



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA DA RENORBIO

TALITA ANTONIA DA SILVEIRA

Interações planta-herbívoro-parasitoide mediadas por voláteis de melão, *Cucumis melo* L.

Maceió

2018

TALITA ANTONIA DA SILVEIRA

Interações planta-herbívoro-parasitoide mediadas por voláteis de melão, *Cucumis melo* L.

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da RENORBIO, da Universidade Federal de Alagoas como requisito para obtenção do título de Doutora em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Santana

Maceió

2018

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecária: Shirlen Maria Santos Bezerra

S587 i Silveira, Talita Antônia da
 Interações planta-herbívoro-parasitóide mediadas por voláteis de melão
 Cucumis melo L./ Talita Antônia da Silveira . – 2018.
 80 f. : il. tabs., grafs.

Orientador: Antônio Euzébio Goulart Santana.
 Tese (doutorado na Rede Nordeste de Biotecnologia) – Universidade
 Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. RENORBIO.
 Maceió, 2018.

 Inclui bibliografias.

 1. *Cucumis melo* L. 2. Parasitóides. 3. Voláteis de plantas. .
 4. Semioquímicos. 5. *Encarsia desantisi*. 6. Mosca branca. 7. Bemisia
 Tabaci. 8. Cairomônios. 9. Controle biológico- Pragas. I. Título.

CDU: 635.611:632.937

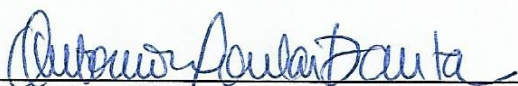
TALITA ANTONIA DA SILVEIRA

**Interações planta-herbívoro-parasitoide mediadas por voláteis de melão,
Cucumis melo L.**

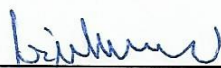
Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia – RENORBIO, Ponto Focal Alagoas, Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutora em Biotecnologia, Área de Concentração: Biotecnologia em Recursos Naturais.

Aprovada em: 21/09/2018.

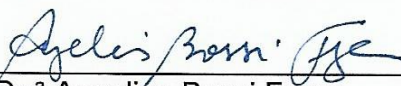
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Santana
Universidade Federal de Alagoas - UFAL



Prof. Dr. José Maurício Simões Bento
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" – ESALQ/USP



Prof.ª Dr.ª Angelina Bossi Fraga
Universidade Federal de Alagoas - UFAL



Prof. Dr. Henrique Fonseca Goulart
Universidade Federal de Alagoas - UFAL



Prof.ª Dr.ª Mariana Oliveira Breda
Universidade Federal de Alagoas – UFAL



Prof.ª Dr.ª Ruth Rufino do Nascimento
Universidade Federal de Alagoas - UFAL

**A minha querida e amada filha Isabela, meu marido
Diogo, a minha irmã Claudia e aos meus pais Claudio e Tania.**

AGRADECIMENTOS

A Deus, de onde venho tirar força e sustento para as horas boas e também para as mais difíceis.

À minha querida e amada filha Isabela e ao meu marido Diogo pela paciência, amor e apoio.

Ao Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Santana, pela orientação e amizade.

Ao Prof. Dr. José Mauricio Simões Bento, pela orientação, amizade e total apoio em todas as decisões.

Ao pesquisador Dr. Tiago Cardoso da Costa-Lima da Embrapa Semiárido, pela orientação e apoio no trabalho.

Ao Milton Fernando Cabezas Guerrero, pela amizade e pelo apoio nas análises estatísticas.

A Luiza, pelo apoio, dedicação, amizade, companheirismo, ideias para o trabalho e redação.

A Arodi, por todo o ensinamento, apoio e amizade.

A Ana Paula, que me ajudou em todos os momentos como secretária e amiga para todas as horas.

A Patrícia, pela ajuda na redação do artigo, paciência e amizade.

A Franciele, pela ajuda nas correções, palavras de apoio nos momentos difíceis e pela amizade.

Aos meus amigos e colegas de laboratório de Ecologia Química e Comportamento de Insetos da ESALQ/USP

Aos meus amigos e colegas do Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ/USP.

A todos demais integrantes do Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais – LPqRN, bolsistas de iniciação científica, alunos de pós-graduação, pós-doutorandos e pesquisadores, por terem me acolhido e me ensinado muitas coisas.

A todos demais que de alguma forma estão me apoiando durante esse curso, seja de forma direta ou através de orações e pensamentos positivos, pois certamente sem vocês a caminhada seria mais árida e difícil.

RESUMO

Na cultura do melão (*Cucumis melo* L.) existem alguns insetos que podem ser considerados pragas chaves, como *Bemisia tabaci* biótipo B (Gennadius, 1889). Este inseto causa danos diretos pela sucção da seiva e danos indiretos com a transmissão de vírus pelo processo de alimentação. A principal forma de controle desse inseto é o químico, porém alternativas de controle como o uso de voláteis envolvidos nas interações tritróficas deste inseto tem sido estudada. Uma dessas interações envolve a busca do parasitoide pelo seu hospedeiro, podem usar voláteis emitidos pela própria planta e também pelo hospedeiro. O objetivo desse estudo foi investigar e identificar compostos voláteis liberados pela planta de melão quanto atacada por *B. tabaci* e verificar sua resposta e do parasitoide *Encarsia desantisi* aos voláteis da planta. A atratividade de *B. tabaci* para plantas de melão sadias, infestadas (pela própria *B. tabaci*) e controle (ar limpo) foi testada em olfatômetro de 4 vias. O tempo de permanência de *B. tabaci* foi maior para os voláteis de plantas sadias do que no controle (ar limpo). Adicionalmente, *B. tabaci* apresentou maior número de entradas e maior tempo de permanência no controle (ar limpo) em relação a plantas infestadas. Com a chance de escolha entre odores das plantas sadias, plantas infestadas e controle, os adultos de *B. tabaci* gastaram mais tempo no controle, seguido de plantas infestadas e plantas sadias. A resposta comportamental de *E. desantisi* foi avaliado os voláteis de plantas de melão sadias vs controle; plantas infestadas vs controle e plantas sadias vs infestadas vs controle. Fêmeas de *E. desantisi* permaneceram mais tempo em plantas infestadas por *B. tabaci* do que no controle (ar limpo). Não houve diferenças no tempo gasto pelas fêmeas do parasitoide entre odores de plantas sadias e controle (ar limpo). Quando comparada a resposta do parasitoide para plantas infestadas, sadias e ar limpo, houve um maior investimento de tempo nos odores de planta infestada por *B. tabaci* em relação ao controle (ar limpo). A coleta dos voláteis de plantas de melão sadias e infestadas foi realizada por 24 horas, identificados 12 compostos, Salicilato de Metila e Tetradecano foram encontrados somente em plantas infestadas. Atratividade de *E. desantisi* aos compostos sintéticos (α -Pineno; β -Pineno; β -Myrceno; Ocimeno; Salicilato Metila e Tetradecano) indicou que não houve diferença no tempo gasto pelas fêmeas do parasitoide em relação ao controle (ar limpo). A lavagem de ninfas de *B. tabaci* foram testada para a atratividade *E. desantisi*, mostrou-se biologicamente ativo, sendo a fração 50% éter ativa para os parasitoides. A fração 50% éter, foi refracionada e nos bioensaios a fração 10% éter apresentou atividade biológica. Os resultados analisados em GC-FID e GC/MS caracterizaram os compostos sendo duas classes de compostos: os ésteres e cetonas.

Palavras-chaves: *Bemisia tabaci*, semioquímicos, voláteis de plantas, *Cucumis melo*, caïromônios, *Encarsia desantisi*, controle biológico, parasitoides, mosca-branca.

ABSTRACT

In melon crop there are some insects that can be considered key pests, as *Bemisia tabaci* biotype B (Gennadius, 1889). This insect causes direct damage by sap suction and indirect damage by virus transmission through the feeding activity. The main control method is chemical, but alternatives such as the use of volatiles involved in the tritrophic interactions of this insect have been studied. One of these interactions involves the search of the parasitoid by its host, using volatiles emitted by the plant and also by the host. The objective of this study was to investigate and identify volatile compounds released by the melon plant when attacked by *B. tabaci* and to verify the response of this insect and the parasitoid *Encarsia desantisi* to the volatiles of the plant. The attractiveness of *B. tabaci* to healthy melon plants, infested melon plants (by *B. tabaci*) and control (clean air) was tested in a 4-way olfactometer. The retention time of *B. tabaci* was higher for the volatiles of healthy plants than in the control (clean air). In addition, *B. tabaci* showed higher number of entries and longer retention times in the control (clean air) in relation to infested plants. With the chance of choosing between odors from healthy plants, infested plants and control, *B. tabaci* adults spent more time in control, followed by infested plants and healthy plants. For the behavioral response of *E. desantisi*, were evaluated: the volatiles of healthy melon plants vs control; infested plants vs control and healthy plants vs. infested plants vs control. Females of *E. desantisi* remained longer in plants infested by *B. tabaci* than in control (clean air). There were no differences in time spent by parasitoid females in healthy plant odors and in control (clean air). When comparing the response of the parasitoid to infested plants, healthy plants and clean air, there was a greater time spent in plants infested by *B. tabaci* odors in relation to the control (clean air). The volatiles of healthy and infested melon plants were collected for 24 hours, and 12 compounds were identified. Methyl Salicylate and Tetradecane were found only in infested plants. The attractiveness of *E. desantisi* to synthetic compounds (α -Pinene, β -Pinene, β -Myrcene, Ocimene, Salicylate Methyl and Tetradecane) indicated that there was no difference in the time spent by the parasitoid females in relation to the control (clean air). *B. tabaci* nymphs wash was tested for *E. desantisi* attractiveness and showed to be biologically active, with the 50% ether fraction being active for the parasitoids. The 50% ether fraction was refracted, and in the bioassays the 10% ether fraction showed biological activity. The results analyzed in GC-FID and GC/MS characterized the compounds as belonging to two classes: esters and ketones.

Keywords: *Bemisia tabaci*, semiochemicals, plant volatiles, *Cucumis melo*, kairomones, *Encarsia desantisi*, biological control, parasitoids, whitefly.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - As variedades de melão mais comercializadas no Brasil	18
Figura 2 - a) Adultos de <i>Bemisia tabaci</i> em folhas de meloeiro (<i>Cucumis melo</i> L.) e b) detalhe de adulto com ovos (35x)	19
Figura 3 - Ciclo de vida de <i>Bemisia tabaci</i> biótipo B.....	20
Figura 4 - a) Sintomas em meloeiro (<i>Cucumis melo</i> L.) pelo “amarelão”, Melon yellowing - associated vírus (MYaV), infecção natural em campo, Juazeiro, BA. b) Sintomas do mosaico em meloeiro causados por MYaV.....	22
Figura 5- Ciclo de vida de <i>Encarsia desantisi</i>	25
Figura 6 - Funções fisiológicas dos voláteis no ambiente.....	27

CAPÍTULO I

Figura 1 - Olfatomentro de 4 vias utilizado nos bioensaios de <i>Bemisia tabaci</i> . Setas vermelhas indicam a entrada do fluxo de ar até o ponto central do olfatômetro com um “x”. O losango central é a área do olfatomentro considerada como “não resposta”.....	34
Figura 2- (a) Primeira escolha de <i>Bemisia tabaci</i> entre Controle vs Planta Infestada e primeira escolha de <i>B. tabaci</i> entre Controle vs Planta Sadia	35
Figura 3 –(b) Número de entradas de <i>B. tabaci</i> em cada braços do olfatômetro entre Controle vs Planta Infestada e número de entradas de <i>B. tabaci</i> entre Controle vs Planta Sadia.....	36
Figura 4 – (c)Tempo médio em que <i>Bemisia tabaci</i> permaneceu em cada braço do olfatômetro entre Controle vs Planta Infestada e tempo médio de <i>B. tabaci</i> entre Controle vs Planta Sadia	36
Figura 5 – (a) Primeira escolha de <i>Bemisia tabaci</i> entre Planta Infestada vs Planta Sadia vs Controle, (b) Número de entradas de <i>B. tabaci</i> em cada braços do olfatômetro, (c) Tempo médio que o inseto permaneceu em cada braço do olfatômetro.....	37

CAPÍTULO II

Fig 1 Preference of the parasitic wasp *Encarsia desantisi* for blank and flowering-melon volatiles in the four-arm olfactometry assay. Parasitoids' first choice (a), entering arm frequency (b) and time spent (mean $\pm$ SE) (c) in olfactometer quadrants with blank (white bars), volatiles from and undamaged melon (gray bars) or from hostinfested melon plants (black bars). *Designates significant difference at 5% according to binomial test (a, b) or according to Friedman's two-way test followed by Wilcoxon's test with Bonferroni's correction for multiple

comparisons	(c);	ns	no	significant
difference.....				49

Fig. 2 Preference of the parasitic wasp *Encarsia desantisi* for diferente flowering-melon volatiles in the four-arm olfactometry assay. Parasitoids' first choice (**a**), entering arm frequency (**b**) and time spent (mean $\pm$ SE) (**c**) in olfactometer quadrants with blank (white bars), volatiles from undamaged melon plants (gray bars) or from host-infested melon plants (black bars). *Designates significant difference at 5% according to multinomial test; ns no significant difference; same letters do not differ according to Friedman two-way test followed by Wilcoxon's test with Bonferroni's correction for multiple comparisons..... 50

Fig. 3 Composition of melon volatiles released by undamaged and host-infested melon plants. Total amount of volatiles emitted (mean $\pm$ SE) (**a**) and compounds released according to volatile chemical classes (mean $\pm$ SE) (**b**). *Designates significant difference at 5% according to Wilcoxon signedrank test; ns no significant difference..... 51

