additional VOCs after infestation by *A. gossypii*, which may act as volatile semiochemicals that confer non-preference to other incoming aphids. These data suggest that the non-preferred cultivar has the potential to be used in breeding programs aimed at producing *A. gossypii*-resistant *Capsicum* spp. cultivars. Further laboratory studies are underway to confirm the identity and behavioral activity of the aphid-infested VOCs.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work received financial support from the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Rede Nordeste de Biotecnologia (Renorbio) and Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) all of the Brasil. Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas (IQB-UFAL), Brasil, for the availability of laboratories. Rothamsted Research receives grant-aided support from the Biotechnology and Biological Science Research Council (BBSRC) of the United Kingdom.

REFERENCES

- Aharoni A, Giri AP, Deuerlein S, Griepink F, Kogel WJ, Verstappen FWA, Verhoeven HA, Jongsma MA, Schwab W, Bouwmeester HJ (2003) Terpenoid metabolism in wild-type and transgenic *Arabidopsis* plants. *Plant Cell* 15: 2866-2884. doi: 10.1105/tpc.016253
- Akhtar N, Anwar MB, Jilani G, Javed H, Yasmin S, Begum I (2008) Resistance to foliage feeding aphid in wheat. *Pak. J. Biol. Sci.* 11: 801-804.
- Bernasconi ML, Turlings TCJ, Ambrosetti L, Bassetti P, Dorns S (1998) Herbivore-induced emissions of maize volatiles repel the corn leaf aphid, *Rhopalosiphum maidis*. *Entomol Exp Appl* 87: 133-142. doi: 10.1111/j.1461-0248.2004.00699.x
- Birkett MA, Campbell CAM, Chamberlain K, Guerrieri E, Hick AJ, Martin JL, Matthes M, Napier JA, Pettersson J, Pickett JA, Poppy GM, Pow EM, Pye BJ, Smart LE, Wadhams GH, Wadhams LJ, Woodcock CM (2000) New roles for cis-jasmone as an insect semiochemical and in plant defense. *Proc Nat Acad Sci* 97:9329-9334
- Blackman RL, Eastop VP (1984) *Aphids on the world's crops: an identification guide*. Wiley, Chichester
- Blat SF, Braz LT, Arruda A da S (2007) Avaliação de híbridos duplos de pimentão. *Hortic Bras* 25: 350-354
- Bosland PW, Ellington JJ (1996) Comparison of *Capsicum annum* and *C. pubescent* for antixerosis as a means of aphid resistance. *HortScience*. 31:1017-1018

- Broekgaarden C, Poelman EH, Steenhuis G, Voorrips RE, Dicke M, Vosman B (2008) Responses of *Brassica oleracea* cultivars to infestation by the aphid *Brevicoryne brassicae*: an ecological and molecular approach. *Plant, Cell Environ* (2008) 31, 1592–1605 doi: 10.1111/j.1365-3040.2008.01871.x
- Bruce TJA, Pickett JA (2007) Plant defence signalling induced by biotic attacks. *Curr Opin Plant Biol* 10: 387-392
- Coleson JL, Miller RH (2005) Antibiosis and antixenosis to *Aphis gossypii* (Homoptera:Aphididae) in *Colocasia esculenta*. *J Econ Entomol* 98: 996-1006.
- De Moraes CM, Mescheer MC, Tumlinson, JH (2001) Caterpillar-induced nocturnal plant volatiles repel conspecific females. *Nature* 410: 577-580. doi: 10.1007/s10886-009-9639-z
- Drukker B, Bruin J, Jacobs G, Kroon A, Sabelis MW (2000) How predatory mites learn to cope with variability in volatile plant signals in the environment of their herbivorous prey. *Exp Appl Acarol* 24: 881-895
- Du YJ, Poppy GM, Powell W, Pickett JA, Wadhams LJ, Woodcock CM (1998) Identification of semiochemicals released during aphid feeding that attract the parasitoid *Aphidius ervi*. *J Chem Ecol* 24:1355-1368
- Ebadah IMA, Mahmoud YA, Moawad SS (2006) Susceptibility of some *Faba bean* cultivars to Field infestation with some insect pests. *Res J Agr Biol Sci* 2: 537-540
- Ekesi S, Maniania NK, Onu I (1998) Antibiosis and antixenosis of two cowpea varieties to the legume flower thrips. *Afric Crop Sci J* 6:49-59.

Ellis, P. R. and Farrell, J. A.(1995) Resistance to cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*) in six brassica accessions in New Zealand. N Zeal J Crop Hortic Sci 23: 25 - 29. doi: 10.1080/01140671.1995.9513864

Frantz JD, Gardner J, Hoffmann, MP and Jahn MM (2004) Green-house screening of *Capsicum* accessions for resistance to green peach aphid (*Myzus persicae*). Hortic Sci 39: 1331-1335

Furtado RF, Silva FP, Lavôr MTFC, Bleicher E (2009) Susceptibilidade de cultivares de *Gossypium hirsutum* L. r. *latifolium* Hutch a *Aphis gossypii* Glover. Rev. Ciênc Agron 40:461-464

Gaum WG, Giliomee JH, Pringle KL (1994) Resistance of some rose cultivars to the Western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). Bull Entomol Res 84: 487-492.

Kellner M, Brantestam AK, Ahman I, Ninkovic V (2010) Plant volatile-induced aphid resistance in barley cultivars is related to cultivar age. Theor Appl Genet. doi: 10.1007/s00122-010-1377-7

Kessler A, Baldwin IT (2001) Defensive function of herbivore-induced plant volatile emissions in nature. Science 291:2141-2144. doi: 10.1126/science.291.5511.2141

Nagai H (1983) Melhoramento de pimentão (*Capsicum annuum* L.) visando à resistência ao vírus Y. Hortic Bras 1: 3-9

Nazzi F, Bortolomeazzi R, Vedova GD, Piccolo FD, Annoscia D, Milani N (2009) Octanoic acid confers to royal jelly varroa-repellent properties. *Naturwissenschaften* 96:309–314. doi: 10.1007/s00114-008-0470-0

Paré PW, Tumlinson JH (1999) Plant volatiles as a defense against insect herbivores. *Plant Physiol* 121:325-331

Pasko P, Ortega RG, Artega ML (1996) Resistance to Potato virus y in peppers. *Capsicum and Eggplant Newsletter* 15: 11-27

Pareja M, Moraes MCB, Clark SJ, Birkett MA, Powell W (2007) Response of the aphid parasitoid *Aphidius funebris* to volatiles from undamaged and aphid-infested *Centaurea nigra*. *J Chem Ecol* 33: 695-710. doi: 10.1007/s10886-007-9260-y

Pettersson J (1970) Studies on *Rhopalosiphum padi* (L.). An aphid sex attractant. I. Biological studies. *Entomol Scand* 1:63-73

Pickett JA, Rasmussen HB, Woodcock CM, Mathes M, Napier JA (2003) Plant stress signaling: understanding and exploiting plant-plant interactions. *Biochem Soc Trans* 31: 123-127

Piesik D, Weaver DK, Runyon JB, Buteler M, Peck GE, Morrill WL (2008) Behavioural responses of wheat stem sawflies to wheat volatiles. *Agr Forest Entomol* 10: 245–253. doi: 10.1111/j.1461-9563.2008.00380.x

Quiroz A, Pettersson J, Pickett JA, Wadhams LJ, Niemeyer HM (1997) Semiochemicals mediating spacing behavior of bird cherry-oat aphid, *Rhopalosiphum padi* feeding on cereals. *J Chem Ecol* 23: 2599-2607

Santana MJ, Carvalho JA, Faquin V, Queiroz TM (2004) Produção do pimentão (*Capsicum annuum* L.) irrigado sobre diferentes tensões de água no solo e doses de cálcio. Ciênc Agrotec 28: 1385-1391

Silva AGA, Gonçalves CR, Galvão DM, Gonçalves AJL, Gomes J, Silva M do N, Simoni L de (1968) Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil seus parasitos e predadores. Rio de Janeiro

Stewart-Jones A, Poppy GM (2006) Comparison of glass vessels and plastic bags for enclosing living plant parts for headspace analysis. J Chem Ecol 32: 845-864. doi: 10.1007/s10886-006-9039-6

Storer JR, van Emden HF (1995) Antibiosis and antixenosis of Chrysanthemum cultivars to the aphid *Aphis gossypii*. Entomol Exp Appl 77: 307-314.

Vancanneyt G, Sanz C, Farmaki T, Paneque M, Ortego F, Castanera P, Sanchez-Serrano JJ (2001) Hydroperoxide lyase depletion in transgenic potato plants leads to na increase in aphid performance. Proc Natl Acad Sci 98: 8139-8144.doi: 10.1073/pnas.141079498

Weintraub PG (2007) Integrated control of pests in tropical and subtropical sweet pepper production. Pest Manag Sci 63: 753-760. Doi: 10.1002/ps.1366

Table 1 - Average number adults of *Aphis gossypii* on *Capsicum* spp. counted during a five day infestation period. Rio Largo, Alagoas, Brazil. January to April 2008.

Genotypes	Seed Company	Hot/Sweet	Aphid/plant
Malagueta (HPM)	Feltrin	Hot	42 a
Dedo de moça (HPDM)	Feltrin	Hot	31 b
Malagueta (HPMa)	Feltrin	Hot	28 bc
Yolo Wonder (SPYW)	Isla	Sweet	26 bcd
Yellow Long (SPYL)	Isla	Sweet	25 cde
Red (SPR)	Feltrin	Sweet	24 cde
All Big (SPAB)	Isla	Sweet	21 de
Yellow Italian (SPYI)	Feltrin	Sweet	20 e
Hybrid Green Belt (SPHGB)	Isla	Sweet	14 f
Luna (HPL)	Feltrin	Hot	13 f
Bico (HPB)	Feltrin	Hot	11 f
Average			23
Coefficient of variation (%)			34.40

Means within a column that are followed by the same letter are not significantly different ($P>0.05$) according to the Tukey test. (LSD= 6.34).

Table 2 - Average number adults of *Aphis gossypii* on *Capsicum* spp. counted on five days of infestation. Rio Largo, Alagoas, Brazil. October to December 2008.

Genotypes	Seed Company	Aphid/plant
Hybrid Green Belt (SPHGB)	Isla	15d
All Big (SPAB)	Isla	110c
Yellow Long (SPYL)	Isla	88c
Ikeda (SPIkeda)	Isla	89c
Yolo Wonder (SPYW)	Isla	198b
Itapuã 501 (SPI501)	Isla	488a
Hybrid Yellow Satrapo (SPHYS)	Isla	97 c
Average		155
Coefficient of variation (%)		11.42

Means within a column that are followed by the same letter are not significantly different ($P>0.05$) according to the according to the Tukey test.(LSD=41.27)

Table 3 – GC-MS identification of all volatile organic compounds (VOCs) released from pepper, *Capsicum* spp. before and after infestation with *A. gossipyii*.*

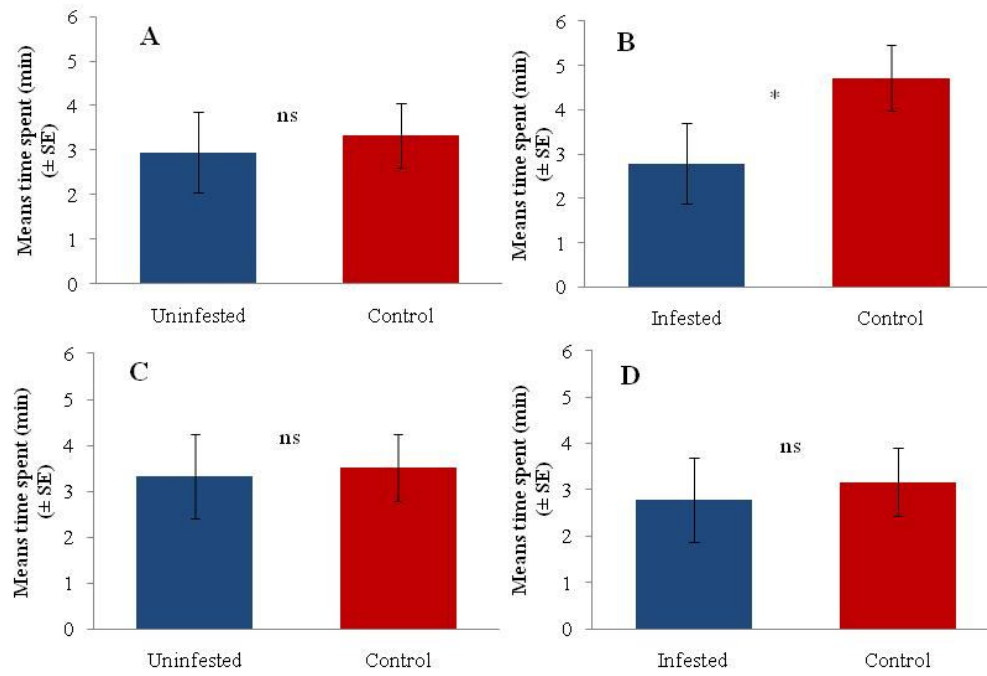
COMPOUNDS	SPHGB		SPAB		SPYL		SPlkeda		SPYW		SPI501		SPYS	
	Before	After	Before	After	Before	After	Before	After	Before	After	Before	After	Before	After
1,4-Benzenedicarboxaldehyde	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	-	-
1-Dodecene, 2-ethyl	X	-	X	-	X	-	-	-	X	-	X	-	-	-
2-Butanone, 3-hydroxy	X	X	X	X	X	X	-	X	X	X	X	X	X	X
2-Dodecenal	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-
2-Propanol, 1-(1-methylethoxy)	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	-	-	X	-
3-Ethylacetophenone	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-
3-Tetradecene, (Z) or (E)	-	-	-	-	-	-	X	-	X	-	-	-	-	-
Benzaldehyde, ethyl	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-
Benzoic acid, ethyl	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-
2-ethoxybutane	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-
Decanal	X	X	X	X	X	X	-	X	X	X	X	X	X	X
Phenol	X	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	-
Dodecane	X	X	X	X	X	X	-	X	X	X	X	X	X	X
Hexadecene	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-
Hexadecane	-	X	-	X	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-
Nonanal	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Tetradecene	X	X	X	X	X	X	-	X	X	X	X	X	X	X
Pentadecane	-	-	-	-	-	-	X	-	X	-	X	-	-	-
3-methyl-2-undecene	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-ethoxypropane	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-butyloctanol	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tetradecane	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-oxo-propanoic acid	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1-undecanol	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-methyl- 4-hydroxy 2-Pentanone	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tridecane	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1,3-Dioxane-5-ol	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3-Penten-2-ol	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-Undecenoic acid	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6-Methyl-5-hepten-2-one	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Octanoic acid	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*Identifications are tentative

Figure legend

Figure 1. Response of cotton aphids, *Aphis gossypii*, to volatile organic compounds (VOCs) released by *Capsicum* sp cultivars. A = uninfested *Capsicum* cultivar, Sweet Pepper Hybrid Green Belt; B = *A. gossypii*-infested *Capsicum* cultivar, Sweet Pepper Hybrid Green Belt; C = uninfested *Capsicum* cultivar, Sweet Pepper All Big; D = *A. gossypii*-infested *Capsicum* cultivar, Sweet Pepper All Big. Asterisks indicate where treated and control responses were significantly different (* $P < 0.01$). NS denotes no significant activity (Wilcoxon one-tailed rank-sum test for two groups).

Figure 1.



6.2 Respostas do parasitóide *Aphidius colemani* aos compostos voláteis de plantas de duas cultivares de pimentão infestado e não infestadas pelo pulgão *Aphis gossypii*.

Resumo: A exploração do pimentão em cultivos protegidos vem sendo incrementado nos últimos anos tornando-se uma opção viável para pequenos agricultores. Entretanto, a incidência de pulgões neste tipo de cultivo também tem aumentado causando danos diretos e indiretos. O controle mais recomendado para este tipo de cultivo seria o biológico. Assim, este trabalho teve como objetivo verificar se os compostos voláteis de plantas de pimentão proporcionam mudanças no comportamento do parasitóide *Aphidius colemani*. Objetivou também testar a hipótese se há diferença entre os efeitos das cultivares Cambuci e All Big em relação aos seus compostos voláteis antes e após a infestação por *A. gossypii* sobre o comportamento do parasitóide. Bioensaios comportamentais foram realizados utilizando os compostos voláteis das plantas com e sem infestação e utilizando éter dietílico como controle. Os resultados obtidos permitem tirar as seguintes conclusões: (a) existem diferenças significativas entre os efeitos dos compostos voláteis das duas cultivares sobre os comportamentos do parasitóide; b) os compostos voláteis emitidos pela cultivar Cambuci após a infestação proporcionou efeito atrativo ao parasitóide influenciando na interação planta, herbívoro e parasitóide; c) os compostos voláteis emitidos pela cultivar All Big, mesmo após a herbivoria, não proporcionou efeito sobre o comportamento dos insetos estudados.

Palavras-chave: Ecologia química, semioquímicos, *Capsicum* spp., controle biológico.

Abstract: The increase in exploitation of bell peppers in protected cultivation in recent years has become a viable option for small farmers. However, the incidence of aphids in this type of cultivation has also increased, causing direct and indirect damages. The most recommended control for this type of crop would be biological control. As such, this study aimed to determine whether the volatiles of bell pepper plants result in changes in the behavior of the parasitoid *Aphidius colemani*. It also aimed to test the hypothesis that there is a difference between the effects of Cambuci and All Big cultivars on the behavior of the parasitoids in relation to their volatiles produced before and after infestation by *A. gossypii*. Behavioral bioassays were conducted using volatiles from plants with and without infestation and using diethyl ether as a control. The results obtained allow us to draw the following conclusions: (a) there are significant differences between the effects of volatiles from the two cultivars on the behavior of the parasitoid, b) the volatiles emitted by the Cambuci cultivar after infestation resulted in an attractive effect on the parasitoid, influencing the plant, herbivore, parasitoid tritrophic interaction, c) the volatiles emitted by the All Big cultivar, even after herbivory, did not lead to an effect on the behavior of insects studied.

Key-words: Chemical ecology, semichemicals, *Capsicum* spp., biological control.

6.2.1 Introdução

O pimentão é uma hortaliça de grande importância sócio-econômica no Brasil, devido à área cultivada e o número de empregos gerados (Frizzzone et al., 2001). Para Lorentz et al. (2009) esta cultura é uma das mais importantes entre as olerícolas, sendo bem adaptada ao cultivo protegido e constituindo-se em uma alternativa de renda para os pequenos produtores e para a agricultura familiar. Desta forma, ultimamente tem-se observado um aumento significativo no uso de cultivo protegido de pimentão, porém, há uma incidência acentuada de afídeos que vem causando danos significativos. Afídeos são uma das principais pragas agrícolas e hortícolas em todo o mundo (Verheggen et al. 2009) com *Aphis gossypii* e *Myzus persicae* sendo as principais espécies que atacam a cultura do pimentão (Weintraub, 2007). *A. gossypii* é encontrado em todos os continentes e é particularmente abundante nos trópicos. No Brasil pode ser encontrado em 57 plantas diferentes e mais de 20 famílias são atacadas por este inseto (Silva et al. 1968). Além dos prejuízos diretos que os afídeos podem causar para as culturas através da alimentação do floema, também podem contribuir com danos indiretos graves, agindo como vetores primários de viroses de muitas plantas (Verheggen et al. 2009) como “*Cucumber Mosaic Virus*” (CMV), “*Tobacco Etch Virus*” (TEV), “*Pepper Mottle Virus*” (PepMoV), “*Pepper Veinal Mottle Virus*” (PVMV), “*Chilli Veinal Mottle Virus*” (Chi VMV), “*Pepper Yellow Mosaic Virus*” (PepYMV) and “*Potato Virus Y*” (PVY). O controle químico de afídeos é viável, mas além de poder causar o surgimento de biótipos resistentes, apresenta inconvenientes em relação ao meio ambiente. Com relação à questão ambiental o pimentão foi o alimento que apresentou o maior índice de irregularidades para resíduos de agrotóxicos em 2008 no Brasil (ANVISA 2009).

Estudos realizados nas duas últimas décadas têm mostrado que as plantas produzem misturas de compostos voláteis em seus tecidos em resposta aos danos e ataque de herbívoros como, por exemplo, os afídeos. Odores emitidos pelas plantas infestadas por herbívoros são geralmente misturas complexas, muitas vezes formadas por mais de 200 diferentes compostos (Dicke e van Loon, 2000). Esses compostos voláteis emitidos podem afetar diretamente a fisiologia e o comportamento dos herbívoros, devido a suas propriedades tóxicas, repelentes ou deterrentes (Bernasconi et al., 1998; De Moraes et al., 2001; Kessler e Baldwin, 2001; Vancanneyt et al., 2001; Aharoni et al., 2003). Eles também podem atrair inimigos naturais dos herbívoros que podem proteger a planta de mais danos (Dicke et al., 1990; Turlings et al., 1990; Vet e

Dicke, 1992; Pare e Tumlinson, 1999; Drukker et al., 2000; Kessler e Baldwin, 2001). Além disso, alguns compostos voláteis podem mediar tanto defesas diretas como indiretas, impedindo a oviposição de lepidópteros e atraindo inimigos naturais como encontrado em *Nicotiana attenuata* (Kessler e Baldwin, 2001). Assim, este trabalho teve como objetivo verificar se os compostos voláteis de plantas de pimentão proporcionam mudanças no comportamento do parasitóide *Aphidius colemani*. Objetivou também testar a hipótese se há diferença entre as cultivares Cambuci e All Big, considerados respectivamente, resistente e suscetível ao *A. gossypii* (Costa et al., 2010) em relação aos seus constituintes voláteis antes e após a infestação pelo citado afídeo.

6.2.2 Material e Métodos

6.2.2.1 Planta e inseto

Sementes de pimentão das variedades Yollo Wonder, Cambuci e All Big foram semeadas em bandejas de isopor contendo substrato. As plantas foram mantidas nesses recipientes até atingirem 10 a 15 cm, tamanho suficiente para serem transplantadas para vasos plásticos de 2 L contendo uma mistura de terra e areia na proporção de 2:1. As plantas do cultivar Yollo Wonder permaneceram na casa-de-vegetação para criação dos pulgões e parasitóides. As plantas dos cultivares Cambuci e All Big, com 60 dias após a germinação, foram cultivadas em vasos de 12,5 cm de diâmetro e utilizadas para realização dos ensaios com e sem infestação dos pulgões e coleta de compostos voláteis. Após 60 dias do plantio as plantas foram infestadas com cinco fêmeas adultas, do *A. gossypii*, por planta e estas foram protegidas em gaiolas, numa proporção de 11 plantas por gaiola, com as dimensões: 1,0 x 1,0 x 0,5m.

Os pulgões foram criados em plantas de pimentão cultivar Yollo Wonder em casa de vegetação com temperatura e luminosidade naturais e ficaram protegidas em gaiolas (1,0 x 1,0 x 0,5m). Os parasitóides foram criados utilizando-se os afídeos em plantas de pimentão Yollo Wonder como alimentação, também em gaiolas como a descrito anteriormente.

6.2.2.2 Coleta de compostos voláteis

Os compostos voláteis foram coletados das plantas infestadas e não-infestadas por *A. gossypii* usando adsorvente Porapak Q (80/100 mesh, 0,05 g; Supelco). As plantas foram colocadas dentro de sacos de poliéster utilizado em microondas e freezer como descrito por Stewart_Jones & Poppy (2006), isolando o vaso com papel alumínio. Ar foi injetado no saco plástico passando antes por um filtro de carvão a um fluxo de 400 mL/min. por planta. Tubos com o Porapak Q foram utilizados no topo do saco e o ar coletado a uma vazão de 400 mL/min. para cada planta. As plantas ficaram sendo aeradas por 24 horas. Ao término das aerações os tubos foram dessorvidos com 500 µL de éter dietílico e armazenado a -20°C até injeção em um sistema de cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massa (GC/MS) QP5050A, usando DB-5 column (30m x 0.25 mm id x 0.25 µm); J&W scientific e o hélio como gás carreador. Os parâmetros usados para as análises iniciaram com uma velocidade de temperatura variando de 30°C to 250 °C com uma taxa de 8 °C/min., as temperaturas do injetor e detector foram 250 °C e 280 °C respectivamente. Os compostos foram identificados por comparação automática usando o banco de dados Wiley MS (Wiley Class 5000, sexta edição) usando o GCMSolution software.

6.2.2.3 Bioensaios de olfatometria

Ensaio comportamentais com parasitóides foram conduzidos usando a cultivar de pimentão All Big (considerada suscetível ao pulgão *A. gossypii*) e Cambuci (considerada resistente ao pulgão *A. gossypii*). Testes comportamentais foram realizados utilizando olfatômetro de quatro braços (Pettersson 1970) iluminado com uma lâmpada difusa uniforme e com temperatura de 25 ± 2 °C. A parte inferior do aparelho foi forrada com papel filtro (Whatman nº 1), e o ar foi sugado a uma razão de 350 mL/min. dos quatro braços em direção ao centro do aparelho. Cada inseto foi introduzido na câmara pelo orifício central, e o tempo gasto e o número de entradas em cada braço foram registrados usando o software OLFA (OLFA; Exeter Software) por um período de 16 min. O aparelho foi girado a cada 4 minutos para eliminar o viés direcional.

Alíquotas de 10 µL das amostras foram aplicadas a uma tira de papel de filtro, e o solvente foi deixado a evaporar-se durante 30 s. O papel de filtro foi então colocado no final do braço do lado tratado. Os três braços controle foram igualmente tratados com 10 µL de éter dietílico em papel de filtro. Cada experimento foi repetido 20 vezes e os resultados analisados por estatística não-paramétrica (teste de Wilcoxon). A média de tempo gasto nos braços do tratamento foi comparada com a média de tempo gasto nos braços dos controles.

6.2.3 Resultados

Os compostos voláteis emitidos pelas plantas da cultivar resistente cambuci infestadas atraíram significativamente ($p=0,03$) os parasitóides em relação ao controle (Fig. 1). Os insetos permaneceram mais tempo na amostra das plantas infestadas. Além disso, as plantas não infestadas também atraíram significativamente ($p=0,01$) os parasitóides com estes permanecendo mais tempo no braço do olfatômetro dos odores das plantas não infestadas (Fig. 2). Por outro lado, o comportamento dos parasitóides em relação aos voláteis das plantas da cultivar All Big foi diferente daqueles obtidos com a cultivar Cambuci. Para este cultivar, tanto os voláteis das plantas infestadas quanto das plantas não-infestadas não proporcionaram efeito sobre o comportamento dos parasitóides (Figs. 3 e 4).

A resposta comportamental significativa de *A. colemani* aos odores do genótipo Cambuci deve-se provavelmente aos compostos orgânicos voláteis liberados, haja vista que houve diferença na presença destes antes e após a infestação com afídeos entre os dois cultivares (Tabela 1). Antes da infestação foram identificados os compostos voláteis 3- metil, 2-undeceno; Propano, 2-etoxi; 1-octanol, 2-butil; tetradecano e 1-(5-Hexenilo)-2-metilenos em Cambuci e ausentes em All Big. Já após a infestação foram identificados para Cambuci nove compostos orgânicos voláteis que não estavam presentes no genótipo All Big. Os compostos identificados foram o ácido 2-oxo-propanóico; 1-undecanol; tridecano, 1,3-dioxano-5-ol, 3-penten-2-ol, ácido 2-undecenóico, 6-metil-5-hepten-2-ona, 4-metil-4-hidroxi-2-pentanona e ácido octanóico.

Tabela 1 – Compostos orgânicos voláteis liberados por duas cultivares de pimentão antes e após infestação com *A. gossypii*.

Compostos	Cambuci		All Big	
	Antes	Após	Antes	Após
1-(5-Hexenilo)-2-metileno	X	-	-	-
1,3-Dioxano-5-ol	-	X	-	-
1-Octanol, 2-butil	X	-	-	-
1-Undecanol	-	X	-	-
2-Etil, 1-dodeceno	X	-	X	-
2-Pentanona, 4-hidroxi-4-metil	-	X	-	-
3-Hidroxi, 2-butanona	X	X	X	X
3-metil, 2-undeceno	X	-	-	-
3-Penten-2-ol	-	X	-	-
6-Metil-5-hepten-2-ona	-	X	-	-
Ácido 2-oxo-propanóico	-	X	-	-
Ácido 2-undecenóico	-	X	-	-
Ácido octanóico	-	X	-	-
Butano, 2-etoxi	X	-	X	-
Decanal	X	X	X	X
Dodecano	X	X	X	X
Hexadecano	-	X	-	X
Hexadeceno	X	-	X	-
Nonanal	X	X	X	X
Phenol	X	-	X	-
Propano, 2-etoxi	X	-	-	-
Tetradecano	X	-	-	-
Tetradeceno	X	X	X	X
Tridecano	-	X	-	-

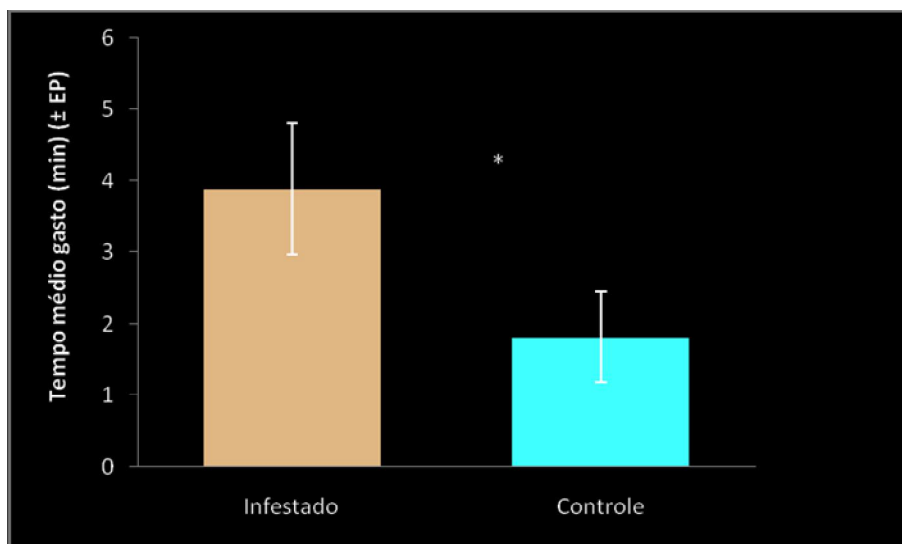


Figura 1– Resposta do parasitóide *A. colemani* aos voláteis emitidos pela cultivar Cambuci infestada em relação ao controle.

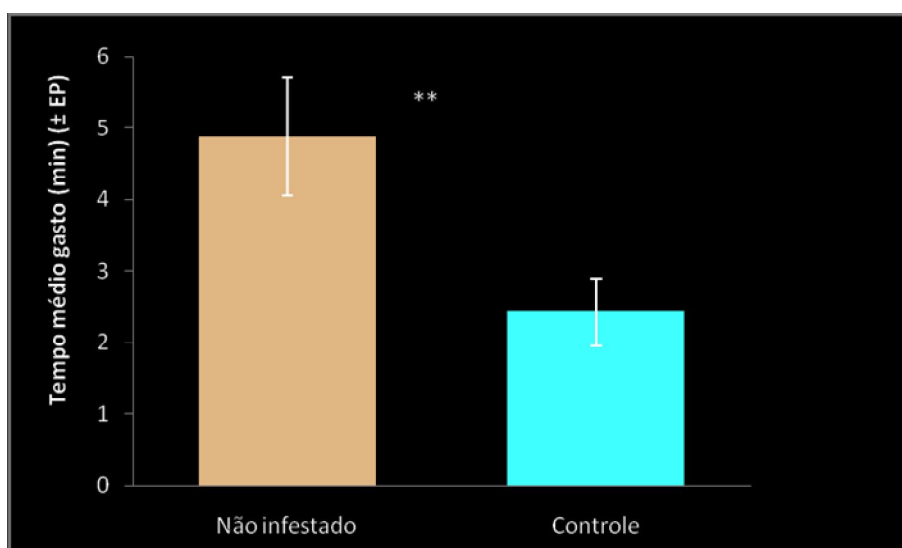


Figura 2 – Resposta do parasitóide *A. colemani* aos voláteis emitidos pela cultivar Cambuci não-infestada em relação ao controle.