Fig. 4 Loading plots for principal components analysis (PCA) with plant-volatile chemical classes as variables. PCA of composition of volatiles emitted by undamaged and host-infested melon plants according to compound chemical classes..... 52

Fig. 5 Preference of the parasitic wasp *Encarsia desantisi* for blends of synthetic volatiles and hexane in four-arm olfactometry assay. Parasitoids' first choice (**a**) and time spent (mean $\pm$ SE) (**b**) in olfactometer quadrants with hexane or synthetic volatiles mimicking hostinfested plant. *Designates significant difference at 5% according to binomial test for first choice or Friedman two-way test followed by Wilcoxon's test with Bonferroni's correction for multiple comparisons..... 52

CAPÍTULO III

Fig 1. Response of *Encarsia desantisi* females in 'Y' olfactometer for fractions vs control and extract wash vs control. Asterisks indicate significant differences between treatments according to the chi-square test of the likelihood ratio (*** P <0.001; ** P <0.01; ns = No Significant) 69

Fig 2. Response of *Encarsia desantisi* females in 'Y' olfactometer for fractions vs control. Asterisks indicate significant differences between treatments according to the chi-square test of the likelihood ratio (* P <0.01; ns = No Significant) 69

Fig 3. Chromatograms indicating the relevant peaks in the fraction 50% ether (biologically active) 70

Fig 4. Chromatograms of fractions 10% ether and 20% ether from the 50% ether fraction refraction..... 70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Inseticidas registrados para uso de controle de <i>Bemisia tabaci</i> , utilizados na cultura do melão, com seus respectivos períodos de carência e limites máximos de resíduos (LMR).....	22
--	----

CAPÍTULO II

Table 1 Volatiles compounds emitted by undamaged and host infested flowering melons.....	51
--	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1 Cultura e produção do melão no Brasil.....	17
2.2 Bemisia tabaci biótipo B.....	19
2.3 Controle de Bemisia tabaci biótipo B	22
2.3.1 Controle químico	22
2.3.2 Controle Biológico	23
2.4 Gênero <i>Encarsia</i> spp.....	24
2.4.1 A importância de <i>Encarsia</i> spp. no controle biológico.....	26
2.5 Semioquímicos	27
2.6 Interação tritrófica (planta – herbívoro- parasitoide)	27
2.6.1 A importância da interação tritrófica para o MIP.....	29
CAPÍTULO I. Respostas olfativas de <i>Bemisia tabaci</i>, biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) aos voláteis de melão <i>Cucumis melo</i> (Cucurbitaceae).....	31
1.INTRODUÇÃO.....	32
2.MATERIAL E METODO.....	33
2.1 Plantas.....	33
2.2 Insetos	33
2.3 Bioensaios em olfatômetro.....	33
3. Analise Estatística.....	34
4. Resultados.....	34
5. Discussão.....	38
6. Conclusão	40
7. Referências	41

CAPÍTULO II. Phloem-feeding herbivory on flowering melon plants enhances attraction of parasitoids by shifting floral to defensive volatiles.....	45
--	----

CAPÍTULO III. Attractiveness of <i>Encarsia desantisi</i> (Hymenoptera: Aphelinidae) to the cuticular nymph compounds of <i>Bemisia tabaci</i> biotype B (Hemiptera:Aleyrodidae)	56
---	----

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS	71
--------------------------------------	-----------

4. REFERÊNCIAS	72
-----------------------------	-----------

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas ficando atrás apenas da China e da Índia. Com uma produção agrícola que gera milhares de empregos diretos e indiretos, em 2017 o país exportou 784 mil t. de frutas, representando 2,5% da produção nacional, ocupando a 23ª posição no ranking mundial de maiores exportadores de frutas com faturamento de US\$ 852 milhões (SECEX, 2018). Entre as frutas mais exportadas encontram-se o melão, limão, manga, mamão, melancia e uva. (HF BRASIL, 2018).

O melão, *Cucumis melo* L. é uma das culturas de maior importância econômica para a região nordeste, com uma produção de 164 mil t. de dezembro 2017 (SECEX, 2018). Um dos fatores que favorecem a concentração da produção no nordeste, as condições ambientais mais favoráveis que permitem o cultivo o ano todo (FAVERET et al., 1999). Apesar da cultura do melão estar bem adaptada na região e ter alta produtividade, alguns fatores limitam sua produtividade, como os danos causados pelas pragas (ALENCAR, 2000).

Bemisia tabaci (Genn.) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) é um dos insetos considerado pragas chave da cultura do melão em todas as regiões produtoras do Brasil (FERNANDES et al., 2000), causando danos diretos pela sucção da seiva sendo o veículo para transmissão do vírus causador do “amarelão-do-meloeiro”, assim como danos indiretos ocasionados pela excreção contínua de “honeydew”, favorecendo o crescimento do fungo causador da fumagina o qual reduz a incidência de luz nas folhas e consequentemente, a atividade fotossintética da planta (BYRNE; BELLOWS, 1991; BELLOWS et al., 1994).

Na cultura do melão, o principal método de controle de *B. tabaci* biótipo b, é por aplicação inseticidas foliares, algumas vezes pouco eficientes, devido à localização das ninfas na face abaxial das folhas e das plantas de meloeiro serem de crescimento rasteiro, o que dificulta a pulverização (SIMMONS; MCCREIGHT, 1996). Além disso, o uso sucessivo de determinados inseticidas para o controle acaba favorecendo a seleção de populações resistentes de *B. tabaci* biótipo B, reduzindo também a população de inimigos naturais (DENHOLM et al., 1996; HOROWITZ; ISHAAYA, 1996; NAVAS-CASTILHO, 2011).

Alternativas de controle a *B. tabaci* devem ser estimuladas para evitar a resistência a pesticidas (VILLAS BOAS et al., 2004; LARA, 1991), sendo o controle biológico um dos métodos de controle que pode ser empregado.

Os parasitoides do gênero *Encarsia* e *Eretmocerus* (Aphelinidae), são os principais agentes de controle biológico da *B. tabaci* biótipo B, em vários lugares do mundo

(HOROWITZETAL et al., 2011). No Brasil, destacam-se parasitoides do gênero *Encarsia*, que tem sido introduzido e criado em laboratório com o intuito de auxiliar nos programas de controle biológico de *B. tabaci* (CASTINEIRAS, 1995; PAVIS et al., 2003). A espécie utilizada nesse trabalho a *Encarsia desantisi* foi encontrada espontaneamente em plantas de couve, em Minas Gerais (TORRES, et al., 2004). Pessoa et al. (2016) testou o parasitismo de *E. desantisi* em mosca-branca criadas em algodão Bt (planta geneticamente modificada), e conclui que o uso destas plantas aliado ao parasitismo, podem ser uma estratégia de controle de *B. tabaci*.

A interação planta-herbívoro-parasitoide é uma interação tritrófica que envolve cadeias tróficas muito complexas, em que os componentes estão interligados. Uma possível tática de controle que envolva os voláteis desta interação tem se mostrado promissores para um controle de pragas (PINTO-ZEVALLOSO et.al, 2013).

Sabe-se que não existem até o momento trabalhos que utilizam o melão (*Cucumis melo*) e seus voláteis para identificação dos mesmos e nem qualquer relato dessa planta no sistema de interação tritrófica utilizando *B. tabaci* e o parasitoide *E. desantisi*. Esses fatos tornam o nosso trabalho de extrema relevância para esse sistema proposto.

Visando entender melhor a importância dos voláteis da planta de melão (*Cucumis melo*) induzidas por *B. tabaci* no forrageamento dos parasitoides *E. desantisi* e sua possível aplicabilidade no Manejo Integrado de Pragas (MIP) pode oferecer novas estratégias para o manejo desta praga.

Objetivos

Objetivo geral

Entender o comportamento de busca de *Bemisia tabaci*, pela sua planta hospedeira e analisar como o conjunto de voláteis planta hospedeira e herbívoro atuam na atração do inimigo natural, neste caso o parasitoide.

Objetivos específicos

- (i) Avaliar a resposta olfativa de *Bemisia tabaci* biótipo B aos voláteis de melão induzidos e não induzidos por seus co-específicos;
- (ii) Avaliar a resposta olfativa do parasitoide *Encarsia desantisi*, aos voláteis do melão induzido pela herbivoria da mosca-branca *Bemisia tabaci* biótipo B e plantas saudáveis; identificar os compostos químicos voláteis liberados pela planta de melão induzidos por *Bemisia tabaci* biótipo B e planta de melão saudáveis;
- (iii) Analise de compostos químicos voláteis de ninfas de *Bemisia tabaci* biótipo B e a avaliação da resposta olfativa do parasitoide *Encarsia desantisi* ao composto de ninfa.

2 Revisão de literatura geral

2.1 Cultura e produção do melão no Brasil

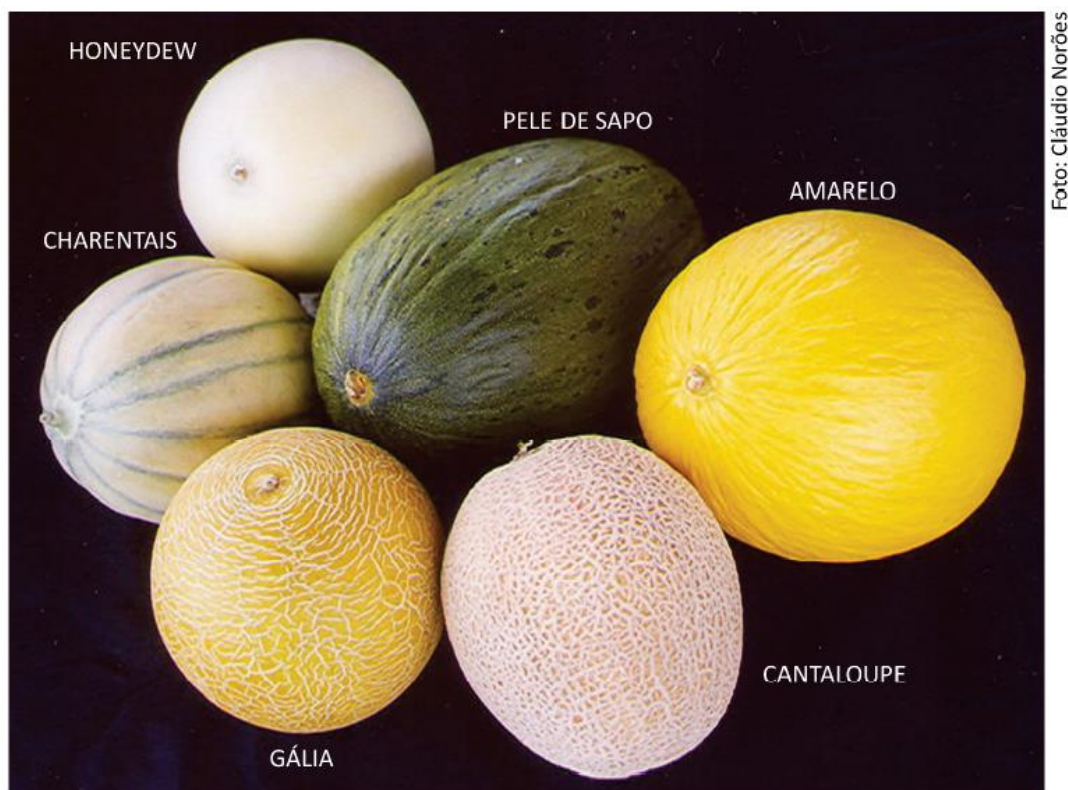
O plantio e a comercialização do melão no país, iniciou-se na década de 1960, nos Estados do Rio Grande do Sul e de São Paulo. Anterior a essa década, a fruta chegava ao Brasil importada da Espanha e do Chile. Somente a partir da década de 1980 a fruta passou a ser cultivada na região nordeste do Brasil. O principal motivo dessa mudança foram as condições climáticas, sendo o nordeste uma região mais favorável. (ARAÚJO; CAMPOS, 2011).

A cultura do meloeiro, *Cucumis melo* (L.) destaca-se no Brasil pela grande importância econômica e social. Entre as frutas e oleráceas exportadas pelo país, nos últimos dois anos, o melão lidera em valor exportado e em quantidade. Na safra 2017 a produção atingiu um novo recorde nas exportações de 233 mil t. Um valor recebido que somou US\$ 162 milhões um recorde na mesma comparação. Esse resultado promissor se deve aos bons embarques iniciais no ano passado e ao fim antecipado da temporada de colheita do melão espanhol e de outros países da Europa (HF BRASIL, 2018; SECEX, 2018).

No Brasil a produção de melão concentra-se em áreas irrigadas do semiárido nordestino, sendo 95,9 % da área plantada, os estados do Rio Grande do Norte e Ceará principais estados produtores e o submédio do Vale do Rio São Francisco – estados de Pernambuco e Bahia. (HF BRASIL, 2018).

De acordo com Pereira et al., (2017), os principais tipos de melão explorados no Brasil são: melão amarelo, Gália, Pele de Sapo, Cataloupe, Charentais e Honeydew (Figura 1). Mas, atualmente, os melões híbridos estão na lista dos favoritos pois esses têm maior resistência a pragas, produtividade e uniformidade.

Figura 1: As variedades de melão mais comercializadas no Brasil.



Adaptado de: Oliveira et al., (2017).