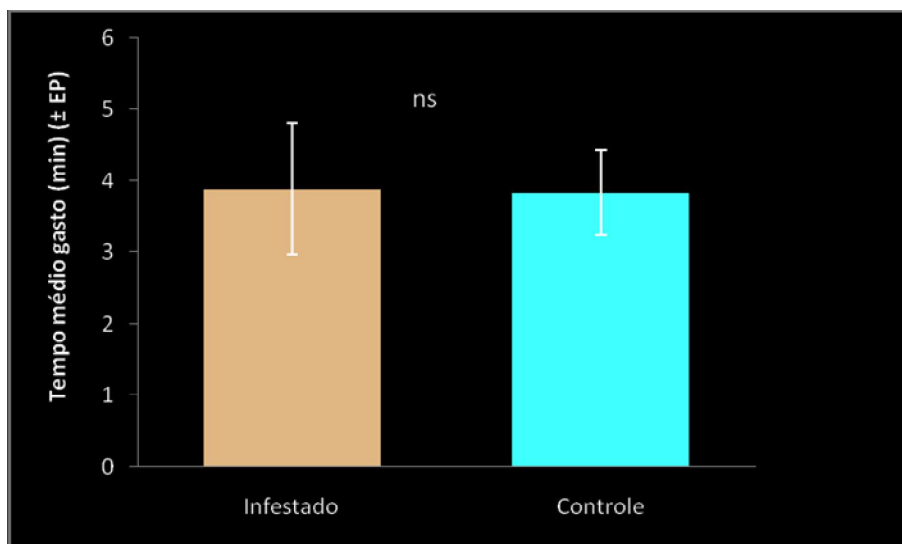


Figura 3 – Resposta do parasitóide *A. colemani* aos voláteis emitidos pela cultivar All Big infestada em relação ao controle.

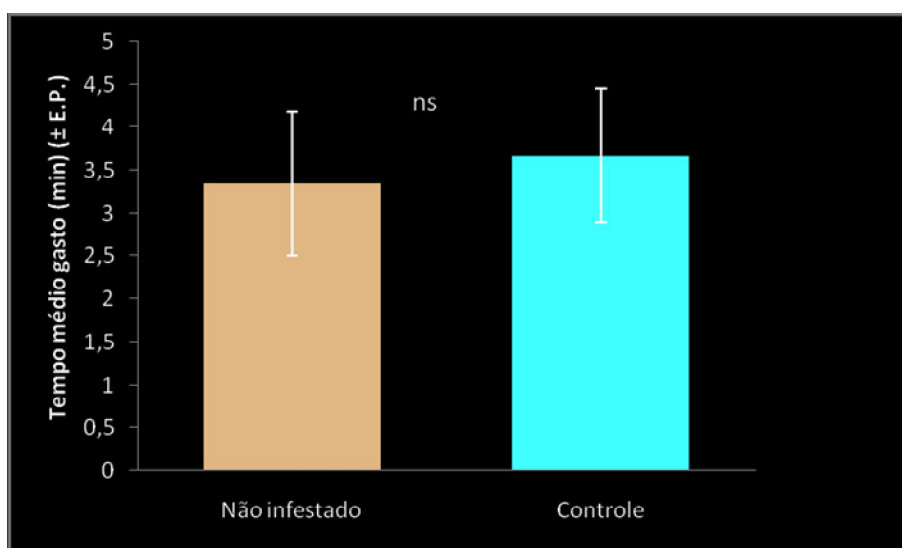


Figura 4 – Resposta do parasitóide *A. colemani* aos voláteis emitidos pela cultivar All Big não-infestada em relação ao controle.

6.2.4 Discussão

Os resultados obtidos em ensaios de olfatométrica mostraram que os compostos voláteis liberados pelas plantas da cultivar Cambuci tanto infestada quanto as não-infestadas atraíram o parasitóide *A. colemani*. Resultados semelhantes foram obtidos por Lo Pinto et al. (2004) com *Lysiphlebus testaceipes* e *A. colemani* sobre *Aphis gossypii* em *Cucumis sativa* L. Pareja et al. (2007) verificaram que *Aphidius funebris* foi

atraído para os odores de *Centaura nigra* não-danificada, mas preferiram os odores do complexo planta – hospedeiro após três dias de infestação com 200 indivíduos do pulgão *Uroleucon jaceae*. Já Grasswitz (1998) verificou que fêmeas de *A. colemani* responderam significativamente para plantas infestadas com *Myzus persicae* Sulzer quando comparadas com as plantas sadias. Em relação aos resultados obtidos pelas plantas infestadas verifica-se que estão de acordo com estudos anteriores (Dicke et al. 1990; Turlings et al. 1990; Vet and Dicke 1992, Pare and Tumlinson 1999; Drukker et al. 2000, Kessler and Baldwin 2001; Moayeri et al. 2006; Pérez et al. 2007; Jönsson and Anderson 2008). Resultados semelhantes também foram obtidos por Bahadoorsingh e Khan (2006) que verificaram que o parasitóide *Lysiphlebus testaceipes* exibiu forte atração aos odores de folhas infestadas pelo afídeo *Toxoptera citricida*. Assim, a resposta significativa do comportamento dos parasitóides aos odores do genótipo Cambuci possivelmente deve-se a presença dos cinco e nove compostos diferentes identificados para este genótipo antes e após a infestação, respectivamente. Um desses compostos, a 6-metil-5-hepten-2-ona também é conhecida por ser uma substância atrativa ao parasitóide *Aphidius ervi* (Du et al.1998) e ao parasitóide *Aphidius funebris* (Pareja et al. 2007).

Estudos com olfatômetro mostraram que o parasitóide *Diglyphus isaea* Walker localizou a larva hospedeira de *Liriomyza trifolii* Burgess baseado nos sinais voláteis liberados pelo complexo planta - hospedeiro. Fêmeas de *D. isaea* foram fortemente atraídas pelos odores provenientes de plantas de feijão danificadas, enquanto não responderam aos odores das plantas sadias. Análises químicas mostraram que entre os componentes presentes, o *cis*-3-hexen-1-ol and 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona, apresentaram-se em quantidades significativas maiores nos extratos das folhas danificadas do que nos extratos das folhas não-danificadas. O dano imposto por larvas sobre a planta provocou a liberação dessas substâncias, o que provavelmente levou à atração do parasitóide para a larva (Finidori-Logli et al. 1996).

Em relação aos resultados obtidos com os voláteis de plantas não-infestadas, que também atraíram os parasitóides, poderia ser devido a presença dos cinco compostos voláteis no cultivar Cambuci e ausentes no cultivar All Big. Entretanto, estudos com eletroantenografia fazem-se necessários para confirmar ou não o efeito destes compostos. Guerrieri et al., 1997 e Powell et al. 1998 sugeriram que o aprendizado para responder às plantas sadias pode servir para prolongar o forrageamento do parasitóide

para um determinado habitat durante os períodos de baixa densidade do afídeo, quando os voláteis induzidos pela herbivoria seriam escassos ou ausentes. Outra hipótese é que as plantas podem produzir, mesmo em pequenas quantidades, os mesmos odores produzidos pelos herbívoros.

A indiferença no comportamento dos parasitóides em relação aos voláteis das plantas da cultivar All Big mostra que, mesmo dentro da mesma espécie, existem diferenças na liberação de compostos voláteis em relação ao comportamento dos insetos. Variação na produção de compostos orgânicos voláteis tem sido identificada para diferentes cultivares de milho (Hoballah et al. 2004), algodão (Loughrin et al. 1995), arroz (Lou et al. 2006), cenoura (Nissinen et al. 2005), pêra (Scutareanu et al. 2003), tomate (Thaler 2002), lótus (Ozawa et al. 2000), gérbera (Krips et al. 2001) e crucíferas (Bukovinszky et al. 2005).

Outra razão para a ausência de resposta dos parasitóides aos voláteis das plantas da cultivar All Big pode ser devido ao número de insetos sobre as plantas. No complexo *Centaurea nigra* x *Aphidius funebris* e *U. jaceae* foi necessária uma densidade inicial alta de afídeos para aumentar a atração do parasitóide (Pareja et al. 2007), que contrasta com o sistema *Vicia faba* x *A. pisum*, onde foram necessários apenas 40 afídeos por três dias para causar resposta no comportamento do parasitóide (Guerrieri et al. 1999). Portanto, a resposta do comportamento do parasitóide depende das espécies envolvidas (planta x afídeo x parasitóide) e da variação genética existente dentro de cada espécie em relação à emissão e recepção dos sinais voláteis emitidos.

6.2.5 Conclusões

Existem diferenças significativas entre os efeitos dos compostos voláteis das duas cultivares sobre o comportamento do parasitóide *A. colemani*;

Os voláteis emitidos pela cultivar Cambuci exerceram efeito atrativo ao *A. colemani* influenciando na interação tritrófica pimentão, *A. gossypii* e *A. colemani*;

Os compostos voláteis emitidos pela cultivar All Big, mesmo após a herbivoria, não exerceram efeito sobre o comportamento do *A. colemani*.

6.2.6 Referências

Aharoni A, Giri, AP, Deuerlein S, Griepink F, Kogel WJ, Verstappen FWA, Verhoeven HA, Jongsma MA, Schwab W and Bouwmeester HJ (2003) Terpenoid metabolism in wild-type and transgenic Arabidopsis plants. **Plant Cell** 15: 2866-2884.

ANVISA (2009) Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos – PARA 2008. www.anvisa.gov.br

Bahadoorsingh R, Khan A (2006) Olfactory mediated interactions between Citrus aurantium, Toxoptera citricida and Lysiphlebus testaceipes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, p. 1587-1591.

Bernasconi ML, Turlings TCJ, Ambrosetti L, Bassetti P and Dorns S (1998) Herbivore-induced emissions of maize volatiles repel the corn leaf aphid, *Rhopalosiphum maidis*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 87, p. 133-142.

Bukovinszki T, Gols R, Posthumus MA, Vet LEM, van Lenteren JC (2005) Variation in plant volatiles and attraction of the parasitoid Diadegma semiclausum (Helen). **Journal Chemical Ecology**, v. 31, p. 461-480.

Costa JG, Pires EV, Riffel A, Birkett MA, Bleicher E, Sant'Ana AEG (2010) Differential preference of *Capsicum* spp. cultivars by *Aphis gossypii* is conferred by variation in volatile semiochemistry. **Euphytica**. (prelo).

De Moraes CM, Mescher MC, Tumlinson JH. 2001. Caterpillar-induced nocturnal plant volatiles repel nonspecific females. **Nature**, v. 410, p. 577–80

Dicke M, Abelson MW, Takabayashi J, Bruin J and Posthumus MA (1990) Plant strategies of manipulating predator-prey interactions through allelochemicals: Prospects for application in pest control. **Journal Chemical Ecology**, v. 16, p. 3091-3117.

Dicke M, Van Loon JJA (2000) Multitrophic effects of herbivore-induced plant volatiles in an evolutionary context. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 97, p. 237–249.

Drukker B, Bruin J, Jacobs G, Kroon A, Sabelis MW (2000) How predatory mites learn to cope with variability in volatile plant signals in the environment of their herbivorous prey. **Experimental and Applied Acarology**, v. 24, p. 881-895.

Du DJ, Poppy GM, Powell W, Pickett JA, Wadhams LJ and Woodcock CM (1998) Identification of semiochemicals released during aphid feeding that attract the parasitoid *Aphidius ervi*. **Journal Chemical Ecology**, v. 24, p.1355-1368.

Finidori-Logli V, Bagnères AG, Clement JL (1996) Role of plant volatiles in the search host by parasitoid *Diglyphus isaea* (Hymenoptera: Eulophidae). **Journal of Chemical Ecology**, v. 22, p. 541-558.

Frizzone, J.A.; Gonçalves, A.C.A.; Rezende, R. Produtividade do pimentão amarelo, *Capsicum annum* L., cultivado em ambiente protegido, em função do potencial mátrico de água no solo. **Acta Scientiarum**, v.23, p.1111-1116, 2001.

Grasswitz TR (1998) Effect of adult experience on the host-location behavior of the aphid parasitoid *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Aphidiidae). **Biological Control**, v. 12, p.177-181.

Guerrieri E, Pennacchio F, Tremblay E (1997) Effect of adult experience on in-flight orientation to plant and plant-host complex volatiles in *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Braconidae). **Biological Control**, v.10, p.159-165.

Guerrieri E, Poppy GM, Powell W, Tremblay E, Pennacchio F (1999) Induction and systemic release of herbivore-induced plant volatiles mediating in-flight orientation of *Aphidius ervi*. **Journal Chemical Ecology**, v. 25, p.1247-1261.

Hoballah MEF, Kollner TG, Degenhardt J, Turlings TCJ (2004) Costs of induced volatile production in maize. **Oikos**, v. 105, p.168-180.

Jönsson M and Andersom P (2008) Emission of oilseed rape volatiles after pollen beetle infestation; behavioural and electrophysiological responses in the parasitoid *Phradis morionellus*. **Chemoecology**, v. 17, p. 201-207.

Kessler A and Baldwin IT (2001) Defensive function of herbivore-induced plant volatile emissions in nature. **Science**, v. 291, p. 2141-2144.

Krips OE, Willems PEL, Gols R, Posthumus MA, Gort G, Dicke M (2001) Comparison of cultivars of ornamental crop *Gerbera jamesonii* on production of spider mite-induced volatiles, and their attractiveness to the predator *Phytoseiulus persimilis*. **Journal Chemical Ecology**, v. 27, p.1355-1372.

Lo Pinto M, Wajnberg E, Colazza S, Curty C, Fauvergue X (2004) Olfactory response of two aphid parasitoids, *Lysiphlebus testaceipes* and *Aphidius colemani*, to aphid-infested plants from a distance. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 110, p. 159-164.

Lorentz LH, Lúcio AD (2009) Tamanho e forma de parcela para pimentão em estufa plástica. **Ciência Rural**, v.39, n.8, p.2380-2387.

Lou YG, Hua XY, Turlings TCJ, Cheng JA, Chen XX, Ye, GY (2006) Differences in induced volatile emissions among rice varieties result in differential attraction and parasitism of *Nilaparvata lugens* eggs by the parasitoid *Anagrus nilaparvatae* in the Field. **Journal Chemical Ecology**, v. 32, p.2375-2387.

Loughrin JH, Manukian A, Heath RR, Tumlinson JH (1995) Volatiles emitted by different cotton varieties damaged by feeding beet armyworm larvae. **Journal Chemical Ecology**, v. 21, p.1217-1227.

Moyaeri HRS, Ashouri A, Brodsgaard HF, Enkegaard A (2006) Odour-mediated responses of a predatory mired bug and its prey, the two spotted spider mite. **Experimental and Applied Acarology**, v. 40, p. 27-36

Nissinen A, Ibrahim M, Kainulainen P, Tiilikkala K, Holopainen JK (2005) Influence of carrot psyllid (*Trioza apicalis*) feeding or exogenous limonene or methyl jasmonate treatment on composition of carrot (*Daucus carota*) leaf essential oil and headspace volatiles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 8631-8638.

Ozawa R, Shimoda T, Kawaguchi M, Arimura G, Horiuchi J, Nishioka T, Takabayashi J (2000) Lotus japonicus infested with herbivorous mites emits volatile compounds that attract predatory mites. **Journal Plant Resources**, v. 113, p.427-433.

Paré PW and Tumlinson JH (1999) Plant volatiles as a defense against insect herbivores. **Plant Physiology**, v. 121, p. 325-331.

Pareja M, Moraes MCB, Clark SJ, Birkett MA and Powell W (2007) Response of the aphid parasitoid *Aphidius funebris* to volatiles from undamaged and aphid-infested *Centaurea nigra*. **Journal Chemical Ecology**, v. 33: 695-710.

Pérez ML, Argdín MF and Powell W (2007) Foraging behavior of the parasitoid *Lysiphlebus testaceipes* (Hymenoptera: Braconidae) in response to plant volatiles, with reference to biocontrol of aphids in peri-urban vegetable production systems. **Biocontrol Science Tecnology**, v. 17, p. 677-686. doi: 10.1080/09583150701408949.

Pettersson J (1970) Studies on *Rhopalosiphum padi* (L). I. Laboratory studies of olfactometric responses to the winter host *Prunus padus* (L.), **Lantbr. Hoegsk. Annals**, v. 36, p. 381–399.

Powell W, Pennacchio F, Poppy GM, Tremblay E (1998) Strategies involved in the location of host by the parasitoid *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae). **Biological Control**, v. 11, p. 104-112.

Scutareanu P, Bruin J, Posthumus MA, Drukker B (2003) Constitutive and herbivore-induced volatiles in pear, alder and hawthorn trees. **Chemoecology**, v. 13, p. 63-74.

Silva, A.G.d'A., C.R.Gonçalves, D.M. Galvão, A.J.L. Gonçalves, J. Gomes, M.N. Silva & L. Simoni. 1968. Ordem Thysanoptera, p. 18-33. In Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil; seus parasitos e predadores. Tomo 1, pt. 2. Rio de Janeiro, Min. Agric., 622p

Stewart-Jones A and Poppy GM (2006) Comparison of glass vessels and plastic bags for enclosing living plant parts for headspace analysis. **Journal Chemical Ecology**, v. 32, p. 845-864.

Thaler JS (2002) Jasmonate-deficient plants have reduced direct and indirect defenses against herbivores. **Ecology Letters**, v. 5, p. 764-774.

Turlings TCJ, Tumlinson JH, Eller FJ and Lewis WJ (1990) Exploitation of herbivore-induced plant odors by host-seeking parasitic wasps. **Science**, v. 250, p. 1251-1253.

Vancanneyt G, Sanz C, Farmaki, T, Paneque M, Ortego F, Castanera P and Sanchez-Serrano JJ (2001) Hydroperoxide lyase depletion in transgenic potato plants leads to an increase in aphid performance. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 98, p. 8139-8144.

Verheggen FJ, Capella Q, Schwartzberg EG, Voigt D, Haubruge E (2009) Tomato-aphid-hoverfly: a tritrophic interaction incompatible for pest management. **Arthropod-Plant Interactions**, v. 3, p.141–149.

Vet LEM and Dicke M (1992) Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. **Annual Review of Entomology**, v. 37, p. 141-172.

Weintraub PG (2007) Integrated control of pests in tropical and subtropical sweet pepper production. **Pest Management Science**, v. 63, p. 753-760.

6.3 Respostas do afídeo *Aphis gossypii* e parasitóide *Aphidius colemani* aos compostos voláteis emitidos após aplicação de *cis*-jasmona em pimentão

Resumo: Compostos orgânicos voláteis vêm sendo muito utilizados visando indução de resistência em plantas contra a herbivoria, evitando as aplicações excessivas de inseticidas. A *cis*-jasmona é um dos compostos promissores para indução de voláteis em plantas, por ativar a defesa baseada em sinais químicos dos compostos voláteis sem influenciar indevidamente outros importantes processos fisiológicos da planta. Assim, objetivou-se neste trabalho verificar o efeito da *cis*-jasmona na interação pimentão – pulgão - parasitóide. Ensaio comportamentais com afídeos e parasitóides foram conduzidos usando os compostos voláteis do cultivar de pimentão All Big (considerado suscetível ao pulgão *Aphis gossypii*) com e sem *cis*-jasmona em olfatômetro. Ensaio também foram realizados para avaliar o efeito da *cis*-jasmona sobre a incidência do pulgão em plantas de pimentão em estufa telada. Os resultados obtidos em bioensaios com olfatômetro mostraram que os odores emitidos pelas plantas de pimentão após a aplicação de *cis*-jasmona proporcionaram um efeito repelente ao pulgão e atraente ao parasitóide. Ensaio conduzido em estufa plástica mostrou que as plantas tratadas com *cis*-jasmona apresentaram redução na incidência de pulgões, em relação às plantas não tratadas. Estes resultados evidenciam que a *cis*-jasmona tem potencial para controle de pulgões em pimentão cultivado em ambiente protegido.

Palavras-chave: Defesa induzida, ecologia química, *cis*-jasmona, interação tritrófica

Abstract: Volatile organic compounds have been widely used in order to induce resistance in plants against herbivores, avoiding excessive applications of pesticides. *Cis*-jasmonone is one of the promising compounds to induce resistance in plants by activating a defense based on chemical signals without unduly influencing other important plant physiological processes. Thus, this study aimed to investigate the effect of *cis*-jasmonone on the bell pepper – aphid – parasitoid interaction. Behavioral tests with aphids and parasitoids were conducted with the bell pepper cultivar All Big, with and without *cis*-jasmonone. Tests were also conducted to evaluate the effect of *cis*-jasmonone on the incidence of aphids on pepper plants in a greenhouse with a screen. The results obtained from olfactometer bioassays showed that the odors emitted by pepper plants after application of *cis*-jasmonone provided a repellent effect to the aphids and attracted the parasitoids. Trials conducted in a greenhouse showed that plants treated with *cis*-jasmonone showed a reduction in the incidence of aphids, in relation to untreated plants. These results indicate that *cis*-jasmonone has the potential to control aphids on bell pepper plants cultivated in a protected environment.

Key words: Induced defense, chemical ecology, *cis*-jasmonone, tritrophic interactions

6.3.1. Introdução

As plantas desenvolveram, ao longo de sua evolução, uma variedade de mecanismos para suportar os danos e estresses causados por fatores bióticos e abióticos. Um destes mecanismos envolve a emissão de compostos voláteis conhecidos como aleloquímicos, substâncias que afetam organismos de espécies diferentes do emissor, por qualquer razão que não seja alimentar (Law e Regnier 1971), e que podem comprometer o desenvolvimento de patógenos e o comportamento de insetos herbívoros à procura de uma fonte de alimentação.

As respostas induzidas por dano em plantas são mediadas por compostos provenientes da via octadecanóide, entre os quais estão o ácido jasmônico e o jasmonato de metila (Wasternack et al. 2006). Os voláteis emitidos pelas plantas compreendem isoprenóides, carotenóides, benzenóides, fenilpropanóides, e compostos derivados de ácidos graxos e aminoácidos (Dudareva et al. 2006, Turlings et al. 1998). Esses compostos voláteis provêm informação sobre o estado do ataque da planta induzida, podendo ativar também as defesas induzidas de plantas adjacentes da mesma ou de outras espécies (Bruin e Sabelis 2001, Dicke e Dijkman 2001, Heil e Kost 2006, Karban 2001).

Em tomateiro, a aplicação artificial do ácido jasmônico resultou na indução de inibidores de proteases e polifenol oxidases, e uma diminuição na preferência, no desempenho e na abundância de muitos herbívoros como *Frankliniella occidentalis* (tripes), *Spodoptera exigua* e *Trichoplusia ni* (lepidópteros), *Epitrix hirtipennis* (coleóptero) e *Macrosiphum euphorbiae* e *Myzus persicae* (afídeos) (Thaler et al. 1996). Entretanto, o ácido jasmônico pode afetar o desenvolvimento e a fisiologia vegetal, o que poderia alterar o rendimento de plantas, independentemente dos efeitos sobre a herbivoria (Fan et al. 1997, Koda 1997). Por exemplo, o ácido jasmônico exógeno diminuiu a taxa fotossintética das plantas (Metodiev et al. 1996), reduziu a formação de gemas (Barendse et al. 1985), e aumentou a produção de etileno, um hormônio envolvido na maturação (Saniewski et al. 1987).

Outro composto envolvido na ativação de resistência de plantas a insetos é a *cis*-jasmona. Ela atua como um sinal externo, alertando tanto a planta receptora quanto a planta vizinha não danificada por insetos e, por meio deste, prepara a planta para ativar as suas defesas na iminência de um ataque. As seguintes espécies de plantas foram

tratadas com *cis*-jasmona e mostraram-se menos atrativas aos pulgões e mais atrativas a parasitóides: *Triticum aestivum* (Bruce et al. 2003a), *Vicia faba* (Bruce et al. 2003b), *Arabidopsis thaliana* (L.) (Bruce et al. 2008). Nesses estudos, observou-se que a indução de plantas com *cis*-jasmona causou um aumento na liberação de (E)-ocimeno, o qual é considerado um estimulante alimentar para parasitóides.

A repelência de algumas pragas devido aos voláteis de plantas induzidas tem sido verificada em estudos realizados por Birkett et al. (2000), Bruce et al. (2003a) e De Moraes et al. (2001). Birkett et al. (2000) e Bruce et al. (2003a) descreveram que os voláteis das plantas induzidas pela aplicação exógena de *cis*-jasmona repeliram afídeos tanto em laboratório quanto no campo.

A indução com *cis*-jasmona oferece uma oportunidade para ativar a defesa da planta baseada em sinais químicos voláteis, sem influenciar indevidamente outros importantes processos fisiológicos e de rendimento da planta.

O pimentão (*Capsicum anuum* L.) é uma hortaliça de grande importância sócio-econômica para o Brasil, devido ao número de empregos gerados na sua cadeia produtiva (Frizzzone et al. 2001). Ultimamente, tem-se observado um aumento significativo no cultivo protegido de hortaliças, e o pimentão é uma das culturas que vêm mais sendo exploradas. Porém, há uma incidência acentuada de afídeos que podem proporcionar danos significativos ao pimentão. O controle químico de afídeos é viável e vem sendo empregado, mas além da possibilidade do surgimento de biótipos resistentes, pode apresentar inconvenientes em relação ao meio ambiente. Com relação a esse problema, o pimentão foi o alimento que apresentou o maior índice de irregularidades com relação a resíduos de agrotóxicos em 2009 (ANVISA 2010). 80% das amostras analisadas pelo Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Brasil (ANVISA) apresentaram problemas. Nestas, foram identificados 22 ingredientes ativos diferentes, dos quais 18 não estavam autorizados para esta cultura e 4 estavam presentes em níveis acima do limite máximo de resíduos estabelecido pela legislação.

Devido a esses problemas, torna-se importante a descoberta de formas alternativas para reduzir os danos causados por insetos-praga para esta cultura. Uma das alternativas que se apresentam viáveis é o uso da indução de resistência, que pode ser utilizada juntamente com controle biológico no manejo integrado de pragas. Assim, o

objetivo deste estudo foi investigar o efeito da *cis*-jasmona sobre a interação pimentão, afídeo e parasitóide em condições de laboratório e casa-de-vegetação.

6.3.2. Material e Métodos

6.3.2.1 Obtenção das Plantas e insetos

Sementes de pimentão (*Capsicum annuum*) das variedades Yolo Wonder e All Big foram semeadas em bandejas de isopor contendo substrato comercial bioplant. As plantas foram mantidas nesses recipientes até atingirem 10 a 15 cm de altura, tamanho suficiente para serem transplantadas para vasos plásticos de 2L contendo uma mistura de terra e areia, na proporção de 2:1. As plantas da variedade Yolo Wonder permaneceram na casa-de-vegetação para criação dos afídeos e parasitóides. As plantas da variedade All Big, com 60 dias após a germinação, foram cultivadas em vasos de 12,5cm de diâmetro e utilizadas para realização dos ensaios com aplicação de *cis*-jasmona e para a coleta de compostos voláteis.

Aphis gossypii e *Aphidius colemani* foram obtidos em plantas de pimentão cultivados em hortas no município de Maceió, Alagoas. Estes foram mantidos em plantas de pimentão da variedade Yolo Wonder, em casa de vegetação com temperatura e luminosidade naturais, e protegidas em gaiolas com tela antiafídica (1,0 x 1,0 x 0,5m).

6.3.2.2 Tratamento das plantas

Cada planta foi alocada aleatoriamente em um dos seguintes tratamentos: tratado e não-tratado com *cis*-jasmona. Foram utilizadas 20 plantas em cada tratamento. Plantas tratadas com *cis*-jasmona (Aldrich com 90% i.a.) foram pulverizadas com uma dose de 50 g ha⁻¹ emulsionados com Tween 20 na concentração de 0,1% em água. A coleta dos compostos voláteis foi realizada 72 horas após o tratamento.

6.3.2.3 Coleta de compostos voláteis

Os compostos voláteis foram coletados das plantas tratadas e não-tratadas com *cis*-jasmona utilizando o adsorvente Porapak Q (80/100 mesh, 0,05 g; Supelco). As plantas foram colocadas dentro de sacos de poliéster e de polietileno como descrito por Stewart-Jones e Poppy (2006), isolando o vaso e o solo com papel alumínio. Ar foi

injetado no saco plástico passando antes por um filtro de carvão ativo a um fluxo de 400 mL/min. por planta. Tubos com Porapak Q foram utilizados no topo do saco para coleta do ar e compostos voláteis. As plantas foram aeradas por um período de 24 horas. Ao término das aerações os compostos voláteis foram dessorvidos com 500 μ L de éter dietílico e armazenado a -20°C até o uso.

6.3.2.4 Bioensaios de olfatometria

Ensaios comportamentais com *A. gossypii* e *A. colemani* foram conduzidos usando os voláteis da variedade de pimentão All Big, considerada suscetível ao *Aphis gossypii* (Costa et al., 2010). Testes comportamentais foram realizados utilizando olfatômetro de quatro braços (Pettersson 1970) iluminado com uma lâmpada difusa uniforme e sob temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$. A parte inferior do aparelho foi forrada com papel filtro (Whatman, nº 1), e o ar foi sugado a uma razão de 350mL/min., dos quatro braços em direção ao centro do aparelho. Cada inseto foi introduzido na câmara por um orifício central, e o tempo de permanência em cada braço foi registrado usando o software OLFA por um período de 16 min. O aparelho foi girado a cada 4 minutos para eliminar o viés direcional. Aliquotas (10 μ L cada) das amostras foram aplicadas a tiras de papel de filtro e o solvente deixado evaporar-se por 30 s. O papel filtro com a amostra foi então colocado no final do braço do lado tratado. Os três braços do controle foram igualmente tratados com 10 μ L de éter dietílico em papel filtro. A média do tempo de permanência do inseto nos braços do tratamento foi comparada com a média do tempo de permanência nos braços controle. Cada experimento foi repetido 20 vezes e os resultados analisados por estatística não-paramétrica (teste de Wilcoxon).

6.3.2.5 Efeito da *cis*-jasmona aplicada sobre as plantas de pimentão em relação à infestação de *A. gossypii* em estufa plástica

O experimento foi instalado em delineamento de blocos ao acaso, no sentido da linha, utilizando-se 15 plantas dispostas em três fileiras (5 plantas em cada fileira), adaptando recomendações de Lorentz et al. (2005) e de Lorentz e Lúcio (2009). Foram testados dois tratamentos (plantas controle e plantas tratadas com *cis*-jasmona) em 15 blocos ou repetições. As parcelas obedeceram a uma distância de 3 m uma das outras. Foram utilizadas as plantas da fileira central como parcela útil. A *cis*-jasmona foi aplicada em plantas com 60 dias após o transplântio, na dosagem de 50 g.ha⁻¹. A

avaliação da incidência de *A. gossypi* total foi realizada sete dias após a aplicação da *cis*-jasmona, coletando-se três folhas de cada planta para contagem em laboratório.

Os dados foram transformados com a equação $\sqrt{x+1}$ e submetidos à análise de variância, utilizando-se o programa estatístico SAEG.