O melão é rico em minerais, particularmente potássio, sódio e fósforo. Possui baixo valor energético pode ser consumido *in natura*, como ingrediente de saladas de frutas ou de hortaliças, e suco (COSTA, 2008; SENAR, 2007)

A cultura do melão é afetada por diversos fatores incluindo o clima que influencia desde a germinação das sementes até a qualidade final do produto. Em regiões de clima semiárido onde é quente e seco, como da região nordeste do Brasil, os frutos apresentam alto teor de açúcar (°Brix), sabor agradável, mais aroma e maior consistência, características determinantes para sua comercialização, principalmente para a exportação e a conservação pós-colheita (COSTA, 2008; OLIVEIRA et al.2017).

A intensidade luminosa é outro fator climático importante para a cultura. A baixa intensidade de luz ou o encurtamento do período de luz resulta em menor área foliar. Assim, todos os fatores que afetam a fotossíntese de substâncias orgânicas, mediante a fixação do gás carbônico do ar, pela ação da radiação solar, também afetam a qualidade do fruto (FAVERET; ORMOND; DE PAULA, 1999; COSTA, 2008).

Na região semiárida, o melão tem um ciclo entorno de 60 dias, podendo variar devido as condições climáticas e as necessidades de cada cultivar (SILVA et. al, 2003).

Coelho et al. (2009), avaliou em 32 variedades de melão há resistência ao ataque de *Bemisia tabaci* biótipo B. A cultivar ‘Neve’ foi a menos atrativa para alimentação dos adultos e menos preferida pelas fêmeas para oviposição, enquanto a variedade ‘Nilo’ foi a mais atrativa para os adultos e as variedades ‘Nilo’ e ‘Jangada’ as mais atrativas para oviposição. Estes resultados podem ser utilizados para recomendações de plantio das cultivares mais resistentes em regiões com maior ocorrência de *B. tabaci*.

2.2 *Bemisia tabaci*, biótipo B

A mosca-branca, *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) possui cerca de $\approx 1\text{mm}$ comprimento (Figura 2) de corpo amarelo e quatro asas recobertas com uma pulverulência branca. As fêmeas realizam a postura na face abaxial das folhas do hospedeiro. O primeiro instar ninfal é móvel até encontrar uma área na folha adequada para a alimentação e a partir daí torna-se imóvel e assim permanece até o quarto e último instar, podendo ser identificadas pelos olhos vermelhos característicos (MCAUSLANE, 2009).

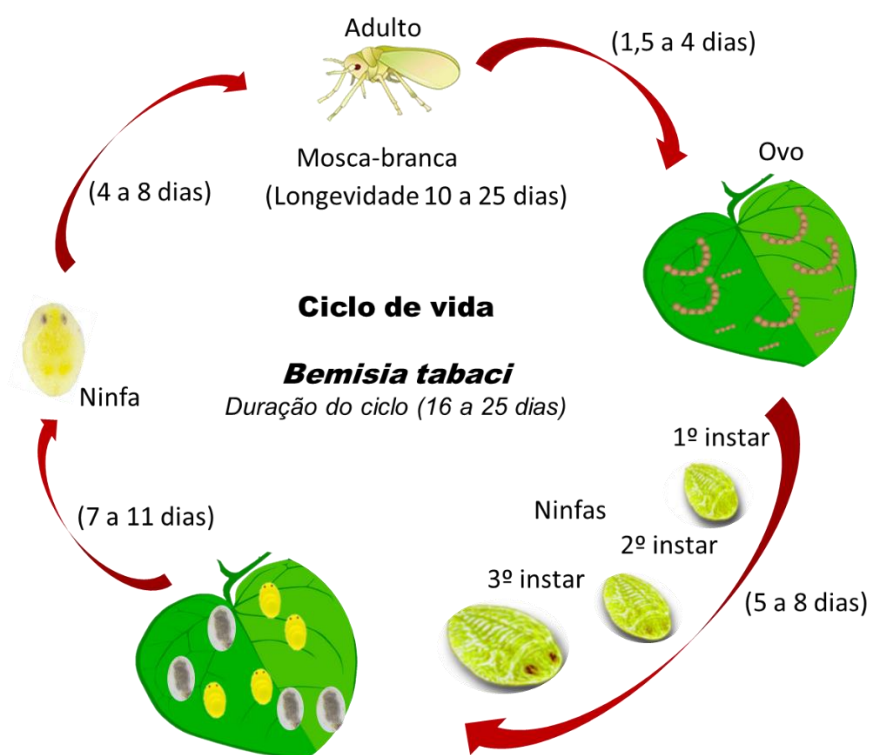
Figura 2. a) Adultos de *Bemisia tabaci* em folhas de meloeiro (*Cucumis melo* L.) e b) detalhe de adultos com ovos (35x).



O período ovo-adulto (Figura 3) varia de acordo com o hospedeiro, podendo ser de 15,5 a 20 dias, para 25 e 30 °C, respectivamente. Os adultos vivem, em média, 18 dias, e as fêmeas ovipositam de 100 a 300 ovos durante todo o seu ciclo de vida (VILLAS BÔAS; BRANCO, 2009). Fatores como altas temperaturas, baixa umidade relativa do ar e planta hospedeira, favorecem o desenvolvimento da mosca-branca, sendo, por isso, observados surtos populacionais desta praga na estação seca. A chuva é o fator mais adverso, causando

mortalidade nas populações do inseto, principalmente quando fortes e constantes (COSTA, 2008).

Figura 3. Ciclo de vida de *Bemisia tabaci* biótipo B.



Fonte: Autora, 2018

O transporte de estruturas vegetativas de plantas infestadas é um dos principais veículos de disseminação da praga. Essa dispersão também pode ser favorecida por correntes de vento. Outros fatores de sucesso nessa dispersão deve-se a habilidade de *B. tabaci* em se adaptar a novas plantas hospedeiras e condições climáticas diversas (VILLAS BÔAS et al., 1997), sua elevada capacidade de desenvolver resistência a inseticidas (PRABHAKER et al., 1992; SILVEIRA, 2000) e maior taxa de oviposição em relação a outras espécies de *B. tabaci* biótipo B (LOURENÇÃO et al., 2001).

Bemisia tabaci, biótipo B é uma espécie cosmopolita que tem sua origem ainda desconhecida, porém acreditasse que esse biótipo tenha sido introduzido e disseminado nos EUA vindos de colônias do Caribe (HAJI, et al, 2004).

Aqui no Brasil, *B. tabaci* biótipo B foi detectada no nordeste brasileiro no início da década de 1990 (VILLAS BÔAS; BRANCO, 2009), se tornando praga-chave de diversas culturas. Sua primeira constatação no Brasil, foi nos estados do Paraná em 1968 feito por Costa

et al. (1973) e em São Paulo no período 1972-1973 e rapidamente atingiu as principais regiões produtoras de outros estados do país onde ainda não tinha sido detectada (COSTA et al. 1973; MELO, 1992; LOURENÇÃO; NAGAI, 1994).

O biótipo B se diferencia do biótipo original A em alguns aspectos como: maior taxa de fecundidade, ataca maior número de plantas cultivadas, incluindo crucíferas, citros e mamão e induz alterações fitotóxicas em cucurbitáceas, tomates e brócolis, transmitida pela toxina presente na saliva das ninfas de *B. tabaci* (HILJE, 1996)

A sucção contínua da seiva e inoculação de toxinas é o dano direto que provoca alterações no desenvolvimento vegetativo e reprodutivo da planta. Além disso, a excreção açucarada (honeydew) que o inseto excreta durante o processo de alimentação favorece a proliferação de fungos *Capnodium* sp., formadores da fumagina. Estes se desenvolvem sobre a superfície dos diferentes órgãos da planta, interferindo nos seus processos de fotossíntese e respiração (BYRNE; BELLOWS, 1991; COSTA-LIMA, et.al., 2016).

Um dos maiores danos causado pela *B. tabaci* em meloeiro é a transmissão do vírus do amarelão, *Melon yellowing-associated vírus* (MYaV; gênero *Carla virus*; família *Betaflexiviridae*). Essa doença foi detectada na cultura no final da década de 1990, associado a altos níveis populacionais de *B. tabaci* biótipo B em áreas de meloeiro no semiárido nordestino (NAGATA et al., 2003; SILVA et al., 2002). O tipo de sintoma induzido pelo vírus é observado inicialmente com o amarelecimento nas folhas baixas da planta (mais velhas) (Figura 4). Com o desenvolvimento da doença, todas as folhas se apresentam cloróticas, o que interfere na atividade fotossintética da planta e causa redução na quantidade e na qualidade dos frutos (COSTA-LIMA et al., 2016).

Figura 4. a) Sintomas do “amarelão”, Melon yellowing -associated vírus (MYaV) em meloeiro (*Cucumis melo* L.) em Juazeiro, BA. b) Sintomas do mosaico em meloeiro causados por MYaV.



2.3 Controle de *Bemisia tabaci* biótipo B

2.3.1 Controle químico

O uso de inseticidas é o principal método utilizados pelos produtores para controlar a *B. tabaci*. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento disponibiliza uma lista de 48 inseticidas registrados para cultura do melão, dos quais 37 são para o controle de *B. tabaci* em meloeiro. Desses os neonicotinoides (Tabela 1) representam o grupo químico com maior número de inseticidas utilizados (COSTA-LIMA et al., 2016; BRASIL, 2018).

Tabela 1. Inseticidas registrados para uso de controle de *B. tabaci*, utilizados na cultura do melão, com seus respectivos períodos de carência e limites máximos de resíduos (LMR).

Grupo químico/ Subgrupo	Ingrediente ativo	Intervalos de segurança (dias)	LMR* (mg/kg)
Piretroide	Bifentrina	7	0,5
Neonicotinoides	Imidacloprido	40	0,5
	Acetamiprido	3	0,2
	Tiametoxam	7	0,02
	Tiacloprido	14	0,2
	Clotianidina	10	0,1
Piriproxifen (= Éter piridiloxipropílico)	Piriproxifeno	14	0,05
Piridina azometina	Pimetrozina	3	0,05
Diafentiuuron (= Feniltioureia)	Diafentiuuron	7	0,2
Buprofezina (= Tiadiazinona)	Buprofezina	7	0,3
Cetoenol	Espiromesifeno	1	0,2

Diamedas	Ciantraniliprole	1	0,07
Tetranortriterpenoide	Azadiractina	ND*	ND*
Piretroide + Neonicotinoides	Bifentrina ou beta-ciflutrina + Imidacloprido	7	0,05

Fonte: Guia sobre Mosca-branca em Meloeiro (COSTA-LIMA, et al., 2016). Anvisa: www.anvisa.com.br, acesso em 10/04/2018 * LMR: limite máximo de resíduos. ND: não definido

Outras medidas de controle, são de extrema importância, como o controle legislativo, baseado em dispositivos legais que obrigam o cumprimento de normas de plantio, como destruição de restos culturais e a regulamentação do uso e manejo de agrotóxicos (HAJI et al., 2004).

O controle cultural, é uma estratégia adequada sendo uma tática que se baseia em práticas agrícolas com o propósito de prevenir o ataque de *B. tabaci*, tornando o ambiente menos favorável ao seu desenvolvimento implementando o plantio de mudas saudáveis, barreiras vivas, armadilhas e manejo de plantas daninhas hospedeiras que possam impedir ou retardar o aparecimento da praga na cultura. Entretanto, o cultivo sucessivo de várias culturas hospedeiras dificulta a redução de populações de mosca-branca a níveis baixos que não cause danos econômicos (ALENCAR, 2000; HAJI, 2004).

2.3.2 Controle Biológico

O controle biológico consiste na regulação de insetos pragas devido a ação de seus inimigos naturais, podendo ser parasitoides, predadores e entomopatógenos (PARRA et al, 2002; HAJI et al, 2004).

Apesar da cultura do melão abrigar naturalmente uma grande diversidade de inimigos naturais, como parasitoides e predadores (crisopídeos, joaninhas, aranhas, formigas e percevejos), esse tipo de controle é pouco explorado pelos produtores devido ao uso excessivo do controle químico (GUIMARÃES et al, 2008).

No Brasil, a única opção de controle biológico disponível para controle de *B. tabaci* em meloeiros, é o fungo entomopatogênico, *Beauveria bassiana*. Em outros países, é comum a comercialização de predadores e parasitoides de *B. tabaci* para cultivos protegidos, principalmente, ácaro predador *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot e os parasitoides, *Encarsia formosa* Gahan e *Eretmocerus eremicus* Rose & Zolnerowich (GERLING et al., 2001; CALVO et al., 2011).

No Brasil, existem poucos estudos sobre os parasitoides de *B. tabaci* presente no ambiente e sua eficácia no controle. Esse tipo de controle, é muitas vezes negligenciado pelos produtores de melão, consequentemente poucos estudos são realizados sobre a ação desses inimigos naturais (FERNANDES, 1998).

Estudos realizados por Oliveira et al. (1999), registrou a presença de dez espécies pertencentes ao gênero *Encarsia* parasitando ninfas de *B. tabaci* em condições de semicampo sobre diferentes culturas (tomate, melão e soja), localizadas no Distrito Federal.

Fernandes (2006) realizou um levantamento de inimigos naturais na cultura do meloeiro em Mossoró, RN, encontrando nove famílias de parasitoides visitando a cultura do melão. Torres et al. (2014) fez um levantamento em Lavras, MG dos inimigos naturais de *Bemisia tabaci*, em plantações de couve no campo e em casas de vegetação. Em casas de vegetação foram encontrados, 6.495 predadores pertencentes a três famílias e 16.628 parasitoides da família Aphelinidae. No campo, 267 predadores e 344 parasitoides pertencentes a cinco famílias foram encontrados.