6.3.3. Resultados e Discussão

6.3.3.1 Efeito da *cis*-jasmona sobre o comportamento de *A. gossypii*

Os ensaios desenvolvidos em olfatômetro mostraram que não houve diferença estatística significativa para o comportamento de *A. gossypii* entre os voláteis emitidos pelas plantas da cultivar All Big não-tratadas com *cis*-jasmona ($P=0,31$ pelo teste de Wilcoxon) em relação ao controle (Fig.1). Entretanto, *A. gossypii* respondeu preferencialmente aos odores do controle em relação aos voláteis das plantas de pimentão tratadas com *cis*-jasmona ($P<0,03$ pelo teste de Wilcoxon) (Fig. 2). Resultados semelhantes foram obtidos com o pulgão da alface, *Nasonovia ribis nigri* (Mosley) (Birkett et al. 2000) e com os afídeos dos cereais *Metopolophium dirhodum* (Walker), *Sitobion avenae* (Fabricius), *Rhopalosiphum padi* (Linnaeus) (Bruce et al. 2003a, 2003b), *Acyrtosiphum pisum* (Birkett et al. 2000), *Myzus persicae* (Bruce et al. 2008) (Hemiptera: Aphididae).

A constatação de que os voláteis emitidos pelas plantas intactas e sem *cis*-jasmona não afetaram o comportamento do pulgão, demonstra a ação da *cis*-jasmona como indutor de voláteis nas plantas que ativam genes de resistência. Esta resistência pode dever-se ao fato de que a aplicação da *cis*-jasmona em plantas aumenta os níveis de (E,E)- α -farneseno, β -cariofileno, (E)-4,8-dimetil-1,3,7-nonatrieno e (E)- β -ocimeno (Birkett et al. 2000), compostos cuja liberação por plantas atacadas por insetos herbívoros tem sido verificada como repelente (Turlings et al., 1995).

Os compostos voláteis emitidos pelas plantas da cultivar All Big tratadas e não-tratadas com *cis*-jasmona encontram-se na Tabela 1. Verifica-se que apenas 3 compostos foram comuns aos dois tratamentos submetidos. Estes resultados estão de acordo com os de Bruce et al. (2008) que relatam que a *cis*-jasmona alterou a composição dos voláteis emitidos por plantas de *A. thaliana*, e que estes estavam associados com a alteração nas respostas comportamentais de insetos generalistas testados. Estes autores verificaram também que *Mizus persicae* foi repelido pelos

compostos voláteis das plantas tratadas, enquanto foram atraídos pelos compostos voláteis das plantas não tratadas. Ambos, o generalista *M. persicae* e o especialista *Lipaphis erysimi*, mostraram atração significativa pelos voláteis das plantas não-tratadas. Para *M. persicae*, esta resposta comportamental foi revertida pelo tratamento com cis-jasmona, o que acarretou numa significativa repelência do mesmo após a indução das plantas. Ao contrário, *L. erysimi* ainda mostrou significativa atração pelos compostos voláteis das plantas induzidas por cis-jasmona, sugerindo que insetos especialistas usam diferentes semioquímicos para reconhecer a planta hospedeira (Bruce et al. 2008).

Tabela 1 – Compostos orgânicos voláteis emitidos pela cultivar de pimentão All Big após aplicação de *cis*-jasmona.

Composto	Com <i>cis</i> -jasmona	Sem <i>cis</i> -jasmona	Infestado
1-Phenyl-3,3-Dimetildecano	X	-	-
2,2,3,3,5,6,6-Heptametilheptano	X	-	-
2,2,4-Trimetilhexano	X	-	-
2,2-Dimetil-1-octanol	X	-	-
2,3,5,8-Tetrametildecano	X	-	-
2,3,6-Trimetildecano	X	-	-
2,4-Dimetil, 1-deceno	X	-	-
2,4-Dimetil-1-deceno	X	-	-
2,4-Dimetilundecano	X	-	-
2,5-Dimetilundecano	X	-	-
2,6,11,15-Tetrametilhexadecano	X	-	-
2,6,7-Trimetildecano	X	-	-
2,6-Dimetilnonano	X	-	-
2,6-Dimetilundecano	X	-	-
2,8-Dimetilundecano	X	-	-
2-Butil-1-octanol	X	-	-
2-Metil-3-etil, heptano	X	-	-
2-Metil-5-etilheptano	X	-	-
2-Metil-5-etilheptano	X	-	-
2-Metilundecano	X	-	-
2-Pentanone 4-hidroxi-4-metil	X	-	-
3,3-Dimetiloctano	X	-	-
3,5-Dimetiloctano	X	-	-
3,7-Dimetil-1-octanol	X	-	-
3-Etiloctano	X	-	-
3-Hidroxi-2-butanona	X	X	X
3-Metil-3-etilhexano	X	-	-
4, 6,8-Trimetilnoneno-1	X	-	-
4,5-Dimetil-2-undeceno	X	-	-
4,6-Dimetildodecano	X	-	-
4,7-Dimetilundecano	X	-	-
4,8-Dimetilundecano	X	-	-

Continuação			
4-Metildecano	X	-	-
4-Metiltridecano	X	-	-
5-Metilundecano	X	-	-
7-Metil,1-Undeceno	X	-	-
Acid hexadecanóico, metil Ester	X	-	-
Cicloecosano	X	-	-
Cis-jasmona	X	-	-
Eicosano	X	-	-
Farnesano (2,6,10-Trimetildodecano)	X	-	-
Hexadecano	X	-	X
Isooctano	X	-	-
n-Decanal	X	X	X
n-Decano	X	-	-
n-Dodecanal	X	-	-
n-Dodecano	X	X	X
n-Heptadecano	X	-	-
n-Nonadecano	X	-	-
Nonadecanol	X	-	-
Nonano, 5-(1-metilpropil)	X	-	-
n-Pentadecano	X	-	-
n-Tetradecano	X	-	-
n-Tridecano	X	-	-
n-Undecano	X	-	-
Octadecano	X	-	-
Octano, 2, 3, 6,7-Tetrametil	X	-	-
Pentan-1,3-Dioldiisobutirato,2,2,4-Trimetil	X	-	-
Trans-2-Heptenal	X	-	-
Tricosano	X	-	-
Undecano	X	-	-

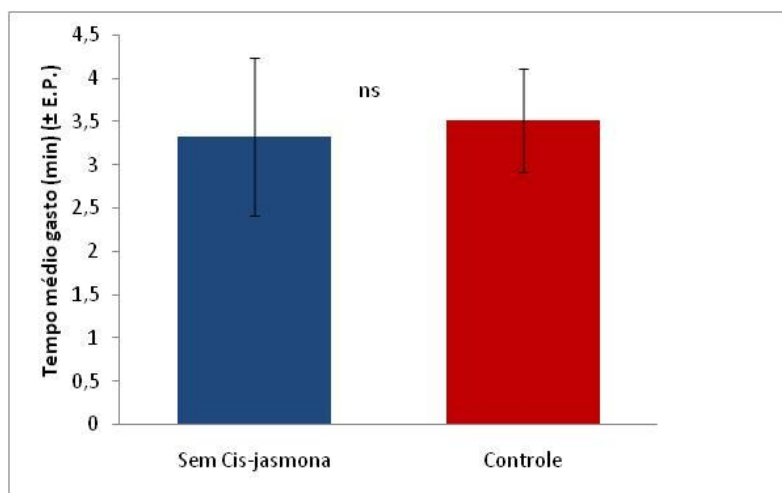


Figura 1 – Resposta de *Aphis gossypii* aos odores emitidos por plantas de pimentão (*Capsicum annuum* L.) da variedade All Big sem *cis*-jasmona. ($P>0,05$ pelo teste de Wilcoxon).

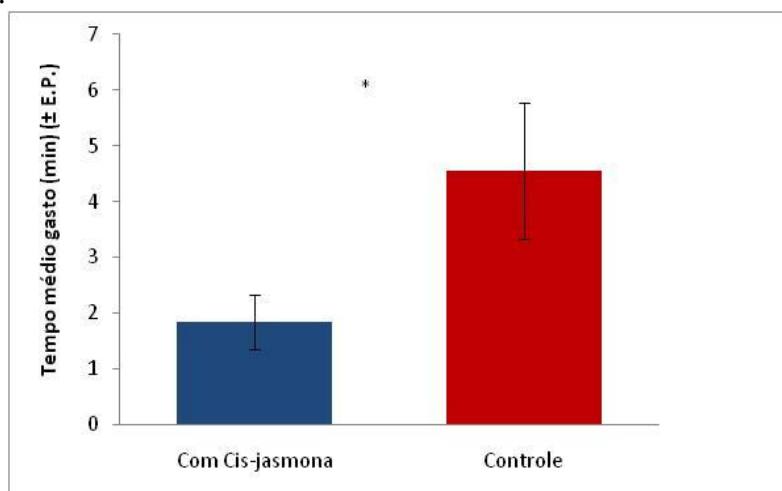


Figura 2 – Resposta de *Aphis gossypii* aos odores emitidos por plantas de pimentão (*Capsicum annuum* L.) da variedade All Big após aplicação de *cis*-jasmona ($P<0,03$ pelo teste de Wilcoxon).

6.3.3.2 Efeito da *cis*-jasmona sobre o comportamento de *A. colemani*

Ensaio desenvolvidos no olfatômetro mostraram que *A. colemani* não foi atraído pelos compostos voláteis emitidos pelas plantas da variedade All Big não-tratadas com *cis*-jasmona ($P=0,49$ pelo teste de Wilcoxon) em relação ao controle (Fig. 3). Entretanto, *A. colemani* respondeu preferencialmente aos odores das plantas de pimentão tratadas com *cis*-jasmona, quando comparadas com o controle ($P=0,001$ pelo teste de Wilcoxon) (Fig. 4). Este resultado indica que a cultivar All Big necessitou de uma substância química indutora de voláteis para eliciar uma resposta no

comportamento do parasitóide *A. colemani*. Estes resultados estão de acordo com os de Bruce et al. (2008), que verificaram que o parasitóide *Aphidius ervi* foi atraído pelos compostos voláteis emitidos das plantas de *A. thaliana* tratadas com *cis*-jasmona, mas não foi pelos compostos voláteis das plantas não tratadas. O parasitóide *A. ervi* também foi atraído por compostos voláteis de plantas de trigo (Bruce et al. 2003a) e fava (Birkett et al. 2000) induzidos.

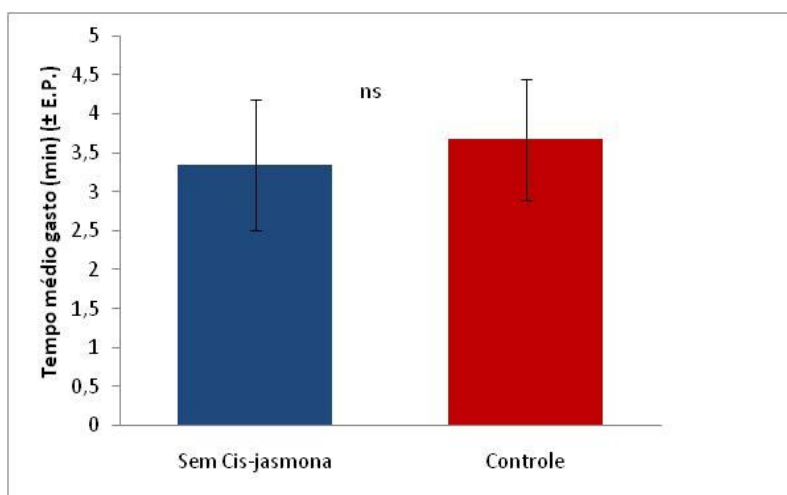


Figura 3 - Resposta de *A. colemani* aos odores emitidos por plantas de pimentão (*Capsicum annuum*) da variedade All Big sem aplicação da *cis*-jasmona ($P > 0,05$ pelo teste de Wilcoxon).

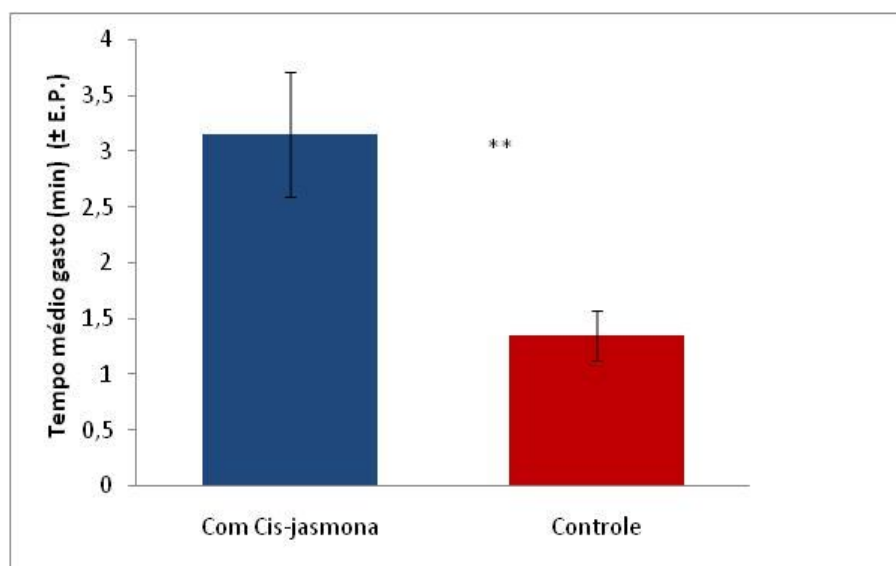


Figura 4 - Resposta de *A. colemani* aos odores emitidos por plantas de pimentão (*Capsicum annuum*) da variedade All Big após aplicação da *cis*-jasmona ($P < 0,01$ pelo teste de Wilcoxon).

6.3.3.4 Efeito da aplicação de *cis*-jasmona em plantas de pimentão sobre a incidência de pulgões em estufa plástica.

O ensaio realizado em estufa plástica apresentou redução significativa na infestação das plantas de pimentão tratadas com *cis*-jasmona em relação às não-tratadas (Tabela 2). Verifica-se que a aplicação da *cis*-jasmona reduziu a infestação de *A. gossypii* pela metade. Estes resultados confirmam aqueles obtidos em ensaios com olfatômetro que mostraram que os afídeos foram repelidos pelos voláteis das plantas tratadas com *cis*-jasmona. Estes resultados evidenciam que a utilização da *cis*-jasmona tem potencial para reduzir a infestação de *A. gossypii* em plantios de pimentão em cultivo protegido. Porém, mais ensaios nestas condições e em épocas distintas devem ser realizados para confirmar os resultados obtidos.

Tabela 2 – Efeito da *cis*-jasmona sobre o número médio de *A. gossypii* (NMAG) em plantas de pimentão variedade All Big cultivadas em telado. Maceió, AL. 2010

Tratamentos	NMAG	F
Sem <i>cis</i> -jasmona	97,94	5,32 (P<0,05)
Com <i>cis</i> -jasmona	45,67	

6.3.4. Conclusões

A *cis*-jasmona aplicada sobre plantas de pimentão modificou a emissão de voláteis da cultivar All Big que tiveram ação de repelência ao pulgão *A. gossypii* e ação atraente para o parasitóide *A. colemani*.

A utilização da *cis*-jasmona tem potencial para ser utilizada em plantios de pimentão em cultivo protegido com a finalidade de reduzir a infestação de *A. gossypii*.

6.3.5 Referências

ANVISA (2010) Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos – PARA 2009. www.anvisa.gov.br

Barendse GWM, Croes AF, Van den Ende G, Bosveld M and Creemers T (1985) Role of hormones on flower bud formation in thin-layer explant of tobacco. **Biologia Plantarum**, v. 27, p. 408–412.

Birkett MA, Campbell CAM, Chamberlain K, Guerrieri E, Hick AJ, Martin JL, Matthes M, Napier JA, Pettersson J, Pickett JA, Poppy GM, Pow EM, Pye BJ, Smart LE, Wadhams GH, Wadhams LJ, Woodcock CM (2000) New roles for cis-jasmone as an insect semiochemical and in plant defense. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 97, p. 9329-9334.

Bruce TJA, Martin JL, Pickett JA, Pye BJ, Smart LE, Wadhams LJ (2003a) cis-Jasmone treatment induces resistance in wheat plants against the grain aphid, *Sitobion avenae* (Fabricius) (Homoptera: Aphididae). **Pest Management Science**, v.59, p. 1031 - 1036 <http://dx.doi.org/10.1002/ps.730>

Bruce TJA, Pickett JA, Smart LE (2003b) cis-Jasmone switches on plant defence against insects. **Pesticide Outlook**, v. 14, p. 96 - 98 <http://dx.doi.org/10.1039/b305499n>

Bruce TJA, Wadhams LJ, Woodcock, CM (2005) Insect host location: a volatile situation. **Trends in Plant Science**, v. 10, p. 269-274

Bruce TJA, Mathes MC, Chamberlain K, Woodcock CM, Mohib A, Webster B, Smart LE, Birkett MA, Pickett JA, Napier JA (2008) cis-jasmone induces Arabidopsis genes that affect the chemical ecology of multitrophic interactions with aphids and their parasitoids. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.105, n.12, p.4553-4558.

Bruin J, Sabelis, MW (2001) Meta-analysis of laboratory experiments on plant–plant information transfer. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 29, p.1089-1102.

Costa JG, Pires EV, Riffel A, Birkett MA, Bleicher E, Sant’Ana AEG (2010) Differential preference of *Capsicum* spp. cultivars by *Aphis gossypii* is conferred by variation in volatile semiochemistry. **Euphytica**. (prelo).

De Moraes CM, Mescher MC, Tumlinson JH. 2001. Caterpillar-induced nocturnal plant volatiles repel nonspecific females. **Nature**, v. 410, p. 577–80

Dicke M, Dijkman H (2001) Within-plant circulation of systemic elicitor of induced defense and release from roots of elicitor that affects neighbouring plants. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 29, p. 1075–1087.

Dudareva N, Negre F, Nagegowda DA, Orlova I (2006) Plant volatiles: recent advances and future perspectives. **Critical Review Plant Science**, v. 25, p. 417-440.

Fan, L., Zheng, S., and Wang, X. (1997). Antisense suppression of PLD retards abscisic acid– and ethylene-promoted senescence in postharvest *Arabidopsis* leaves. **Plant Cell**, v. 9, p. 2183–2196.

Frizzzone JÁ, Gonçalves ACA, Rezende R (2001) Produtividade do pimentão amarelo, *Capsicum annum* L., cultivado em ambiente protegido, em função do potencial mátrico de água no solo. **Acta Scientiarum**, v. 23, p. 1111-1116.

Heil M. & Kost C. (2006) Priming in indirect defences, **Ecology Letters**, v. 9, p. 813-817.

Karban K (2001) Communication between sagebrush and wild tobacco in the field. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 29, p. 995–1005.

Koda Y (1997) Possible involvement of jasmonates in various morphogenic events. **Physiology Plant**, v. 100, p. 639-646.

Law JH, Regnier FE (1971) Pheromones. **Annual Review of Biochemistry**, v. 40, p. 533-548. 1971.

Lorentz LH, Lúcio AD (2009) Tamanho e forma de parcela para pimentão em estufa plástica. **Ciência Rural**, v.39, n.8, p.2380-2387.

Lorentz LH, Lúcio AD, Boligon AA, Lopes SJ, Storck L (2005) Variabilidade da produção de frutos de pimentão em estufa plástica. **Ciência Rural**, v. 35, p. 316-323.

Metodiev MV, Popova LP, Tsonev TS (1996) Effect of jasmonic acid on the stomatal and non-stomatal limitation of leaf photosynthesis in barley leaves. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 15, p. 75–80.

Moraes MCB, [Laumann RA](#), Pareja MF, Michereff MFF, Souza FTPS, Birkett MA, Pickett JA, [Borges M](#) (2009) Attraction of the stink bug egg parasitoid *Telenomus podisi* to defence signals from soybean activated by treatment with cis-jasmone. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 131, p. 178-188.

Pettersson J (1970) Studies on *Rhopalosiphum padi* (L). I. Laboratory studies of olfactometric responses to the winter host *Prunus padus* (L.), **Lantbr. Hoegsk. Ann.** v. 36, p. 381–399.

Saniewski M, Czapski J, Nowacki J (1987) Relationship between stimulatory effect of methyl jasmonate on ethylene production and 1-aminocyclopropane-1 carboxylic acid content in tomatoes. **Biologia Plantarum**, v. 29, p. 17-21.

Stewart-Jones A and Poppy GM (2006) Comparison of glass vessels and plastic bags for enclosing living plant parts for headspace analysis. **Journal Chemical Ecology**, v. 32, p. 845-864.

Thaler JS, Stout MJ, Karban R, Duffey SS (1996) Exogenous jasmonates simulate insect wounding in tomato plants (*Lycopersicon esculentum*) in the laboratory and field. **Journal of Chemical Ecology**, v. 22, p.1767-1781.

Turlings, TCJ; Loughrin, JH; McCall, PJ; Rose, USR; Lewis, WJ; Tumlinson, JH (1995). How caterpillar-damaged plants protect themselves by attracting parasitic wasps. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v.92, p. 4169-4174.

Turlings TCJ, Lengwiler UB, Bernasconi ML, Wechsler D (1998) Timing of induced volatile emissions in maize seedlings. **Planta**, v. 207, p. 146-152.

Wasternack C, Stenzel I, Hause G, Kutter C, Maucher H Neumerkel J, Feussner I, Miersch O (2006) The wound response in tomato – role of jasmonic acid. **Journal of Plant Physiology**, v.163, p. 297-306.

6.4 Caracterização química e divergência genética entre cultivares de pimentão em relação aos seus compostos orgânicos voláteis

Resumo: Os metabólitos secundários estão envolvidos nas interações da planta com outros organismos com várias evidências do envolvimento dessas substâncias na atração de agentes polinizadores, dispersores de sementes, na prevenção do crescimento de outras plantas e na defesa contra agentes predadores e patógenos. Em estudos realizados anteriormente constatou-se que o pulgão *A. gossypii* e o parasitóide *A. colemani* apresentaram comportamentos diferentes em relação a compostos orgânicos voláteis emitidos por cultivares de pimentão. Para ter uma melhor compreensão da base deste comportamento, tentou-se identificar a composição química desses compostos e determinar a variabilidade genética existente entre as cultivares de pimentão em relação aos compostos orgânicos voláteis emitidos. Assim, coletaram-se voláteis das plantas de sete variedades antes e após a infestação com o pulgão *A. gossypii* e as amostras foram analisadas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Baseado nesses resultados, análises estatísticas uni e multivariadas foram realizadas para determinação da variabilidade genética entre as variedades. Os resultados obtidos mostram que existe variabilidade genética entre as variedades de pimentão testadas em relação à emissão de compostos orgânicos voláteis antes e após infestação de pulgões, evidenciando que estes poderão ser utilizados como marcadores em programas de melhoramento genético, visando resistência ao pulgão *A. gossypii*.

Palavras-chave: Semioquímicos, variabilidade genética, *Capsicum* spp., ecologia química

Abstract: The secondary metabolites are involved in plant interactions with other organisms with some evidence of the involvement of these substances in attracting pollinators, seed dispersers, in preventing the growth of other plants and defense agents against predators and pathogens. In previous studies it was found that the aphid *A. gossypii* and the parasitoid *A. colemani* showed different behaviors in relation to volatile organic compounds emitted by pepper cultivars. To gain a better understanding of the basis of this behavior, we tried to identify the chemical composition of these compounds and determine the genetic variability among cultivars of pepper in relation to volatile organic compounds emitted. Thus, volatiles were collected from seven varieties of plants before and after infestation with the aphid *A. gossypii* and the samples were analyzed by gas chromatography / mass spectrometry. Based on these results, univariate and multivariate statistical analysis were performed to determine the genetic variation among varieties. The results show that genetic variability among the varieties of peppers tested for emissions of volatile organic compounds before and after aphid infestation, suggesting that they may be used as markers in breeding programs for resistance to the aphid *A. gossypii*.

Key Words: Semiochemicals, genetic variability, *Capsicum* spp., Chemical ecology

6.4.1 Introdução

A maioria das plantas produz uma gama bastante semelhante de substâncias químicas conhecidas como compostos do metabolismo primário. Este grupo de produtos químicos inclui compostos como celulose, lipídeos e açúcares, que estão envolvidos exclusivamente nos processos fisiológicos fundamentais da planta (Schoonhoven et al. 2005). Além disso, as plantas produzem compostos do metabolismo secundário, que são encontrados em táxons específicos e não têm um papel aparente no metabolismo primário. Este grupo de produtos químicos inclui composto como alcalóides, terpenóides, fenóis e um grupo comum conhecido como voláteis de folhas verdes, entre outros. O papel dos compostos do metabolismo secundário das plantas nas interações ecológicas é fundamental, uma vez que podem afetar a sanidade, taxas de reprodução e as respostas comportamentais das outras espécies (insetos) envolvidas nas interações. O seu papel em uma escala multitrófica varia de defesas diretas e indiretas nas plantas além de estimular atividades dos insetos como a de oviposição e herbivoria. Compostos do metabolismo secundário podem ser induzidos quando os insetos iniciam a alimentação sobre a planta ou mesmo quando entram em contato com a superfície foliar. Plantas não-danificadas também podem liberar metabólitos secundários e alguns deles são pequenos o suficiente para serem lançados como compostos voláteis através dos estômatos abertos nas folhas. Além disso, muitas substâncias do metabolismo secundário são liberadas em diferentes proporções quando as plantas são danificadas por herbívoros (Schoonhoven et al. 2005).

Muito se tem feito no sentido de se elucidar quais funções os metabólitos secundários desempenham na fisiologia vegetal. Atualmente, trata-se de uma área em franco desenvolvimento, que já obteve um volume de informações significantes sobre o papel de inúmeras substâncias no sistema de defesa das plantas e suas interações com outros organismos vivos (Harbone 1988).

Uma visão bastante difundida atualmente é de que esses metabólitos secundários estão envolvidos nas interações da planta com outros organismos, já tendo sido relatadas várias evidências do envolvimento dessas substâncias na atração de agentes polinizadores, dispersores de sementes, na prevenção do crescimento de outras plantas e na defesa contra agentes predadores e patógenos (Dewick 2001, Wenny 2000, Eby 1998, Cipollini *et al.* 1994). Eles são considerados desta maneira, extremamente

importantes no que se refere à sobrevivência e reprodução da planta apresentando características adaptadas que foram submetidas à seleção natural durante a evolução (Wink 2003).

Estudos realizados anteriormente mostram que o pulgão *A. gossypii* apresentou comportamento diferente em relação aos compostos orgânicos voláteis emitidos por cultivares de pimentão (Costa et al., 2010). Para ter uma melhor compreensão da base deste comportamento, tentou-se identificar a composição química e determinar a variabilidade genética existente entre as cultivares de pimentão em relação aos compostos orgânicos voláteis emitidos.

6.4.2 Material e Métodos

6.4.2.1 Coleta de voláteis e Análises em Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas

Os voláteis foram coletados de quatro plantas infestadas e quatro não-infestadas das sete cultivares de pimentão. Os voláteis foram coletados utilizando-se o adsorvente Porapak Q (80/100 mesh, 0.05 g, Supelco). As plantas foram colocadas em sacolas plásticas como descrito por Stewart-Jones and Poppy (2006), isolando o pote com o solo com papel alumínio. Ar filtrado por carvão ativado foi injetado dentro da sacola plástica a um fluxo de 400 mL/min. por planta. Tubos com Porapak Q foram usados no topo da sacola e o ar foi coletado com um fluxo de 400 mL/min. para cada planta. As plantas foram aeradas por um período de 24 horas. Após este período os voláteis foram dessorvidos do Porapak Q com 500 µL de éter dietílico e armazenado a -20 °C até a injeção no cromatógrafo gasoso acoplado a espectrometria de massa (GC/MS). O sistema de GC/MS utilizado foi QP5050A marca, usando coluna DB-5 (30m x 0.25 mm di x 0.25 µm; J&W scientific) utilizando hélio como o gás carreador. Os parâmetros usados para análise iniciaram com uma temperatura de 30°C a 250 °C com uma taxa de 8 °C/min, a temperatura do injetor e detector foi de 250 °C e 280°C respectivamente. Os compostos foram tentativamente identificados pela comparação dos espectros de massa pela biblioteca Wiley. Os compostos foram identificados por comparação automática usando o banco de dados Wiley MS (Wiley Class 5000, sexta edição) usando o GCMSolution software. Somente os compostos com espectros de massa superior a 85% de similaridade com os espectros de referência foram considerados.

6.4.2.2 Análises estatísticas

6.4.2.2.1 Análise geral dos voláteis

Foi realizada uma caracterização das cultivares em relação ao número de compostos orgânicos voláteis produzidos antes da infestação e após a infestação. Nessa caracterização procurou-se quantificar os compostos presentes em cada cultivar da seguinte forma: a) presentes somente antes da infestação, b) presentes somente após a infestação, c) presentes antes e após a infestação. Além disso, verificou-se em cada cultivar e para cada composto se o mesmo foi modificado pela ação da herbivoria (aumentou ou diminuiu a área relativa). Para esses dados aplicou-se o teste Q de Cochran para detectar a existência de significância.

6.4.2.2.2 Análise individual dos voláteis

A comparação das emissões de compostos voláteis individual foi realizada para as cultivares com e sem infestação. Análise de variância foi realizada considerando os valores registrados para cada composto químico encontrado em cada repetição (representada como a proporção de um determinado composto volátil para o respectivo montante total emitido por aquela repetição). Quando foram detectadas diferenças significativas aplicou-se o teste de comparação múltipla de Scott & Knott.

6.4.2.2.3 Análise multivariada

Técnicas estatísticas multivariadas foram utilizadas com a finalidade de determinar a existência de variabilidade genética entre as cultivares de pimentão em relação aos compostos orgânicos voláteis emitidos antes e após a infestação por *A. gossypii*. Para isso, aplicaram-se técnicas multivariadas como análise de componentes principais, com os cultivares sendo agrupados pelo método de Tocher (Cruz e Regazzi 2001). As análises foram realizadas com o auxílio do software Genes (Cruz 2006).

6.4.3 Resultados e discussão

6.4.3.1 Número de compostos químicos emitidos

As análises de GC/MS foram realizadas sobre os voláteis das plantas das sete cultivares com e sem infestação. Estas análises revelaram que, no geral, 68 diferentes

compostos químicos voláteis foram detectados (Tabelas 1 e 2). Em relação à emissão das plantas antes da infestação, verificou-se que o número de compostos revelados variou de 22 (na cultivar Cambuci) a 28 (nas cultivares All Big e Casca Dura Ikeda), com uma média geral de 25 compostos (Tabela 1). Estes resultados foram significativamente diferentes quando comparados pelo teste Q de Cochran ($P < 0,01$). Já em relação à emissão das plantas após a infestação verificou-se que o número variou de 18 (cultivares I e ASS) a 35 (na cultivar Cambuci), com uma média de 24 compostos, também apresentando diferença significativa pelo teste Q de Cochran ($P < 0,01$) (Tabela 2).

Considerando-se a análise das cultivares que apresentaram mudanças em relação aos compostos antes e após a infestação verificou-se que houve uma variação de 16 (cultivar Cambuci) a 32 (cultivar Casca Dura Ikeda), com diferença estatística sendo detectada a 5% de probabilidade pelo teste Q de Cochran (Tabela 3).

Tabela 1 – Presença (+) e ausência (-) dos compostos orgânicos voláteis em sete cultivares de pimentão antes da infestação pelo pulgão *A. gossypii*.