Quintela et al., (1992), observou *B. tabaci* sendo parasitada por *Encarsia* sp. em na soja e no feijão mantidos em casa de vegetação variando de 48,3 a 85,4%, e no campo, de 45,7% em *Sida* sp., de 7,9 a 16,9% em feijoeiro e de 9,5% em soja.

2.4 Gênero *Encarsia* spp.

Os parasitoides do gênero *Encarsia* (Hymenoptera: Aphelinidae) compreende aproximadamente 200 espécies, grande parte das quais parasitam de mosca-branca e cochonilhas de carapaça (POLASZEK et al., 1992).

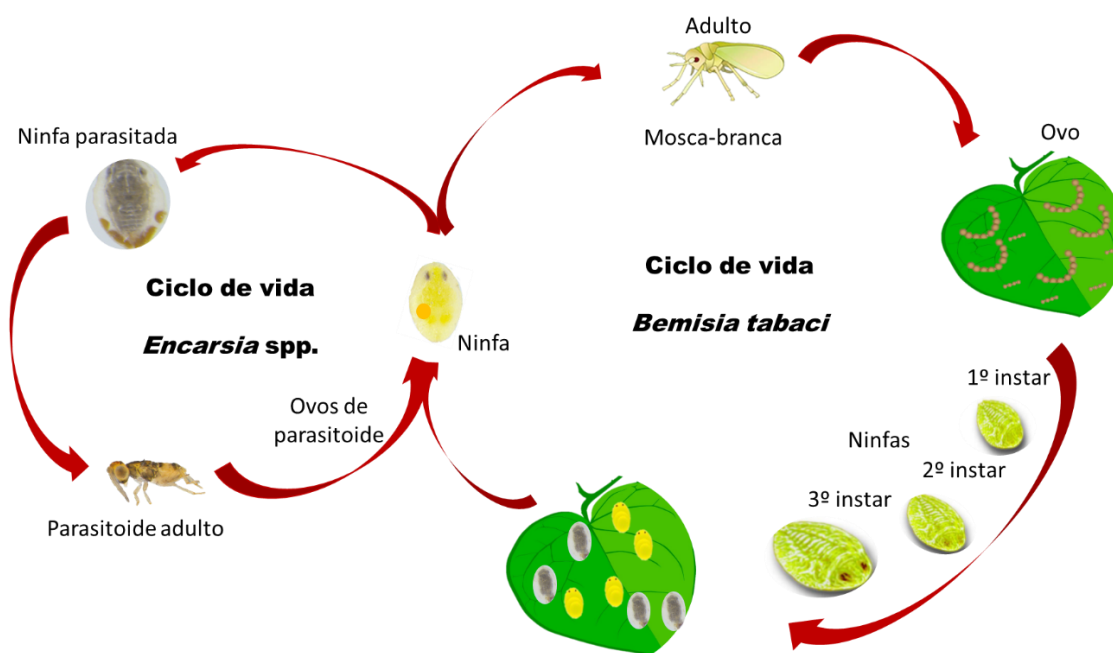
A espécie *E. formosa* (G.), é a mais utilizada no mundo para o controle de *B. tabaci* em cultivo protegido, sendo descrita em 1924 por Gahan, de espécimes coletadas no USA (Idaho) (HODDLE et al., 1998). Não se sabe o centro de origem desses parasitoides, mas deve ser próximo de seu hospedeiro, em regiões tropicais ou subtropicais (VET et al., 1980).

Encarsia spp. são endoparasitoides solitários e telítocos, sendo que cada geração contém apenas fêmeas. Medem em torno de 0,6 mm, de coloração variável e ou completamente amarelo claro, algumas com manchas marrons e outras completamente marrons. Os machos, normalmente são maiores e mais escuros que as fêmeas, apresentando coloração marrom (VET et al., 1980; SCHMIDT et al., 2001).

A reprodução de *Encarsia* spp., pode ser por partenogênese telítoca (ZCHORI-FEIN et al., 2001). Machos desenvolvem-se como hiperparasitoides das fêmeas da sua própria espécie (VIGGIANI, 1987). Em algumas espécies como *E. formosa*, a reprodução está diretamente associada a bactéria *Wolbachia*, desde que as fêmeas com esses simbiontes se reproduzam por partenogênese telítoca, dando origem a somente a fêmeas. (ZCHORI-FEIN et al. 2001).

O ciclo reprodutivo de *Encarsia* spp. (Figura 5), inicia com a deposição de seus ovos no terceiro e quarto instares em ninfas de *B. tabaci*. A oviposição e maturação dos ovos diminuem com a idade do parasitoide. O ovo de *Encarsia* spp. é de forma ovalada e sésil, o parasitoide passando pelas fases de ovo, larva, pupa e adultos (SUAREZ et al.2010; ANTONY et al. 2004). O ciclo de vida dura cerca de 16 a 23 dias, estando diretamente relacionada com a temperatura, tamanho e estágio de desenvolvimento do hospedeiro (NIKOLSKAYA; YASNOSH, 1966; NECHOLS; TAUBER, 1977).

Figura 5: Ciclo de vida de *Encarsia desantisii*



Fonte: Autora, 2018

Os parasitoides têm hábito diurno, sendo seu pico de atividade no início da tarde, onde sofrem influência direta da luz e da temperatura sobre a capacidade de dispersão. Para obter

energia, esses parasitoides consomem o “honeydew” ou a hemolinfa do seu hospedeiro. (GERLING, 1966; HODDLE; VAN DRIESCHE; SANDERSON, 1998).

O forrageamento de *Encarsia* spp. depende da velocidade de caminhamento do parasitoide, da quantidade e do tamanho do seu hospedeiro. O comportamento de caminhamento do parasitoide na folha se divide em períodos em que está andando, parado ou fazendo voos curtos. Algumas variáveis influenciam na velocidade do caminhamento, como o tipo de venação da folha, quantidade e presença de tricomas, excesso de “honeydew”, etc (SÜTTERLIN; VAN LENTEREN, 1997). Aliados a isso, fatores como temperatura e hora do dia afetam diretamente a sua atividade de forrageamento (SIMMONS; MCCUTCHEON, 2001; SIMMONS et al., 2002)

2.4.1 A importância de *Encarsia* spp. no controle biológico

No Brasil, existem poucos estudos sobre o uso de parasitoides no controle de mosca-branca. Alguns levantamentos realizados em diversas culturas relatam a presença de parasitoides do gênero *Encarsia* spp. no Distrito Federal (Oliveira et al. 1999). Outros levantamentos realizados na Bahia (Juazeiro) e Pernambuco (Petrolina) em culturas de tomate e uva (Moreira et al. 1999) e na cultura do melão no Rio Grande do Norte (Mossoró) e Ceará (Baixa Jaguaribe) (Fernandes, 2000).

O uso do parasitoide *E. formosa*, para *B. tabaci* em casa de vegetação teve início 1920 na Europa e se espalhou ao redor do mundo. Porém, em 1945 houve uma queda em seu uso devido ao desenvolvimento de inseticidas sintéticos e pouca informação sobre o uso correto do parasitoide (HUSSEY, et al., 1965; SPEYER, 1930; WARDLOW et al., 1976; VAN LENTEREN; WOETS, 1988; VAN LENTEREN et al., 1996). Com relatos de resistência de mosca-branca aos inseticidas, após 1970 reiniciou-se a utilização deste parasitoide (VAN LENTEREN; HULPAS-JORDAAN, 1987; VAN LENTEREN; WOETS, 1988; VAN LENTEREN 1995).

Alguns países, utilizam *E. formosa* como uma das formas de controle de mosca-branca em cultivos protegidos principalmente na Europa, América do Norte e Ásia (VAN LENTEREN, 1995). Nesses países, alguns fatores como a temperatura local no momento da liberação e o espaçamento das culturas tem afetado a eficiência do parasitoide na busca pelo hospedeiro. Outros fatores ligados à planta, como a espécie, variedade, nutrição e quantidade de tricomas podem também afetar a eficiência do parasitismo (HODDLE et al., 1998).

Para eficiência do uso do controle biológico com parasitoides do gênero *Encarsia*, na cultura do melão, por exemplo, é necessária uma combinação de outras técnicas de controle, como o controle cultural, aplicação de inseticidas seletivos e o uso de outros agentes, levando em conta os preceitos do Manejo Integrado de Pragas (MIP) (HODDLE et al., 1998; HAJI, et al., 2004).

2.5 Semioquímicos

Sabe-se que os insetos são os seres vivos que mais utilizam fontes de odores para realizar suas atividades durante a vida. Um dos comportamentos fundamentais para a sobrevivência desses insetos é a comunicação. (VILELA; DELLA LUCIA, 2001). A comunicação pode ser definida como a transmissão ou recepção de informação por meio de sinais proveniente de um outro organismo (LEWIS; GOWER, 1980).

Semioquímicos são definidos como substâncias químicas envolvidas na comunicação entre os organismos. (NORDLUND; LEWIS, 1976; VILELA; DELLA LUCIA, 2001). Como a terminologia de semioquímicos é muito ampla, alguns autores como Dicke e Sabelis (1988), passou a utilizar o termo “infoquímicos” que eles definiram como uma substância química que naturalmente fornece informações, em uma interação de dois indivíduos, provocando no receptor, um comportamento ou resposta fisiológica.

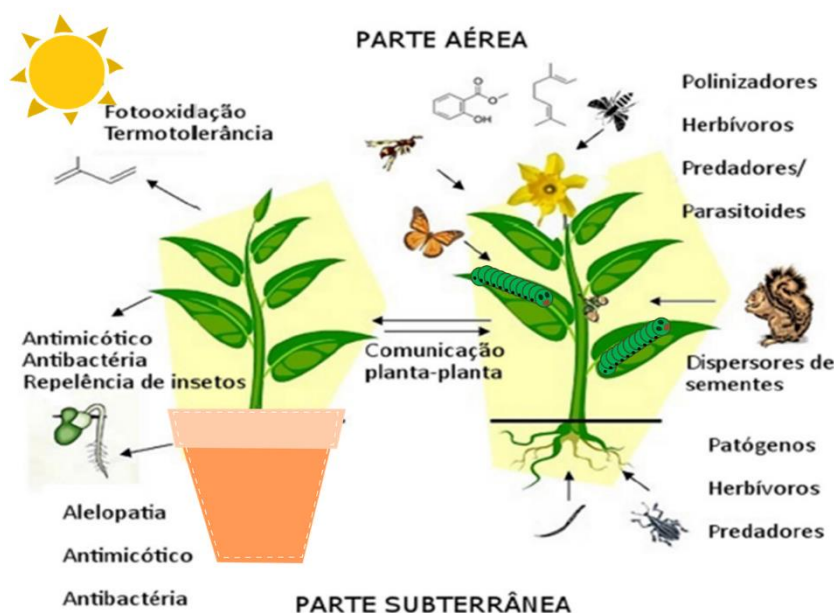
Existem várias classes de infoquímicos, uma delas são os *aleloquímicos*, que são mediadores de interação de dois indivíduos de espécies diferentes (interespecífica), podendo ser considerado um alomônio, cairomônio ou sinomônio. Essas substâncias químicas exercem papel fundamental em todas as comunidades, estendendo-se além de duas categorias tróficas, mediando interações de três ou mais níveis (PRICE et al., 1980; VILELA; DELLA LUCIA, 2001).

2.6 Interação tritrófica (planta- herbívoro - parasitoide)

Entender a interação química dos indivíduos de uma determinada cadeia ecológica, onde todos fazem parte de sistema complexo e interligado com outros organismos, afetando todos mutuamente, é uma tarefa extremamente complexa (PUTMAN, 1994). Quando falamos de interação tritrófica onde temos a planta como produtor, o inseto herbívoro como consumidor primário e a influência dessa interação no predador ou parasitoide (consumidor secundário) a compreensão do papel de cada organismo na cadeia, favorece a tomada de decisão nas estratégias de manejo para controle de determinadas pragas (SILVA, et al., 2012).

Nesse sistema, os voláteis têm muitas funções no ambiente (Figura 6). O estado fisiológico natural das plantas ou quando elas são submetidas a estresse, podem ser descritos pela composição química dos voláteis difundidos por elas (RIFFEL; GOMES, 2015). Existem muitas funções no ambiente mediadas pela emissão dos voláteis, como a atração de polinizadores e dispersores de sementes, defesa da planta contra herbívoros ou patógenos e a comunicação entre plantas vizinhas sobre o ataque de algum inseto herbívoro ou patógeno. PINTO-ZEVALLOS et al., (2013)

Figura 6. Funções fisiológicas dos voláteis no ambiente



Adaptado de: PINTO-ZEVALLOS, et al., (2013)

O papel dos voláteis nas interações tritróficas, tem sido muito estudado juntamente com as adaptações constantes dos insetos herbívoros para não serem detectados por seus inimigos naturais. Porém, assim como os herbívoros, os inimigos naturais também se adaptam aos voláteis induzidos, beneficiando a planta e os predadores (RAGUSO, 2004; BRUCE, et al, 2005; CLAVIJO et al, 2012)

Cada via de indução de voláteis tem sua particularidade, que depende da espécie de planta, do estágio de desenvolvimento do inseto herbívoro, tempo de indução, habito do inseto e estado fisiológico da planta. Com especificidade da indução, os inimigos naturais respondem

de forma precisa quanto a localização da presa, mediada por compostos das plantas danificadas pela herbivoria. (DE MORAES et al, 1998; YONEYA et al. 2009; GOUINQUENÉ; TURLINGS, 2002).