Pico	PC	PAB	PDC	PCDI	PYW	PI501	PASS	Total
1-Dodecanol	-	-	-	-	-	-	-	0
1-Dodeceno, 2-etil	-	+	+	-	+	+	-	4
1-Heptanol, 6-metil	-	-	-	-	-	-	-	0
1-hepteno, 5-metil	-	-	-	-	-	-	-	0
1-Hexadecanol, 2-metil	-	-	+	-	-	-	-	1
1-Hexadeceno	+	+	+	+	+	+	+	7
1-Nonanol	-	-	-	-	+	-	-	1
1-Tetradeceno	+	+	+	+	+	+	-	6
1-Undecanol	-	+	-	-	-	-	-	1
2 – oxo Propanal	-	-	+	-	-	-	+	2
2-Dodecenal	-	-	-	+	-	-	-	1
2-Dodecenal	-	-	-	+	-	-	-	1
2-Pentanol	-	-	-	+	-	-	-	1
2-Pentanona, 4-hidroxi-4-metil	-	-	-	+	-	-	-	1
2-Propanol, 1-(2-propeniloxi)	-	-	-	-	-	-	-	0
2-Propanol,1-metoxi	+	+	+	+	+	-	+	6
2-Undeceno, 3-metil	-	-	-	-	+	-	-	1
3-Etilacetofenona	+	+	+	+	+	+	+	7
3-Hidroxi-2-butanona	+	+	+	+	+	+	+	7
3-metilheneicosano	-	-	-	-	-	-	-	0
3-Penteno-2-ol	-	-	-	-	-	-	-	0
4-Etilacetofenona	+	+	+	+	+	+	+	7
4-Etilbenzaldeide	+	-	-	-	-	-	-	1
Acetofenona	-	-	-	-	-	+	-	1
Acetofenona, 4'-etoxi	-	-	-	-	+	-	-	1
Ácido 2 – oxo - Propanóico	-	-	+	+	-	-	+	3
Ácido 2-Undecenóico	-	-	-	-	-	-	-	0
Ácido Acético	-	-	-	+	-	-	-	1
Àcido Acético etenil éster	+	+	-	+	-	-	-	3

Continuação								
Ácido Benzoico	+	+	+	+	+	+	+	7
Ácido Dodecanóico	-	+	-	-	-	-	-	1
Ácido Fórmico	-	-	-	-	-	-	-	0
Ácido Octanóico	-	-	-	-	-	-	-	0
Alloocimeno	-	-	-	-	-	-	-	0
Benzaldeide, 4(1-metiletil)	-	-	-	-	-	-	-	0
Benzenemetanol alpha alpha dimetil	-	-	-	-	-	-	+	1
Butano, 2—etoxi	+	+	+	+	+	+	+	7
Camphor	-	-	-	-	-	+	-	1
Decanal	-	+	+	-	+	+	+	5
Decano	-	-	-	-	-	-	-	0
Dodecano	-	+	+	-	+	+	+	5
Etanol, 2-(eteniletoxi)	+	+	+	+	-	+	+	6
Etanol, 2-fenoxi	-	+	-	-	-	+	-	2
Etanona, 1(3-Hidroxiphenyl)	-	-	-	-	-	+	-	1
Etanona, 1-phenyl	+	-	-	+	-	-	-	2
Etil acetato	+	-	+	+	-	+	+	5
Etil benzaldeide	+	+	+	+	+	+	+	7
Fenol	-	+	-	-	-	-	+	2
Fenol, 2-metoxi-4-(2-propenil)	-	-	-	-	+	-	-	1
Heptadecano	-	-	+	-	-	-	-	1
Hexadecano	-	+	-	-	-	-	-	1
Hexadecano	-	+	-	-	-	-	-	1
Metanona, diphenyl	-	-	-	-	-	-	+	1
Naftaleno	-	-	-	+	-	-	-	1
Nonanal	+	+	+	+	+	+	+	7
Pentadecano	-	-	-	+	+	-	-	2
Propano, 2-etoxi	+	-	+	-	-	-	-	2
Tridecano	-	-	-	-	-	-	-	0
Tridecanol	-	-	-	-	-	-	-	0

Tabela 2 – Presença (+) e ausência (-) dos compostos orgânicos voláteis em sete cultivares de pimentão após a infestação pelo pulgão *A. gossypii*.

Composto	PC	PAB	PDC	PCDI	PYW	PI501	PASS	Total
1,4-Benzenedicarboxaldeide	+	-	-	-	-	-	+	2
1-Dodecanol	-	-	-	-	-	+	-	1
1-Dodeceno, 2-etil	+	+	+	+	+	+	+	7
1-Heptanol, 6-metil	-	+	-	-	-	-	-	1
1-hepteno, 5-metil	-	-	-	-	+	-	-	1
1-Hexadecanol, 2-metil	-	-	-	-	-	-	-	0
1-Hexadeceno	+	+	+	+	+	+	+	7
1-Nonanol	-	-	-	-	-	-	-	0
1-Tetradeceno	+	+	+	+	+	+	-	6
1-Undecanol	+	-	-	-	-	-	-	1
2 – oxo – propanal	+	-	+	-	-	-	-	2
2,3-Butanediol	+	+	+	+	+	+	+	7
2-Dodecenal	-	-	-	-	-	-	-	0
2-Dodecenal	-	-	-	-	-	-	-	0
2-Pentanol	-	-	-	-	-	-	-	0
2-Pentanona, 4-hidroxi-4-metil	+	-	-	-	-	-	-	1
2-Propanol, 1-(2-propeniloxi)	-	-	-	+	-	-	-	1
2-Propanol,1-metoxi	+	-	+	+	+	+	+	6
2-Undeceno, 3-metil	-	-	-	-	-	-	-	0
3,4-Metilenodioxiacetofenona	-	-	-	+	-	-	-	1
3-Etilacetofenona	+	+	+	+	+	+	+	7
3-Hidroxi-2-butanona	+	+	+	+	+	+	+	7
3-metilheneicosano	-	+	-	-	-	-	-	1
3-Penteno-2-ol	+	-	-	-	-	-	-	1
4-Etil benzaldeide	+	-	-	-	-	-	-	1
4-Etilacetofenona	+	+	-	+	+	-	+	5
Acetofenona	-	-	-	-	-	-	-	0
Acetofenona, 4'-etoxi	-	-	-	-	-	-	-	0
Ácido 1,4-Benzenedicarboxílico	+	+	+	+	+	+	+	7

Continuação								
Ácido 2 – oxo – propanóico	+	-	-	-	-	-	-	1
Ácido 2-Undecenóico	+	-	-	-	-	-	-	1
Ácido Acético	-	-	-	+	-	-	-	1
Ácido acético etenil éster	-	-	-	+	-	-	-	1
Ácido Benzóico	+	+	+	+	+	+	+	7
Ácido Dodecanóico	-	-	-	-	-	-	-	0
Ácido Fórmico	+	-	-	+	-	-	-	2
Ácido Octanóico	+	-	-	-	-	-	-	1
Alloocimeno	-	-	-	+	-	-	-	1
Benzaldeide, 4(1-metiletil)	+	-	-	-	-	-	-	1
Benzenemetanol alfa alfa dimetil	-	-	-	-	-	-	-	0
Butano, 2-etoxi	+	+	+	+	+	+	+	7
Camphor	-	-	-	-	-	-	-	0
Decanal	+	+	+	+	+	+	+	7
Decano	-	-	+	-	-	-	-	1
Dodecano	+	+	+	+	+	+	+	7
Etano, 1,1-dietoxi	+	+	-	+	-	+	-	4
Etanol, 2-phenoxi	-	-	+	-	-	-	-	1
Etanona, 1-(2,4-dimetilphenyl)	+	+	+	+	+	+	+	7
Etanona, 1(3-Hidroxiphenil)	-	+	-	-	+	-	+	3
Etanona, 1,1'-(1,4-phenileno)	+	+	+	+	+	+	+	7
Etanona, 1,1-dietoxi	-	-	-	-	-	-	-	0
Etanona, 1-phenyl	+	-	-	-	-	-	-	1
Ethanol, 2-(etheniletoxy)	+	-	+	+	-	-	-	3
Etil acetato	+	+	+	+	-	-	-	4
Etil benzaldeide	+	+	-	+	-	+	+	5
Fenol	-	+	+	+	+	-	-	4
Heptadecano	-	-	-	-	-	-	-	0
Hexadecano	+	+	+	-	-	-	-	3
Hexadecano	-	+	+	-	-	-	-	2

Continuação								
Metanona, diphenil	-	-	-	-	-	-	-	0
Naftaleno	-	-	-	-	-	-	-	0
Nonanal	+	+	+	+	+	+	+	7
Pentadecano	-	-	-	-	+	-	-	1
Phenol, 2-metoxi-4-(2-propenil)	-	-	-	-	-	-	-	0
Propano, 2-etoxi	+	+	+	-	-	-	-	3
Tridecano	+	-	-	-	-	-	-	1
Tridecanol	-	-	-	-	+	-	-	1
Undecano	-	+	-	-	-	-	-	1
Total	35	26	24	27	21	18	18	(68-17)

Teste Q de Cochran 42,38** $X^2(6gl, 0,01) = 16,81$

Tabela 3 – Situação dos compostos orgânicos voláteis em sete cultivares de pimentão com relação à presença (+) ou ausência (-) de modificação após a infestação pelo pulgão *A. gossypii*.

Composto	PC	PAB	PDC	PCDI	PYW	PI501	PASS	Total
1,4-Benzenedicarboxaldeide	-	-	-	-	-	-	+	1
1-Dodecanol	-	-	-	-	-	+	-	1
1-Dodeceno, 2-etil	-	+	+	+	+	+	+	6
1-Heptanol, 6-metil	-	+	-	-	-	-	-	1
1-hepteno, 5-metil	-	-	-	-	+	-	-	1
1-Hexadecanol, 2-metil	-	-	+	-	-	-	-	1
1-Hexadeceno	-	+	+	+	+	+	+	6
1-Nonanol	-	-	-	-	+	-	-	1
1-Tetradeceno	-	+	+	+	+	+	-	5
1-Undecanol	+	-	-	-	-	-	-	1
2 – oxo – propanal	+	-	+	-	-	-	-	2
2,3-Butanediol	+	+	+	+	+	+	+	7
2-Dodecenal	-	-	-	+	-	-	-	1
2-Dodecenal	-	-	-	+	-	-	-	1
2-Pentanol	-	-	-	+	-	-	-	1
2-Pentanona, 4-hidroxi-4-metil	+	-	-	-	-	-	-	1
2-Propanol, 1-(2-propeniloxi)	-	-	-	+	-	-	-	1
2-Propanol,1-metoxi	+	+	+	+	+	+	+	7
2-Undeceno, 3-metil	-	-	-	-	+	-	-	1
3,4-Metilenodioxiacetofenona	-	-	-	+	-	-	-	1
3-Etilacetofenona	-	+	+	+	+	+	+	6
3-Hidroxi-2-butanona	-	+	+	+	+	+	+	6
3-metilheneicosano	-	+	-	-	-	-	-	1
3-Penten-2-ol	+	-	-	-	-	-	-	1
4-Etilacetofenona	-	+	-	+	+	-	+	4
4-Etilbenzaldeide	-	-	-	-	-	-	-	0
Acetofenona	-	-	-	-	-	+	-	1
Acetofenona, 4'-etoxi	-	-	-	-	+	-	-	1

Continuação								
Ácido 1,4-Benzenedicarboxílico	-	+	+	+	+	+	+	6
Ácido 2 – oxo – propanóico	+	-	-	-	-	-	-	1
Ácido 2-Undecenóico	+	-	-	-	-	-	-	1
Ácido Acético	-	-	-	+	-	-	-	1
Ácido acético etenil éster	-	-	-	+	-	-	-	1
Ácido Benzóico	-	+	+	+	+	+	+	6
Ácido Dodecanóico	-	+	-	-	-	-	-	1
Ácido Fómico	+	-	-	+	-	-	-	2
Ácido Octanóico	+	-	-	-	-	-	-	1
Alloocimeno	-	-	-	+	-	-	-	1
Benzaldeide, 4(1-metiletil)	+	-	-	-	-	-	-	1
Benzenemetanol alfa alfa dimetil	-	-	-	-	-	-	+	1
Butano, 2-etoxi	-	+	+	+	+	+	+	6
Camphor	-	-	-	-	-	-	+	1
Decanal	-	+	+	+	+	+	+	6
Decano	-	-	+	-	-	-	-	1
Dodecano	-	+	+	+	+	+	+	6
Etano, 1,1-dietoxi	-	+	-	+	-	+	-	3
Etanol, 2-(eteniletoxi)	-	-	+	+	-	-	-	2
Etanol, 2-fenoxi	-	-	+	-	-	-	-	1
Etanona, 1-(2,4-dimetilphenil)	-	+	+	+	+	+	+	6
Etanona, 1(3-Hidroxiphenil)	-	+	-	-	+	-	+	3
Etanona, 1,1'-(1,4-phenilene)	+	+	+	+	+	+	+	7
Etanona, 1,1-dietoxi	-	+	-	-	-	-	-	1
Etanona, 1-phenil	-	-	-	-	-	-	-	0
Etil acetato	-	+	+	+	-	-	-	3
Etil benzaldeide	-	+	-	+	-	+	+	5
Fenol	-	+	+	+	+	-	-	4
Fenol, 2-metoxi-4-(2-propenil)	-	-	-	-	+	-	-	1
Heptadecano	-	-	+	-	-	-	-	1

Continuação								
Hexadecano	+	-	-	-	-	-	-	1
Metanona, diphenil	-	-	-	-	-	-	+	1
Naftaleno	-	-	-	+	-	-	-	1
Nonanal	+	+	+	+	+	+	+	7
Pentadecano	-	+	-	+	+	+	-	4
Propano, 2-etoxi	+	+	+	-	-	-	-	3
Tridecano	+	-	-	-	-	-	-	1
Tridecanol	-	-	-	-	+	-	-	1
Undecano	-	+	-	-	-	-	-	1
Total	16	28	25	32	25	20	20	
Teste Q de Cochran 12,48* $X^2(6gl, 0,06) = 12,20$								

Na Tabela 4 encontram-se os resultados relativos ao efeito da herbivoria sobre o número de compostos orgânicos voláteis emitidos pelas sete cultivares de pimentão. Verifica-se que houve diferença significativa entre os cultivares, demonstrando a existência de variabilidade genética em relação à resposta ao *A. gossypii*. Resultados semelhantes foram obtidos por Von Ellrichshausen (2008) com cultivares de Brássicas.

Tabela 4 – Efeito da herbivoria sobre a emissão do número de compostos orgânicos voláteis emitidos por sete cultivares de pimentão

Cultivar	Compostos	Desvio Padrão
PC	14,62 B	2,72
PAB	18,00 A	1,31
PDC	18,25 A	1,58
PCDI	16,62 B	1,06
PYW	16,25 B	1,91
PI 501	15,25 B	0,89
PASS	15,50 B	0,92
Média	16,36	-
C.V. (%)	10,08	-

6.4.3.3 Emissão individual de voláteis

Na Tabela 5 encontram-se os resultados relativos à proporção média de cinco compostos orgânicos voláteis emitidos antes e após a infestação do pulgão *A. gossypii* por sete cultivares de pimentão presentes em todas as repetições. Verifica-se que houve diferença significativa para efeito de cultivar, tratamento (com e sem infestação) e interação cultivar x tratamento para os compostos 2,3-Butanediol e Nonanal. Estes resultados evidenciam que a emissão destes dois compostos é influenciada pelas cultivares, pela herbivoria e também pela interação cultivar x herbivoria (alguns cultivares apresenta diferença na emissão destes compostos antes e após a infestação). Já o composto 3-etilacetofenona apresentou significância apenas para o efeito de cultivar, evidenciando que o efeito da herbivoria não afetou o ranking das cultivares em relação a este composto. Os compostos Butano, 2-etoxi e Etanona, 1,1' – (1,4-fenileno) não apresentaram significância para nenhum dos efeitos testados (cultivar, herbivoria e interação cultivar x herbivoria).

Tabela 5 – Proporção média (%) de cinco compostos orgânicos voláteis emitidos por sete cultivares de pimentão com e sem infestação pelo pulgão *A. gossypii*.