2.6.1 A importância da interação tritrófica para o MIP

Sabe-se da importância de utilizar táticas e estratégias de controle de pragas de forma coerente, sendo a base fundamental para o manejo integrado de pragas (MIP), onde todos os métodos, devam estar interligados sem interferir ou prejudicar o outro (SILVA et al., 2012).

Na última década muitos estudos foram realizados envolvendo o uso de voláteis de plantas no controle de pragas na agricultura, porém, poucos trabalhos têm apresentado resultados satisfatórios, devido ao pouco conhecimento do papel que cada indivíduo desempenha no sistema extremamente complexo (THULER et al. 2008).

Uma das formas de disponibilizar, o uso dos voláteis de plantas para controle, é por meio de iscas. De acordo com Arruda- Gatti et al., (2003), por exemplo, o controle de *Diabrotica* ssp. pode ser realizado por meio de substâncias voláteis de Cucurbitaceae, as cucurbitacinas associadas aos inseticidas para o controle deste inseto no campo.

Birkett et al. (2003), testou a atratividade do parasitoide *E. formosa* a uma mistura de voláteis de plantas de feijão atacadas por mosca-branca. Essa mistura provocou um aumento significativo nos voos direcionados do parasitoide para seu hospedeiro.

Alguns compostos voláteis como o ácido jasmônico (JA) e o salicilato de metila (MeSA) têm sido estudados há alguns anos e atuam após o dano na planta por herbivoria ou dano mecânico, demonstram atratividade aos inimigos naturais. Trabalhos como os de James et al. (2003) testaram a eficiência do MeSA em armadilhas adesivas para a atratividade de predadores como os crisopídeos.

Entretanto, muitos estudos ainda questionam a real aplicabilidade desses compostos no controle biológico no desempenho para atrair os inimigos naturais (KAPLAN, 2012; KELLY; HAGLER; KAPLAN, 2014), demonstrando a necessidade de mais estudos para seu uso no manejo de pragas.

CAPITULO I. Respostas olfativas de *Bemisia tabaci*, biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidade) aos voláteis de melão *Cucumis melo* (Cucurbitaceae).

Resumo

Devido ao grande problema que a mosca-branca *Bemisia tabaci*, biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) tem trazido para diversas culturas agrícolas, entre elas o melão (*Cucumis melo*) não só pelos danos ocasionados pela alimentação, mas por ser um importante vetor de doenças, impulsiona a busca de alternativas para o manejo dessa praga utilizando além dos inimigos naturais, os voláteis da própria planta. Sendo assim, estudou-se o comportamento da própria mosca-branca em olfatômetro de 4 vias, aos voláteis do melão em diferentes condições: de plantas sadia, plantas infestadas (pela própria mosca-branca) e ar limpo (controle), para as diferentes combinações de tratamento. O herbívoro mosca-branca, respondeu ao controle, quando testado planta infestada vs ar limpo, quando testados planta sadia vs ar limpo os insetos permaneceram mais tempo no braço que continha as plantas e quando possibilitado a chance de escolha entre odores da Planta Sadias, Planta Infestadas e Controle, os adultos de *B. tabaci* gastaram mais tempo nos quadrantes do controle. Tais resultados nos leva a crer que o estímulo químico não é o único envolvido na localização hospedeira de *B. tabaci*, visto que os mecanismos da seleção hospedeira de insetos que se alimentam de floema é variável. Adicionalmente, para este inseto estímulos visuais também são de grande importância no direcionamento até a planta hospedeira, podendo assim, a exclusão deste estímulo ter afetado sua escolha.

Palavras-chave: olfatômetro 4 vias; mosca-branca; semioquímicos; melão.

1. Introdução

Bemisia tabaci, biótipo B (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae), é um inseto herbívoro praga chave de muitas culturas. O dano econômico que esse inseto causa nas culturas tem relação com seu hábito alimentar, causando danos diretos pela sucção da seiva assim como pela transmissão de doenças, ou indiretos ocasionados pela eliminação contínua de “honeydew” (BROWN et al. 2002; JONES, 2003; HAJI, 2004; HEQUET et al. 2007).

A seleção do hospedeiro em insetos herbívoros envolve uma cadeia de respostas, começando com a orientação à distância para a planta através de estímulos olfativos ou visuais (THORSTEINSON, 1960). Uma vez que o hospedeiro foi encontrado através dos estímulos táteis e gustativos onde esses estímulos são quem irão determinar a aceitação ou não desta planta, podendo esta ser então utilizada para alimentação e ou/oviposição (BECK, 1965).

Trialeurodes vaporariorum espécie de mosca-branca comumente encontrada em plantas de fumo, batata-doce, tomate assim como em melão (MOUND, et al 1978), usa pistas visuais como a cor emitida pelas plantas para encontro de seu hospedeiro (VAISHAMPAYAN et al. 1975a, b; VERSCHOOR-VAN DER POEL e VAN LENTERN, 1978), respondendo inicialmente durante o processo de migração à comprimentos de onda de luz de aproximadamente 400 nm o qual corresponde a cor próxima ao azul do céu, mas efetivamente à comprimentos de onda de aproximadamente 550 nm o qual correspondem ao verde característico das plantas hospedeiras (COOMBE, 1982). Resultado semelhante são observados para outras espécies de mosca-branca, as quais respondem a cor como sugestão para selecionar locais de pouso para alimentação e oviposição (BUTLFR, 1967; DOWELL, 1979).

O melão (*Cucumis melo*), uma das culturas de maior importância econômica para a região Nordeste do Brasil, sendo responsável por 95% da produção de todo o país (COSTA-LIMA et.al., 2016), é uma das principais culturas com problemas relacionados a ataques de *Bemisia tabaci*, biótipo B.

A necessidade de métodos alternativos e complementares para o controle de mosca-branca, tem sido objeto de vários estudos nos últimos anos (BIRKETT et al. 2003; LI et al. 2014). O uso de compostos voláteis liberados usualmente pelos hospedeiros vem sendo amplamente estudados como atrativos a fim de, não apenas usar em programas de monitoramento de insetos praga (BAKTHAVATSALAM; TANDON, 2006), mas também em técnicas de manejo de pragas como atrai -e- mata (ZARBIN et al. 2009).

Em função da representatividade da cultura do meloeiro no cenário frutícola brasileiro, o objetivo deste capítulo foi compreender a importância dos voláteis de plantas de melão (*Cucumis melo*) para a localização hospedeira de *B. tabaci*, assim como avaliar se os voláteis induzidos pela herbivoria de co-específicos podem afetar o comportamento de *B. tabaci*, avaliando a atratividade de inseto em plantas com herbivoria e plantas sadias (sem herbivoria).

2. Material e Métodos

2.1 Plantas

Plantas de melão (*Cucumis melo*, tipo amarelo, variedade Mandacaru) foram cultivadas em vasos (2L) preenchidos com substrato orgânico Basaplant® e suplementadas nutricionalmente pela aplicação de Osmocoat. As plantas foram utilizadas para os bioensaios após atingirem 45 dias de idade. Os experimentos foram realizados nos meses de julho à novembro de 2016, no Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ/USP, Laboratório de Ecologia Química e Comportamento de Insetos em Piracicaba - São Paulo, quando a temperatura média calculada para o período foi de 25°C e a 65 %UR. Apesar dos ensaios terem sido realizados em condições controladas, as mesmas condições de temperatura externa foram mantidas.

2.2 Insetos

Adultos de *B. tabaci* biótipo B, obtidos a partir de criação mantidas no Instituto Agronômico de Campinas (IAC)- (Campinas, São Paulo) foram mantidos em plantas de melão (*C. melo* L.) oferecidas inicialmente a *B. tabaci* em casa de vegetação. Os insetos destinados aos bioensaios foram mantidos isolados em gaiolas sob temperatura e umidade controladas (26 °C e a 65% UR), para controle de emergência das ninfas com idade entre 2 a 5 dias de vida.

2.3 Bioensaios em olfatômetro

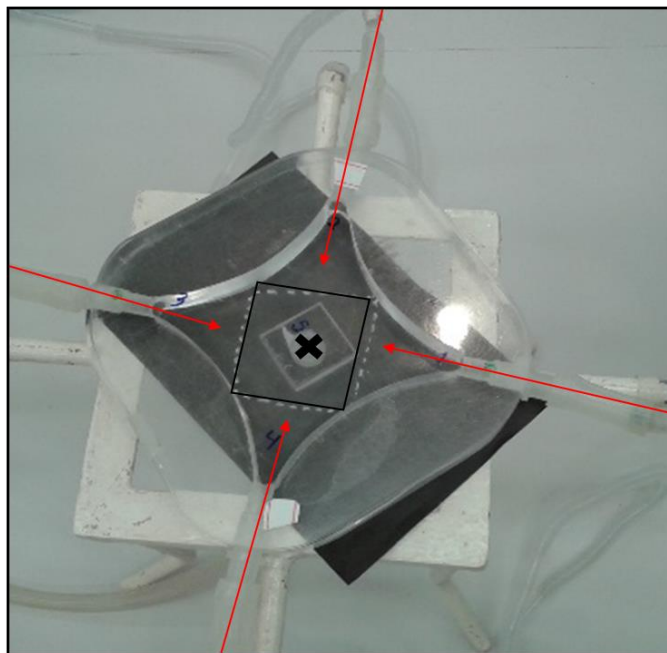
A resposta dos insetos aos voláteis liberados pelas plantas, foi avaliada em olfatômetro de quatro vias, segundo metodologia proposta por VET et al., 1983. Para tanto, em uma via do olfatômetro foi conectada a câmara de vidro, contendo plantas sadias de melão, e a outra via ligada a câmaras com plantas previamente induzidas por *B. tabaci* (15 dias de infestação). Câmaras vazias foram utilizadas como tratamento controle (ar limpo). As plantas induzidas foram removidas do contato com os adultos 24 horas antes do início dos testes. Os ensaios foram conduzidos em sala climatizada a 25°±2°C; 60±10%UR durante a fotofase.

Para os ensaios com *B. tabaci*, as câmaras de vidro (43 cm alt x 18 cm diam) acopladas nas vias do olfatômetro de quatro via (14 x 14 x 2 cm) e uma barreira visual foi instalada, a fim de evitar os estímulos visuais ao inseto; cada um dos braços recebeu uma vazão de 0,5 L.min⁻¹ de ar purificado. A vazão de ar foi obtida utilizando uma bomba de vácuo a qual foi conectada na saída central do olfatômetro, assim o ar que entrava em cada um dos braços convergia no ponto central do olfatômetro por onde era retirado do sistema.

Os insetos utilizados nos testes já haviam copulado e possuíam experiência de oviposição. Cada repetição correspondeu a um inseto totalizando 180 insetos, sendo 60 repetições para cada combinação: i) Planta Sadia vs. Controle; ii) Planta Infestada vs. Controle; iii) Controle vs. Planta Sadia vs. Planta Infestada. Os tratamentos foram distribuídos de forma aleatória entre as vias do olfatômetro na seguinte proporção de odor entre os tratamentos 2:2 (e.g. 2 braços com controle e 2 com tratamento); 2:2 e 2:1:1 respectivamente.

Para os bioensaios, os insetos foram liberados no quadrante central do olfatômetro. O comportamento foi observado durante 10 minutos registrando o tempo de permanência do inseto em cada via, o número de entradas do inseto em cada via do olfatômetro e a primeira escolha do inseto. A área central do olfatômetro foi considerado como “não-resposta”. A cada repetição, o olfatômetro foi rotacionado em 90° e o tratamento e controle substituídos para evitar algum efeito de posição na resposta dos insetos, os quais foram descartados após cada teste. Para controlar os registros do bioensaio foi utilizado no computador o software Olfa (F. Menazzi, Udine, Itália).

Figura 1. Olfatometro de 4 vias utilizado nos bioensaios de *Bemisia tabaci*. Setas vermelhas indicam a entrada do fluxo de ar até o ponto central do olfatômetro marcado com um “x”. O quadrado central é a área do olfatometro considerada como “não resposta”.



3. Análise Estatística

Para análise dos bioensaio de olfatômetro, os braços contendo o mesmo tratamento foram agrupados e suas probabilidades hipotéticas de ocorrência foram combinadas. A primeira escolha de *B. tabaci* e a proporção de entrada nos braços com odores testados foram analisados por teste binomial quando comparados dois tratamentos (controle versus plantas sadias ou em controle vs. infestadas) e por teste multinomial seguido por contrastes binomiais quando comparados três tratamentos (controle vs plantas sadias vs plantas infestadas), todos os testes considerando a hipótese nula H_0 ser igual probabilidade de escolher o braço. O tempo de permanência de *B. tabaci* nos quatros braços do olfatômetro foi avaliado por ANOVA two-way de Friedman, seguido pelo teste de Wilcoxon com correção de Bonferroni para comparações múltiplas. Os dados do bioensaio de insetos foram avaliados no programa estatístico 'R' versão 3.1.2 (www.r-project.org). Testamos os níveis de significância de 5% em todas as análises estatísticas.

4. Resultados

Não houve diferença na primeira escolha de *B. tabaci* quando contrastado odores de plantas infestadas versus controle (Fig. 2 a teste binomial, $N = 60$, $P = 0,15$). Entretanto, as mosca-brancas apresentaram maior número de entradas (Fig. 3 b, teste binomial, $N = 60$, $P = 0,04$) e maior tempo de residência (Fig. 4 c, Friedman ANOVA $\chi^2 = 4,41$, $df = 1$, $P = 0,03$) em quadrantes do olfatômetro contendo odores do controle em relação a plantas infestadas.

Adicionalmente, não houve diferença na primeira escolha (Fig. 2 a teste binomial, $N = 60$, $P = 0,51$) e número de entradas (Fig. 3 b, teste binomial, $N = 60$, $P = 0,49$) de adultos de *Bemisia tabaci* nos quadrantes do olfatômetro contendo odores de plantas sadias e controle. Porém, o tempo de permanência dos insetos nas regiões contendo voláteis de plantas sadias foi maior do que nas regiões contendo o odor do tratamento (Fig. 4 c, Friedman ANOVA $\chi^2 = 6,11$, $df = 1$, $P = 0,01$).

Subsequentemente, quando possibilitado a chance de escolha entre odores da Planta Sadias, Planta Infestadas e Controle (1:1:2 braços respectivamente) não houve diferença na primeira escolha dos insetos (Fig. 5 a, teste multinomial, $N = 60$, $P = 0,44$). Entretanto, o número de entrada nos quadrantes do olfatômetro diferiu entre os tratamentos (Fig. 5 b, teste multinomial, $N = 60$, $P = 0,05$), apresentando número de entradas menor nas regiões contendo voláteis de plantas sadias (teste multinomial, $N = 60$, $P < 0,01$), mas não diferindo entre controle e plantas infestadas (teste multinomial, $N = 60$, $P = 0,81$). Complementarmente, os adultos de *B. tabaci* gastaram mais tempo nos quadrantes do controle, um tempo intermediário em plantas infestadas e menor tempo em plantas sadias (Fig.5 c, Friedman ANOVA $\chi^2 = 48,89$, $df = 2$, $P < 0,001$).

Figura 2 Primeira escolha de *Bemisia tabaci* entre Controle vs Planta Infestada e primeira escolha de *B. tabaci* entre Controle vs Planta Sadia.

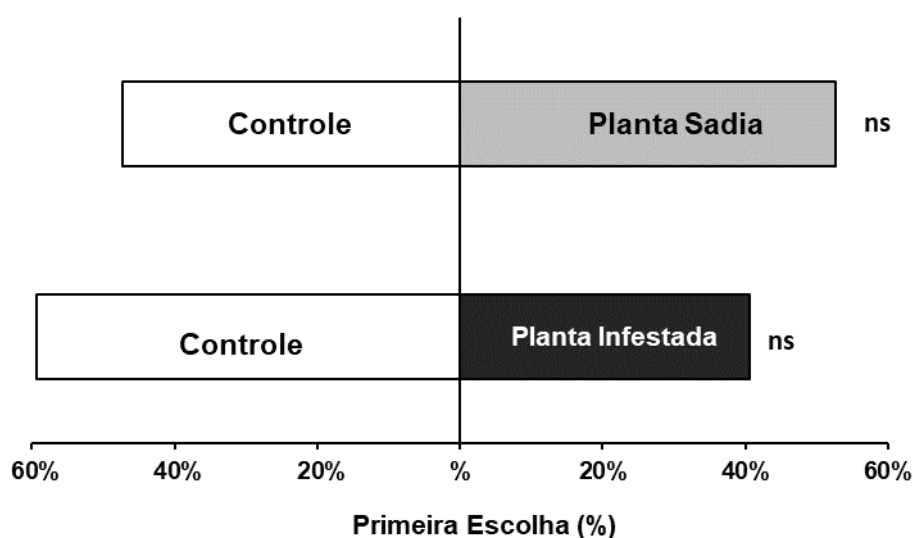


Figura 3 Número de entradas de *B. tabaci* em cada braços do olfatômetro entre Controle vs Planta Infestada e número de entradas de *B. tabaci* entre Controle vs Planta Sadia.

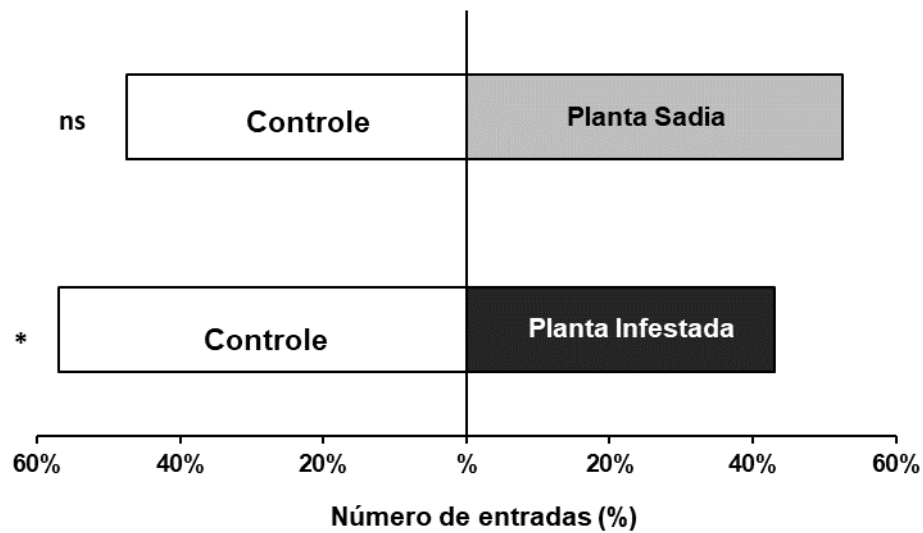


Figura 4 Tempo médio em que *Bemisia tabaci* permaneceu em cada braço do olfatômetro entre Controle vs Planta Infestada e tempo médio de *B. tabaci* entre Controle vs Planta Sadia.

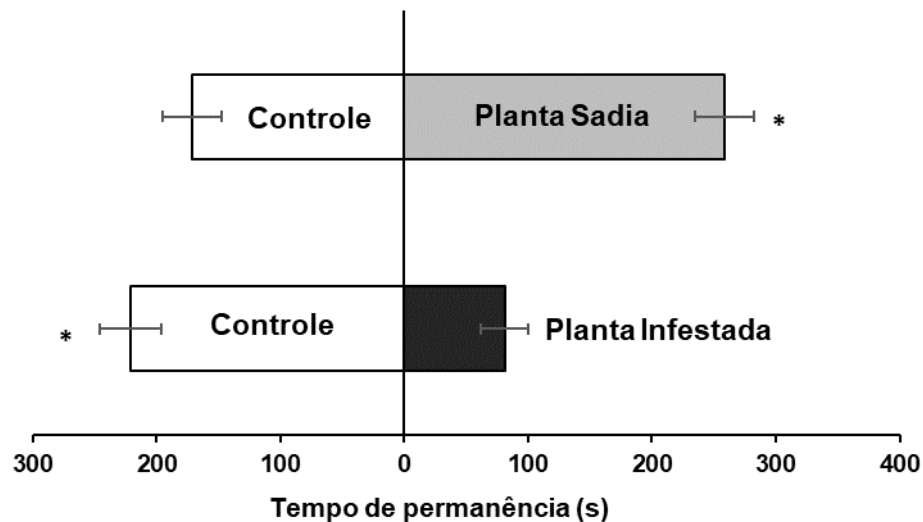
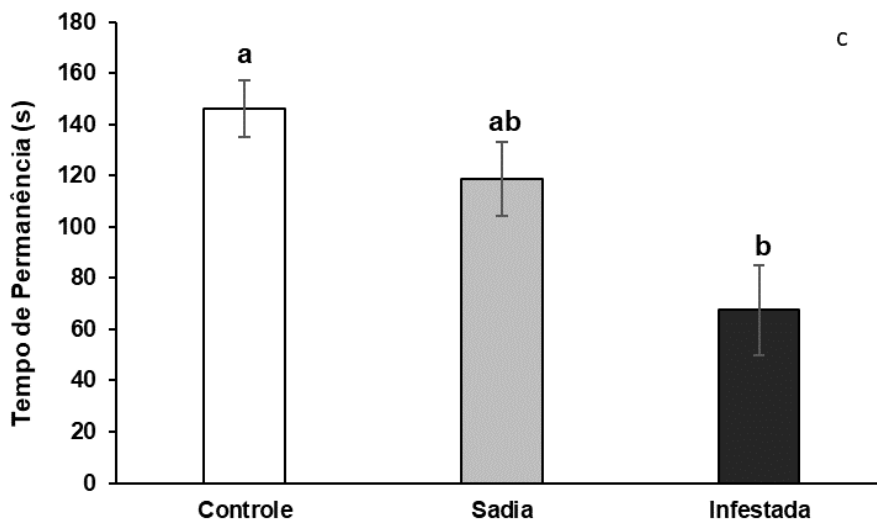
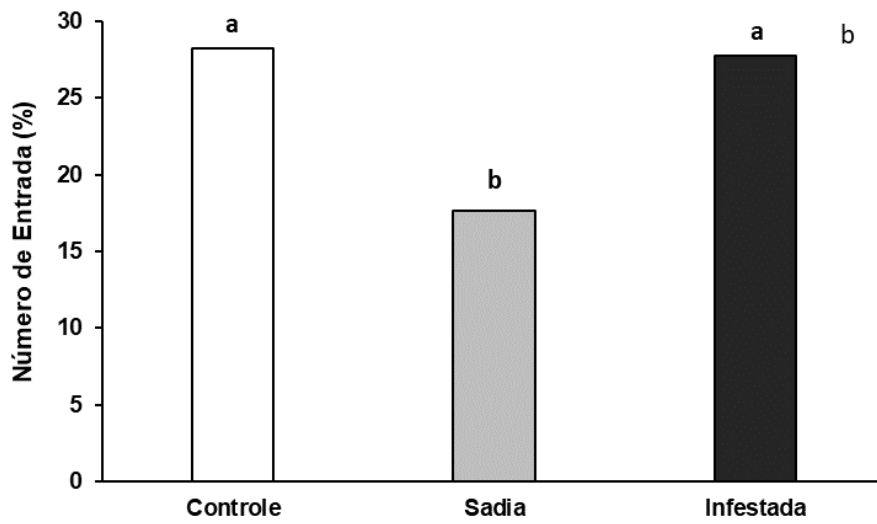
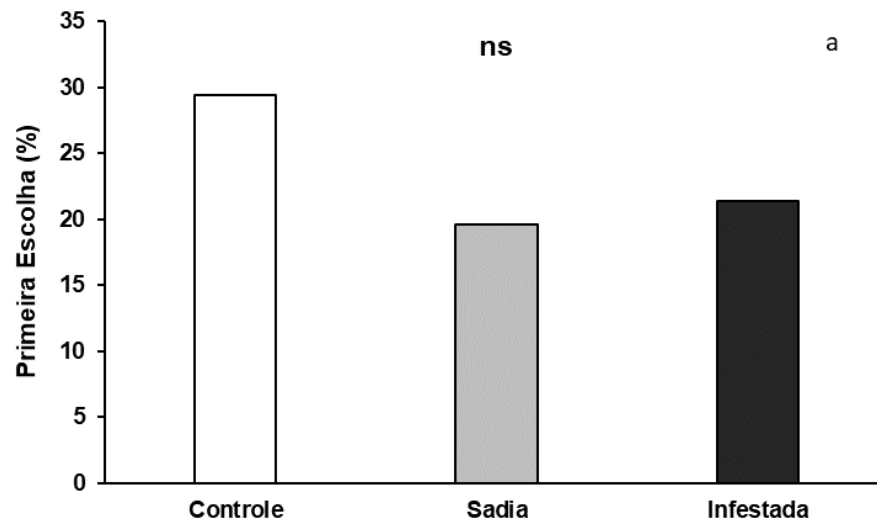


Figura 5 (a) Primeira escolha de *Bemisia tabaci* entre Planta Infestada vs Planta Sadia vs Controle, (b) Número de entradas de *B. tabaci* em cada braços do olfatômetro (c) Tempo médio que o inseto permaneceu em cada braço do olfatômetro.



5. Discussão

Nossos experimentos demonstraram um maior investimento de tempo por adultos de *B. tabaci* nas vias contendo ar limpo em relação as que continham odores da planta hospedeira induzida/não induzida, assim como maior número médio de entradas e primeira escolha. Tais resultados nos leva a crer que o estímulo químico não é o único envolvido na localização hospedeira de *B. tabaci*, visto que os mecanismos da seleção hospedeira de insetos que se alimentam de floema é variável (BIRKETT et al., 2003) (DU et al.1998; BIRKETT et al. 2003; GIRLING et al. 2006; BLANDE, PICKETT, POPPY 2007). Adicionalmente, para este inseto estímulos visuais também são de grande importância no direcionamento até a planta hospedeira (GERLING 1990; POWELL et. al., 2006), podendo assim, a exclusão deste estímulo ter afetado sua escolha.

A utilização somente dos odores da planta como fonte exclusiva de estímulo pode determinar maior tempo de exploração do olfatômetro pelo inseto, visto que pistas visuais dão a ideia de volume da planta, podendo ser determinantes para o encontro de um hospedeiro (LI, et al., 2012) para alimentação e/ou oviposição (BLEEKER, et al., 2009), o encontro de um bom hospedeiro é tarefa crucial para indivíduos como *B. tabaci*, uma vez que sua prole não possui movimentação na maior parte do período ninfal.

Estudos anteriores, demonstraram como *B. tabaci* faz a escolha de seu hospedeiro, já que é um inseto praga de mais de 700 espécies de plantas, Bird e Krüger (2006), constataram que quando *B. tabaci* foi exposta a vários potenciais hospedeiros, escolhe o melhor hospedeiro, mas não deixam de visitar e ovipositar em todos os hospedeiros. Se pensarmos de acordo com o modelo hierárquico-limiar de escolha do hospedeiro (COURTNEY et al., 1989), um inseto toma a decisão sobre a aceitação ou rejeição de uma planta hospedeira quando a encontra, para essa tomada de decisão uma combinação de fatores desempenha um papel, que juntos criam um limiar de aceitação.