Cultivar	2,3- Butanediol	Butano, 2-etoxi	Nonanal	Etanona, 1,1' –(1,4- fenileno)	3-Etilacetofenona
Sem Infestação					
PC	2,22 ± 0,08 B	6,79 ± 0,23	0,22 ± 0,05 B	0,97 ± 0,63	0,35 ± 0,08
PAB	2,19 ± 0,96 B	5,54 ± 0,11	0,26 ± 0,01 B	0,76 ± 0,25	0,96 ± 0,43
PDC	1,72 ± 0,32 B	5,94 ± 0,60	0,22 ± 0,01 B	1,31 ± 0,45	0,23 ± 0,01
PCDI	4,89 ± 0,22 A	12,26 ± 2,79	0,22 ± 0,07 B	3,61 ± 2,91	0,23 ± 0,01
PYW	2,83 ± 0,54 B	4,62 ± 0,39	0,32 ± 0,01 B	0,33 ± 0,09	0,50 ± 0,09
PI 501	2,40 ± 0,70 B	3,76 ± 0,11	0,25 ± 0,01 B	1,60 ± 0,29	0,56 ± 0,07
PASS	6,18 ± 0,82 A	5,68 ± 0,59	0,54 ± 0,26 A	1,32 ± 0,07	0,73 ± 0,28
Infestadas					
PC	7,97 ± 0,23 A	5,56 ± 0,23	0,48 ± 0,11 D	3,88 ± 3,61	0,50 ± 0,11
PAB	0,92 ± 0,07 C	6,01 ± 0,82	0,91 ± 0,05 C	1,16 ± 0,83	0,43 ± 0,13
PDC	3,17 ± 1,85 B	9,97 ± 3,43	0,23 ± 0,02 E	0,62 ± 0,26	0,49 ± 0,19
PCDI	4,14 ± 0,64 B	12,32 ± 2,45	0,01 ± 0,00 F	0,52 ± 0,28	0,01 ± 0,00
PYW	1,36 ± 0,32 C	4,64 ± 1,34	0,56 ± 0,04 D	0,33 ± 0,03	0,16 ± 0,02
PI 501	2,40 ± 0,70 B	8,22 ± 1,00	19,79 ± 4,39 A	0,91 ± 0,03	0,29 ± 0,05
PASS	1,35 ± 0,69 C	9,47 ± 3,56	12,34 ± 11,98 B	1,08 ± 0,17	0,86 ± 0,54
Média					
PC	5,09	6,17	0,35	2,42	0,42 B
PAB	1,55	5,77	0,58	0,96	0,69 A
PDC	2,45	7,95	0,22	0,96	0,36 B
PCDI	4,51	12,29	0,11	2,06	0,12 C
PYW	2,10	4,63	0,44	0,33	0,33 B
PI 501	1,65	5,99	10,02	1,25	0,42 B
PASS	3,77	7,57	6,44	1,20	0,79 A

6.4.3.4 Divergência genética entre cultivares de pimentão por intermédio de análise multivariada

Na Tabela 6 estão apresentadas as estimativas de autovalores com base na análise dos componentes principais das variáveis dos compostos orgânicos voláteis de pimentão. Considerou-se apenas os autovalores maiores que um (1,0) como significantes e aqueles menores que um foram considerados ineficientes e portanto descartados (Hair et al. 2007). Assim, seis componentes foram apresentados e destes os quatro primeiros explicaram 77,98% da variabilidade existente, sendo os compostos 28, 3, 11 e 6 os que mais contribuíram para a divergência genética a partir de seus autovetores. A identificação de grupos realizada pelo método de agrupamento proposto por Tocher possibilitou a divisão dos sete genótipos em 4 grupos (Tabela 7). O grupo I foi formado por três genótipos; o grupo II foi formado por dois genótipos; e os grupos III e IV apresentaram um genótipo cada. É esperado que os genótipos apresentem alta similaridade dentro de cada grupo e alta dissimilaridade entre genótipos de grupos diferentes.

Tabela 6 – Estimativas dos autovalores (λ_j) correspondentes às percentagens de variação explicadas pelos componentes principais das 29 variáveis dos compostos orgânicos voláteis de pimentão sem infestação por pulgões.

Componente Principal	Autovalor	Explicação (%)	Explicação acumulada (%)
λ_1	7,1606416	24,6915	24,6915
λ_2	6,0432066	20,8383	45,5299
λ_3	5,0951216	17,5691	63,0990
λ_4	4,3170663	14,8862	77,9852
λ_5	3,9174115	13,5081	91,4933
λ_6	2,4667348	8,5059	99,9992

Tabela 7 – Agrupamento estabelecido pelo método de Tocher entre sete cultivares de pimentão avaliados para 29 compostos orgânicos voláteis emitidos sem infestação de pulgões

Grupo	Genótipos
I	PC PAB PYW
II	PDC PASS
III	PCDI
IV	PI501

As estimativas de autovalores com base na análise dos componentes principais das variáveis dos compostos orgânicos voláteis de pimentão após a infestação por pulgões encontram-se na Tabela 8. Seguindo a metodologia citada anteriormente considerou-se apenas os autovalores maiores que um (1,0) como significantes e aqueles menores que um foram considerados ineficientes e portanto descartados. Desta forma, seis componentes foram apresentados e destes os quatro primeiros explicaram 80,75% da variabilidade existente, sendo os compostos 21, 13, 1 e 8 aqueles que mais contribuíram para a divergência genética a partir de seus autovetores. A identificação de grupos realizada pelo método de agrupamento proposto por Tocher possibilitou a divisão dos sete genótipos em 5 grupos (Tabela 9). Os grupos I e II foram formados por dois genótipos; e os grupos III, IV e V apresentaram um genótipo cada. Constata-se que houve diferença na formação dos grupos entre pimentão infestado e não-infestado. Além do número de grupos ter modificado, também, houve modificação em relação aos genótipos que formaram cada agrupamento. Estes resultados realçam resultados anteriores sobre o comportamento desses genótipos em relação a resistência/suscetibilidade ao pulgão *Aphis gossypii*.

Variação na produção de compostos orgânicos voláteis tem sido identificada em cultivares de milho (Hoballah et al. 2004), algodão (Loughrin et al. 1995), arroz (Lou et al. 2006), cenoura (Nissinen et al. 2005), pêra (Scutareanu et al. 2003), gérbera (Krips et al. 2001), tomate (Thaler 2002), lótus (Ozawa et al. 2000) e crucíferas (Bukovinszky et al. 2005 e Von Ellrichshausen 2008).

Tabela 8 – Estimativas dos autovalores (λ_j) correspondentes às percentagens de variação explicadas pelos componentes principais das 29 variáveis dos compostos orgânicos voláteis de pimentão infestado por pulgões.

Componente Principal	Autovalor	Explicação (%)	Explicação acumulada (%)
λ_1	7,785987	26,8478	26,8478
λ_2	7,0745	24,3944	51,2422
λ_3	5,293881	18,254455	69,4966
λ_4	3,263308	11,2526	80,7492
λ_5	2,860020	9,8620	90,6111
λ_6	2,722129	9,3865	99,9977

Tabela 9 – Agrupamento estabelecido pelo método de Tocher entre sete cultivares de pimentão avaliados para 29 compostos orgânicos voláteis emitidos após infestação por pulgões

Grupo	Genótipos
I	PDC PCDI
II	PI501 PASS
III	PAB
IV	PYW
V	PC

6.4.4 Conclusões

Existe variabilidade genética em *Capsicum* em relação à emissão de compostos orgânicos voláteis antes e após infestação de pulgões;

A variabilidade genética entre os genótipos, após a infestação, indica que os compostos orgânicos voláteis apresentam-se como variáveis que podem ser utilizadas como marcadores para seleção e desenvolvimento de cultivares de pimentão resistente ao pulgão *Aphis gossypii*.

6.4.5 Referências

Bukovinszki T, Gols R, Posthumus MA, Vet LEM, van Lenteren JC (2005) Variation in plant volatiles and attraction of the parasitoid *Diadegma semiclausum* (Helen). **Journal Chemical Ecology**, v. 31, p. 461-480.

Cipollini ML, Wallace-Senft DA, Whigham DF (1994) A model of patch dynamics, seed dispersal, and sex ratio in the dioecious shrub *Lindera benzoin* (Lauraceae). **Journal of Ecology**, v. 82, p. 621-633.

Croteau R, Kutchan TM, Lewis NG (2000) Natural Products (Secondary Metabolites). IN: Buchanan B, Gruissem W, Jones R (2000). *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists, cap. 24, p.1250-1318.

Cruz CD (2006) Programa Genes. Análise multivariada e simulação. Viçosa: UFV. 175p.

Cruz CD, Regazzi, AJ (2001) Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: UFV. 2001. 390p.

Dewick PM (2001) Medicinal natural products: a biosynthetic approach. Chichester: 2ª ed. John Wiley & Sons, Ltda, 507p.

Eby P (1998) An analysis of diet specialization in frugivorous *Pteropus poliocephalus* (Megachiroptera) in Australian subtropical rain forest. **Australian Journal of Ecology**, v. 23, p. 443-456.

Hair JF, Tatham RL, Anderson RE, Black W (2007) Análise multivariada de dados. 5. Ed. Porto Alegre, Bookman, 600p.

Harbone JB (1988) Introduction to ecological biochemistry. 3ª ed., London, Academic Press, 382p.

Hoballah MEF, Kollner TG, Degenhardt J, Turlings TCJ (2004) Costs of induced volatile production in maize. **Oikos**, v. 105, p.168-180

Krips OE, Willems PEL, Gols R, Posthumus MA, Gort G, Dicke M (2001) Comparison of cultivars of ornamental crop *Gerbera jamesonii* on production of spider mite-induced volatiles, and their attractiveness to the predator *Phytoseiulus persimilis*. **Journal Chemical Ecology**, v. 27, p.1355-1372.

Lou YG, Hua XY, Turlings TCJ, Cheng JA, Chen XX, Ye, GY (2006) Differences in induced volatile emissions among rice varieties result in differential attraction and parasitism of *Nilaparvata lugens* eggs by the parasitoid *Anagrus nilaparvatae* in the Field. **Journal Chemical Ecology**, v. 32, p.2375-2387.

Loughrin JH, Manukian A, Heath RR, Tumlinson JH (1995) Volatiles emitted by different cotton varieties damaged by feeding beet armyworm larvae. **Journal Chemical Ecology**, v. 21, p.1217-1227.

Nissinen A, Ibrahim M, Kainulainen P, Tiilikkala K, Holopainen JK (2005) Influence of carrot psyllid (*Trioza apicalis*) feeding or exogenous limonene or methyl jasmonate treatment on composition of carrot (*Daucus carota*) leaf essential oil and headspace volatiles. **Journal Agricultural Food Chemical**, v. 53, p.8631-8638.

Ozawa R, Shimoda T, Kawaguchi M, Arimura G, Horiuchi J, Nishioka T, Takabayashi J (2000) Lotus japonicus infested with herbivorous mites emits volatile compounds that attract predatory mites. **Journal Plant Resource**, v. 113, p. 427-433.

Schoonhoven LM, Van Loon JJA, Dicke M (2005) Insect-plant biology. Oxford: Oxford University Press.

Scutareanu P, Bruin J, Posthumus MA, Drukker B (2003) Constitutive and herbivore-induced volatiles in pear, alder and hawthorn trees. **Chemoecology**, v. 13, p. 63-74.

Stewart-Jones A and Poppy GM (2006) Comparison of glass vessels and plastic bags for enclosing living plant parts for headspace analysis. **Journal Chemical Ecology**, v. 32, p. 845-864.

Thaler JS (2002) Jasmonate-deficient plants have reduced direct and indirect defenses against herbivores. **Ecology Letters**, v. 5, p. 764-774.

Von Ellrichshausen ASM (2008) Chemical ecology and olfactory behavior of an aphid parasitoid and a lacewing predator. Thesis doctoral Imperial College London.

Wenny DG (2000) Seed dispersal, seed predation, and seedling recruitment of *Ocotea endresiana* (Lauraceae) in Costa Rica. **Ecological Monographs**, v. 70, p. 331-351.

Wink M (2003) Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. **Phytochemistry**, v. 64, p. 3 – 19.

7. CONCLUSÕES GERAIS

- Verificou-se que existe variabilidade genética entre os genótipos de *Capsicum* em relação à susceptibilidade ao *A. gossypii*;
- Dentre os materiais mais conhecidos comercialmente os genótipos Yolo Wonder, All Big e Italiano Amarelo foram considerados como suscetíveis;
- O genótipo Cambuci por ter apresentado resistência do tipo não preferência pode ser utilizado em programas de melhoramento genético visando cultivares de *Capsicum* mais resistentes ao *A. gossypii*.
- Houve diferenças significativas entre os efeitos dos compostos voláteis das cultivares Cambuci e All Big sobre os comportamentos do afídeo *A. gossypii* e do parasitóide *A. colemani*;
- Os compostos voláteis emitidos pela cultivar Cambuci após a infestação exerceu efeito repelente ao pulgão *A. gossypii* e atrativo ao parasitóide *A. colemani* influenciando na interação tritrófica planta, herbívoro e parasitóide;
- Os compostos voláteis emitidos pela cultivar All Big, mesmo após a herbivoria, não exerceram efeito sobre o comportamento dos insetos estudados.
- A *cis*-jasmona aplicada sobre plantas de pimentão da variedade All Big proporcionou emissão de compostos voláteis que tiveram ação de repelência ao afídeo *A. gossypii* e ação atraente para parasitóide *A. colemani*.
- Existe variabilidade genética entre as cultivares de pimentão em relação à emissão de compostos orgânicos voláteis antes e após infestação por afídeos;
- A variabilidade genética entre os genótipos, após a infestação, indica que os compostos orgânicos voláteis apresentam-se como variáveis que podem ser utilizadas para seleção e desenvolvimento de cultivares de pimentão resistentes ao afídeo *A. gossypii*.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos envolvendo semioquímicos apresentam potencial para uso futuro no controle mais eficaz de pragas na agricultura. Até o presente momento, principalmente no Brasil, as pesquisas neste campo têm dado mais ênfase aos feromônios. Entretanto, os outros tipos de semioquímicos também merecem mais atenção por parte dos pesquisadores. Assim, estudos envolvendo as substâncias que atuam como sinomônios necessitam de mais estudos para que possam ser utilizados em programas de controle de pragas. Dessa forma pesquisas sobre identificação das substâncias, o efeito causado por elas sobre o comportamento dos insetos, a variabilidade genética existente entre os genótipos para estas substâncias e estudos sobre genômica, proteômica e metabolômica relacionados a resistência das plantas as pragas com certeza trarão resultados importantes para a agricultura.

Assim, o trabalho desenvolvido teve como objetivo gerar conhecimentos que venham contribuir para o controle de pragas de forma a proporcionar menos impactos sobre o ambiente. O uso de variedades resistentes é extremamente útil para o produtor, pois além de não implicar em custo extra para o mesmo, ainda viabiliza, em muitos casos, a utilização conjunta de outras técnicas, como o controle biológico, químico e cultural. Por isso a importância de identificar fontes de resistência as principais pragas das culturas. Associada à resistência é importante determinar o papel dos compostos voláteis na proteção das plantas. Os compostos voláteis podem ser usados para proteger as culturas contra o ataque de pragas. Aumentando-se o fluxo metabólico dos compostos voláteis envolvidos na repelência de herbívoros e/ou a na atração de parasitóides e predadores, melhoraria a proteção das culturas em seu meio natural e proporcionaria uma alternativa de controle biológico. Assim, o desenvolvimento de variedades que respondam de uma maneira efetiva ao ataque de pragas é um objetivo a ser alcançado. Outra forma interessante de controle de pragas é a indução de resistência. Uma cultivar suscetível pode ser induzido por substâncias químicas para responder aos ataques de praga.

Dentre os resultados obtidos nesse estudo podemos destacar dois que podem ser de aplicação imediata: a identificação de uma cultivar de pimentão que apresenta resistência tipo não-preferência ao pulgão *A. gossypii* e a utilização de cis-jasmona em cultivar de pimentão suscetível como indutora de resistência ao *A. gossypii*.