As condições da planta que a mosca-branca prioriza quando encontra um hospedeiro para colonizar, foram relatados no trabalho de Chu et al. (2001) onde encontraram em plantas de algodão uma relação positiva entre densidade de tricomas foliares de cultivares e quantidade de insetos, porém a relação foi afetada pela idade das folhas ao longo dos nós ao longo do caule do cultivar; os autores citam ainda que estudos prévios demonstraram que outros fatores podem afetar a taxa de oviposição do *B. tabaci* biótipo B, incluindo a morfologia e a idade da folha relacionada com glândulas e a própria coloração da folha. Estes estímulos estão diretamente

associados a sentidos táteis e gustativos do inseto, que quando negligenciado pode influenciar diretamente na escolha do seu hospedeiro.

Outro ponto a ser discutido, é que algumas espécies de insetos, as fêmeas procuram o melhor local para oviposição e desenvolvimento da prole. Rothschild et al. 1977, apresentou dados onde fêmeas de *Pieris brassicae* foram muito seletivas na escolha da planta hospedeira, onde preferiu plantas sem ovos e sem outros insetos para realizar sua postura, essa escolha evita a concorrência inter-específica e a atração dos inimigos naturais.

Normalmente os insetos procuram hospedeiros de qualidade para depositar toda a sua carga de ovos, mas na falta de um bom hospedeiro eles dividem essa carga de ovos em vários hospedeiros. (MINKENBERG et al., 1992).

B. tabaci tende a selecionar o melhor hospedeiro o mais rápido possível e deposita toda ou a maior parte de sua carga de ovos naquela planta hospedeira, geralmente agrupados, durante a alimentação. Mas se encontram um hospedeiro de menor qualidade, elas fazem a postura inicial nessa planta para reduzir a carga de ovos antes procurando por um melhor hospedeiro. Bird e Krüger (2006) testando a preferência e a fecundidade de *B. tabaci* mostrou que oviposição em plantas hospedeiras de baixa qualidade, como o tomate, ocorre de forma mais dispersa, e a fecundidade é geralmente menor, devido ao fato de a fêmea morrer antes de depositar todos os seus ovos. Existem outros estudos que também podem comprovar que a taxa de fecundidade de *B. tabaci* é influenciada por espécies de plantas hospedeiras (LIU, et al, 1994) e cultivares (NAVON et al., 1991).

6.CONCLUSÃO

- *Bemisia tabaci* não apresentaram diferença estatística em todos os testes de escolha, quando testado os voláteis de plantas melão sadia e plantas melão infestadas pela própria inseto.
- Apesar de ter permanecido mais tempo nos quadrantes contendo a planta sadia, para insetos que se alimentam de floema, os voláteis não são as únicas fontes de atração que eles utilizam para encontrar o hospedeiro, usam de outros sentidos como visuais e gustatórios.
- Compreender o comportamento de busca do inseto pelo hospedeiro é de fundamental importancia para resultados promissores para seu controle, podendo sugerir tecnicas mais eficazes de adequadas para cada cultura.

7.Referências Bibliográficas

BECK, S.D. Resistance of plants to insects. **Annual Review of Entomology**, v.10, p. 207-232, 1965.

BIRD, T. L.; KRÜGER, K. Response of the polyphagous whitefly *Bemisia tabaci* B-biotype (Hemiptera: Aleyrodidae) to crop diversification – influence of multiple sensory stimuli on activity and fecundity. **Bulletin of Entomological Research**, v.96, p.15–23, 2006.

BIRKETT, M.A. et al. Volatiles from whitefly-infested plants elicit a host-locating response in the parasitoid, *Encarsia formosa*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 29, p.1589–1600, 2003.

BLANDE, J.D., PICKETT, J.A.; POPPY, G.M. (2007) A comparison of semiochemically mediated interactions involving specialist and generalist Brassica-feeding aphids and the braconid parasitoid *Diaeretiella rapae*. **Journal of Chemical Ecology**, 33, 767–779.

BLEEKER, P.M. et al. The role of specific tomato volatiles in tomato whitefly interaction. **Plant Physiology**, v.151, p. 925-935, 2009.

BROWN, J.K.; CZOSNEK, H. Whitefly transmission of plant viruses. **Advances in Botanical Research** v. 36, p.65–76, 2002.

BUTLFR. JR, G. D. Development of the banded-wing whitefly at different temperatures. **Journal of Economic Entomology**. v. 60, p.877-78, 1967.

CASTLE, S.J.; PALUMBO, J. C.; PRABHAKER, N.; HOROWITZ, A.R.; DENHOLM, I. Ecological Determinants of *Bemisia tabaci* Resistance to Insecticides P.A. Stansly, S.E. Naranjo (eds.), *Bemisia: Bionomics and Management of a Global Pest*, 423 p. 2010.

COOMBE, P. E. Visual behaviour of the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum*. **Physiological Entomology**. v.7, n.3, p. 243-51, 1982.

COSTA -LIMA, T. C.; MICHEREFF FILHO, M.; LIMA, M. F.; ALENCAR, J. A. Guia sobre Mosca-branca em Meloeiro: Monitoramento e Táticas de Controle. Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2016. 8p. (Embrapa Semi-Árido. Circular técnica 112). <
<https://www.embrapa.br/web/mobile/publicacoes/-/publicacao/1051412/guia-sobre-mosca-branca-em-meloeiro-monitoramento-e-taticas-de-controle>> Acesso em: set de 2016.

COURTNEY, S.P., CHEN, G.K.; GARDNER, A. A general model for individual host selection. **Oikos**, v. 55, n.1, p. 55–65, 2013.

Chu C.C., et al. Susceptibility of upland cotton cultivars to *Bemisia tabaci* biotype B (Homoptera: Aleyrodidae) in relation to leaf age and trichome density. **Annals of the Entomological Society of America** v. 94, p.743-749, 2001.

DOWELL, R. V. Host selection by the citrus blackfly *Aleurocanthus woglumi* (Homoptera: Aleyrodidae). **Entomologia Experimentalis Et Applicata**, v. 25, n.3, p.289-96, 1979.

DU, Y. et al. Identification of semiochemicals released during aphid feeding that attract parasitoid *Aphidius ervi*. **Journal of Chemical Ecology**, v.24, p.1355–1368, 1998.

GERLING, D. Whiteflies: Their Bionomics, **Pest Status and Management**. Intercept Ltd., Andover, UK. 1990.

GIRLING, R.D., HASSALL, M., TURNER, J.G.; POPPY, G.M. (2006) Behavioural responses of the aphid parasitoid *Diaeretiella rapae* to volatiles from *Arabidopsis thaliana* induced by *Myzus persicae*. **Entomologia Experimental et Applicata**, v.120, p.1–9, 2006.

Haji, F. N. P. Avanços no Manejo da Mosca-Branca *Bemisia tabaci*, biótipo B (Homoptera : Aleyrodidae). Petrolina, **PE: Embrapa Semiárido**.186 p., 2004.

HEQUET, E.; HENNEBERRY, T.J.; NICHOLS, R.L. Sticky cotton: causes, effects, and prevention. **United States Department of Agriculture**, n. 1915, p. 1-219, 2007.

JONES, D.R. Plant viruses transmitted by whiteflies. **European Journal of Plant Pathology** v.109, p.195- 219, 2003.

LI, S. J. et al. Efficiency of plant induced volatiles in attracting *Encarsia formosa* and *Serangium japonicum*, two dominant natural enemies of whitefly *Bemisia tabaci* in China. **Pest Management Science**, v.70, n.10, p. 1604–1610, 2014.

LI, X.X., W.D. LI; Y.B. LV. Effects of defense responses in tomato plants induced by *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) on behavioral responses of *Bemisia tabaci* B-biotype (Hemiptera: Aleyrodidae). **Acta Entomologica Sinica**, v.55, p.545-553, 2012.

LIU, T.X.; OETTING, R.D. Oviposition preference of *Bemisia tabaci* (Gennadius) on eight species of greenhouse grown plants. **Journal of Agricultural Entomology**, v. 11, p. 177–179, 1994.

MINKENBERG, O.P.J.M., TATAR, M.; ROSENHEIM, J.A. Egg load as a major source of variability in insect foraging and oviposition behavior. **Oikos**, v.65, p.134–142, 1992.

MOUND, L. A.; HELSEY, S. H. Whitefly of the world. A systematic catalogue of the Aleyrodidae (Homoptera) with host plant and natural enemy data. London:British Museum (Natural History); J. Wiley, 340 p. 1978.

NAVAS-CASTILLO, J.; FIALLO-OLIVÉ, E.; SÁNCHEZ-CAMPOS, E. Emerging virusdiseases transmitted by whiteflies. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto,US, v. 49, p. 219-248, 2011.

NAVON, A., MELAMED, M.V., ZUR, M.; BEN, M.E. Effects of cotton cultivars on feeding of *Heliothis armigera* and *Spodoptera littoralis* larvae and on oviposition of *Bemisia tabaci*. **Agriculture Ecosystems and Environment**, v.35, p.73–80, 1991.

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

ROTHSCHILD, M.; SCHOONHOVEN, L. Assessment of egg load by *Pieris brassicae* (Lepidoptera: Pieridae). **Nature**, v.266, n.5600, p. 352-355, 1977.

SUAREZ, L. et al. Biología Comparada de dos especies del género *Encarsia* (Hymenoptera: Aphelinidae), parasitoides de *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae). **Revista Facultad de Ciencias Basicas**, v.6, n.2 p. 152-161, 2010.

THORNSTEINSON, A.J. Host selection in phytophagous insects. **Annual Review of Entomology**, v.5, p.193-218, 1960.

VAISHAMPAYAN, S.M. et al. Spectral specific responses in the visual behaviour of the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 18, p.344-356, 1975a.

VAISHAMPAYAN, S.M., WALDBAUER, G.P.; KOGAN, M. Visual and olfactory responses in orientation to plants by the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.18, p. 412-422, 1975b.

VERSCHOOR-VAN DER POEL, P.J.G.; VAN LENTERN, J.C. Host-plant selection by the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Homoptera: Aleyrodidae). Proceedings of an International Symposium on Crop Protection Medische Faculteit Landbouwwetenschappelijke Rijks-universiteit Gent, p. 4312., 1978.

VET, L. E.M.; VAN LENTEREN, J.C.; HEYMANS, M.; MEELIS, E. An airflow olfactometer for measuring olfactory responses of hymenopterous parasitoids and other small insects. **Physiological Entomology**, v.8, p.97- 106, 1983.

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

CAPITULO II. Phloem-feeding herbivory on flowering melon plants enhances attraction of parasitoids by shifting floral to defensive volatiles

Artigo publicado da revista *Arthropod-Plant Interactions*, ISSN: 1872-8847



Phloem-feeding herbivory on flowering melon plants enhances attraction of parasitoids by shifting floral to defensive volatiles

T. A. Silveira¹ · P. A. Sanches² · L. C. F. Zazycki² · T. C. Costa-Lima³ · M. F. Cabezas-Guerrero^{2,4} · A. P. Favaris² · H. F. Goulart¹ · J. M. S. Bento² · A. E. G. Santana¹

Received: 5 March 2018 / Accepted: 26 June 2018
 © Springer Nature B.V. 2018

Abstract

Emission of herbivore-induced plant volatiles (HIPVs) can differ according to the type of herbivory and the plant development stage, ultimately affecting recruitment of the natural enemy. Little is known about plant defenses induced at the flowering stage by phloem-feeding insects. We investigated the olfactory preference of *Encarsia desantisi* parasitoids and the chemical profile of flowering melon plants induced or not by the phloem-feeding of *Bemisia tabaci* whiteflies. In addition, we tested whether the parasitoids were attracted to synthetic defensive HIPVs, which mimicked whitefly-infested flowering melons. The parasitoids recognized volatiles from undamaged melons but preferred the scent of host-infested melons in olfactometry assays. Amounts of most individual volatiles did not differ between plant treatments; however, only whitefly-induced melons released methyl salicylate and tetradecane, compounds known to attract parasitoids. Interestingly, grouping volatiles by chemical classes revealed that whitefly-infested melon released larger amounts of monoterpenes and smaller amounts of benzenoids than undamaged melons, which might underlying the parasitoid attraction and indicate a possible trade-off between defensive and reproductive defenses at the melon flowering stage. Additionally, *E. desantisi* preferred the mix of synthetic and defensive HIPVs over hexane (control), opening a new avenue for further investigations in using olfactory lures for *B. tabaci* biological control. This study is the first report of induced defenses in melon plants and their mediation in a tritrophic interaction, as well as the first record of *E. desantisi* behavioral preference for HIPVs.

Keywords Biological control · Tritrophic interaction · *Bemisia tabaci* · Herbivore-induced plant volatiles · *Encarsia* parasitoid

Handling Editor: Jarmo Holopainen.

Electronic supplementary material The online version of this article (<https://doi.org/10.1007/s11829-018-9625-x>) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ J. M. S. Bento
jmsbento@usp.br

¹ Agriculture Sciences Center, Federal University of Alagoas, Maceió, AL 57072-900, Brazil

² Department of Entomology and Acarology, University of São Paulo, “Luiz de Queiroz” College of Agriculture (ESALQ/USP), Av. Pádua Dias, 11, P.O. Box 9, Piracicaba, SP, Brazil

³ Brazilian Agricultural Research Corporation (Embrapa Semiárido), Highway BR-428 Km 152, Petrolina, PE, Brazil

⁴ Present Address: Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Facultad de Ciencias Agrarias, Campus “Ingeniero Manuel Agustín Haz Álvarez”, Av. Quito, km 1 1/2 vía a Santo Domingo de los Tsáchilas, Quevedo, Ecuador

Introduction

Herbivore-induced plant volatiles (HIPVs) are chemical cues that attract the herbivores’ natural enemies, thus indirectly aiding in plant defense (Turlings and Wäckers 2004; Kessler and Heil 2011). These plant emissions differ with feeding mode of herbivores, which affects the HIPV cues for natural enemies (Heil 2009; Bonaventure 2014). Extensive plant tissue damage triggers the octadecanoid pathway, which is orchestrated primarily by the phytohormone jasmonic acid (JA) (Koo and Howe 2009; Erb et al. 2012; Wasternack and Hause 2013). JA plays a central role in signal transduction of the HIPV emissions (Erb et al. 2012), thereby increasing the recruitment of natural enemies (Thaler et al. 2002; Bruinsma et al. 2009). Phloem-feeding insects, in contrast to chewing herbivores, do not injure plant tissues severely and consequently generally do not elicit JA defensive pathways. Rather, phloem sap-sucking insects activate salicylic-acid

(SA) signaling, in the shikimate pathway, and suppress JA-regulated defenses (Zarate et al. 2007; Zhang et al. 2013a), thus reducing emissions of JA-dependent volatiles (Zhang et al. 2013b). Therefore, parasitoids of phloem-feeding pests must use smaller amounts of HIPVs emitted in order to locate their host (Rodriguez-Saona et al. 2003; Walling 2008).

HIPVs might also differ among plant development stages of intact and herbivore-damaged plants (Lucas-Barbosa et al. 2011). Inducible indirect defenses are pronounced in plants at early stages, since their small leaves are especially susceptible to herbivory (Ohmmeiss and Baldwin 2000; McCall and Fordyce 2010). In contrast, mature and flowering plants must redirect energy from producing defensive compounds to producing reproductive tissues (Boege and Marquis 2005; Boege et al. 2007), in order to provide for pollinator recruitment and seed production (Kessler and Halitschke 2009; Lucas-Barbosa et al. 2011). As plants mature, this defense-reproduction trade-off reduces the emission of defensive HIPVs and thus the plant's attractiveness to herbivores' natural enemies (Pareja et al. 2012; Schiestl et al. 2014; Desurmont et al. 2015). Since floral volatiles are benzenoids derived from the shikimate pathway (Dudareva and Pichersky 2006; Vogt 2010), attack by a phloem-feeding insect at the plant flowering stage would likely impact the HIPV cues available to natural enemies (Pareja et al. 2012).

Chemical dispensers that release synthetic HIPVs may be an alternative way to facilitate the recruitment of natural enemies when plants are emitting only small amounts of HIPVs (Khan et al. 2008; Gurr and Kvedaras 2010; Kaplan 2012). James (2003a) demonstrated that lures that released plant defensive HIPV compounds, such as green-leaf volatiles and methyl salicylate, were effective in recruiting natural enemies and helped to reduce insect-pest populations. However, most studies that have identified and tested the attractiveness of HIPVs to natural enemies have focused on predators or parasitoids of chewing insects that attack plants at the vegetative stages (James 2003b; Mallinger et al. 2011; Kelly et al. 2014; Jones et al. 2015). Only a few of these studies have examined how plants attract natural enemies of a phloem-feeding pest (James and Grasswitz 2005), especially crop plants in the reproductive phase (Yu et al. 2008; Mallinger et al. 2011).

Here, we investigated the olfactory response of the parasitic wasp *Encarsia desantisi* Viggiani (Hymenoptera: Aphelinidae) to herbivory by the whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) in flowering melon plants. We also assessed the parasitoid's preference for synthetic and defensive HIPVs, in order to evaluate the feasibility of volatile lures for recruitment of *E. desantisi*. The whitefly *B. tabaci* is one of the most important phloem-feeding insects and causes extensive crop damage worldwide (Stansly and Naranjo 2010; Li

et al. 2011). Wasps of the genus *Encarsia* are thelytokous solitary endoparasitoids of whitefly nymphs (Hoddle et al. 1998; Liu et al. 2015) and have been used successfully to control *B. tabaci* populations in greenhouses (Arnó et al. 2009; Liu et al. 2015). To date, only a handful of studies have addressed features of *E. desantisi*, and the searching behavior of this wasp is largely unknown in spite of its wide distribution in South American crops, specifically using *B. tabaci* as the host (Heraty et al. 2008). We conducted olfactometer assays with *E. desantisi*, using sources of natural and synthetic odors, and we collected volatiles from undamaged and whitefly-infested melon plants at the flowering stage, in order to answer the following questions: (i) is the parasitoid *E. desantisi* attracted to host-induced volatiles in flowering melons during its host-searching behavior? (ii) does *B. tabaci* induce volatile-related defenses in flowering melon plants? (iii) is *E. desantisi* attracted to blends of synthetic defensive HIPVs that are similar to the volatile blend from host-infested plants? This study is the first investigation of the searching behavior of *E. desantisi*. This is also the first report of melon-plant defenses and the role of melon HIPVs in tritrophic interactions, contributing to the understanding of plant defense-reproduction trade-off strategies.

Materials and methods

Plants and insects

Melon plants (*Cucumis melo*, type Yellow, variety Mandacaru) were grown in plastic pots (2 L) with the organic substrate Basaplant® and fertilized with Osmocote® (10 N:10 P:10 K). The plants were kept in a sealed, insect-free greenhouse under natural conditions of light, temperature and humidity (18–35 °C, RH 40 ± 10%) until the beginning of flowering (45 days old) and were then used in the experiments. The whitefly *Bemisia tabaci* was reared on 40- to 55-day-old melon plants. The parasitic wasps *E. desantisi* were collected in melon fields in Piracicaba, São Paulo, Brazil (22°52'33"S, 047°38'30"W). Parasitoids were identified by the Biological Institute of Campinas and voucher specimens were deposited in the "Oscar Monte" Insect Collection (Campinas, São Paulo). *Encarsia desantisi* were reared on melon plants infested with third- to fourth-instar nymphs of *B. tabaci*. All insects were reared in greenhouses under natural abiotic conditions (18–34 °C, RH 40 ± 10%). The experiments were conducted from July to December 2016, in Piracicaba, in the laboratory under controlled conditions (23 ± 2 °C, 50 ± 10% RH) and using supplemental light for plants (Philips Green Power tubular LED, 12L:12D, 120 μmol m⁻² s⁻¹, 400–700 nm).

Plant treatments

Plant treatments consisted of undamaged and *B. tabaci*-infested melon plants. In order to use infested plants under conditions similar to those in the field, the plants used in the experiments bore mixed stages of *B. tabaci* (i.e., eggs, nymphs, and adults). We released 20 adult whiteflies (5-day-old females and males in equal proportions) into a cage (60×30×40 cm) containing a 45-day-old melon plant. These plants, induced by the adults, were used after 15 days, when they bore the adults plus approximately 300 eggs and 650 third- to fourth-instar nymphs. The undamaged plants were from the same batch as the infested ones, however without *B. tabaci*. Therefore, the plants used in all experiments were 60 days old.

Olfactometer assays with melon plants

We assessed the olfactory preference of *E. desantisii* for undamaged and *B. tabaci*-infested melon plants, using a four-arm olfactometer (14×14×2 cm). Newly emerged *E. desantisii* females were placed in individual test tubes, fed with honey for 24 h, and then used in the olfactometer assay. The olfactometer was attached to an ARS Volatile Collection System (ARS, Gainesville, FL, USA). Filtered and humidified air was pumped through PTFE (polytetrafluoroethylene) tubes into sealed cylindrical glass chambers (43 cm high and 18 cm diameter) that contained the plants as odor sources, and then into the side arms of the olfactometer. The air flow was adjusted to 0.1 L min⁻¹ arm⁻¹. The assays were conducted during the daytime, from 09:00 to 12:00 h and 14:00 to 16:00 h, when the parasitoids were most active. The olfactometer was positioned horizontally and was rotated 90° in each replicate to prevent side bias. A single naïve female was released in the center of the olfactometer. We observed the olfactory behavior of each parasitoid wasp for 10 min. During this period, we recorded the first choice (the first olfactometer quadrant entered by the wasp), the number of entries into each quadrant, and the wasp's residence time in each quadrant. The central quadrant was considered as insect no-choice. Each replicate consisted of the olfactory behavior of a single female. In each assay, the treatments were arranged randomly in the quadrants. We evaluated the preference of *E. desantisii* exposed to the following combinations: (i) blank vs. undamaged melon at a quadrant ratio of 3:1 (3 blanks and 1 quadrant with an undamaged melon plant); (ii) blank vs. infested melon plant at a quadrant ratio of 3:1, respectively; and (iii) blank vs. undamaged vs. infested melon plant at a quadrant ratio of 2:1:1, respectively. We conducted a total of 50 trials, divided into three blocks, each block containing all treatment combinations.

Plant volatile collection and analysis

Undamaged and infested melon plants were sealed in individual polyester (PET) bags (8 L). The upper right end of the bag was connected to the ARS system described above, pumping in filtered and humidified air at 0.2 L min⁻¹; the upper left end was coupled to a vacuum pump attached to filters with the adsorbent polymer Haysep® (30 mg, 80/100 mesh, Alltech Assoc.), which pulled air through the bag at a rate of 0.1 L min⁻¹. We collected volatiles from six plants of each treatment for 24 h, using a photoperiod of 12L:12D. The polymer filters were washed with 150 µL of hexane and the extracts were placed in sealed glass vials, which were stored in a freezer at -30 °C until analysis. We added 5 µL of a 50 ng µL⁻¹ nonyl acetate solution as internal standard to each sample. Samples were analyzed in an Shimadzu 2010 gas chromatograph (GC) equipped with a flame ionization detector (FID) and using an HP-1MS column (30 m×0.25 mm ID, 0.25 µm film thickness; Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). Two microliters of each sample was injected into a splitless injector, with helium as carrier gas. Oven temperature was maintained at 40 °C for 5 min, then increased at 5° C min⁻¹–150 °C, held for 1 min, then increased at 10° C min⁻¹–250 °C and held for 20 min. Each compound was quantified based on the compound peak area relative to nonyl acetate in the GC-FID. In order to characterize the compounds, samples were injected into a Shimadzu QP 2010 Ultra gas chromatograph coupled with a quadrupole mass spectrometer (GC-MS Quadrupole), adopting the same settings used for the GC-FID. Compounds were identified by calculating the Kovats index as well as comparing their mass spectra to the NIST 08 Mass Spectral Library (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) and, when available, to those of the synthetic standards.

Olfactometer assays with synthetic compounds

We tested the attraction of *E. desantisii* to synthetic monoterpenes and alkane volatiles corresponding to those that were predominantly released by *B. tabaci*-infested melon plants, using a four-arm olfactometer, following the same method described above. A blend of synthetic compounds (all from Sigma-Aldrich, purity > 95%) was prepared using 1 mL of hexane as solvent and each compound released by the plants, in the following concentrations: α-pinene (30 ng mL⁻¹), β-pinene (30 ng mL⁻¹), β-myrcene (30 ng mL⁻¹), β-ocimene (30 ng mL⁻¹), methyl salicylate (10 ng mL⁻¹), and tetradecane (20 ng mL⁻¹). For each trial, a wad of dental cotton was impregnated with 10 µL of the synthetic-compound blend or with only hexane (control), left to evaporate for 10 min, and then inserted into one of the olfactometer side-arm connectors. The treatments were arranged randomly in the quarters, at a treatment:quadrant ratio of 2:2. Each replicate consisted

of observing the olfactory preference of a single female, for a total of 30 trials divided into two blocks.

Statistical analyses

In the olfactometer assays, arms containing the same treatment were grouped and their hypothetical probabilities of occurrence were combined. The parasitoids' first choice and the proportion of parasitoids entering the arms with odors were analyzed by binomial test when comparing two treatments (blank vs. undamaged or blank vs. infested plants) and by multinomial test when comparing three treatments (blank vs. undamaged vs. infested plants) with the null hypothesis H_0 that each olfactometer arm has an equal probability of being chosen. The wasps' residence time in the olfactometer quarters was assessed by Friedman's two-way test, considering odor treatments as factors. A significant Friedman's test was followed by a Wilcoxon's test with Bonferroni's correction for multiple comparisons. Quantifications of the individual melon compounds, volatiles grouped by chemical class, and total emissions were evaluated with the non-parametric Wilcoxon signed-rank test. Additionally, the plant volatiles combined by chemical class were submitted to a Principal Components Analysis (PCA) based on Pearson's correlations, to account for relationships among compound groups. All data analyses from plant volatiles were evaluated in Minitab® Release 14 (Minitab Inc., State College, PA, USA). The insect bioassay data were evaluated in the statistical software "R" version 3.1.2 (<http://www.r-project.org>). We used the significance levels of 5 and 1% in all statistical analyses.

Results

Olfactometer assays with melon plants

The wasps' first choice (Fig. 1a, binomial test, $N=50$, $P=0.26$) and time spent (Fig. 1c, Friedman $\chi^2=0$, $df=1$, $P=1$) did not differ in the odor quadrants of blank compared to undamaged melon plants. However, the proportion of wasps entering an olfactometer quarter was higher in arms with undamaged melons than in blank arms (Fig. 1b, binomial test, $N=78$, $P=0.03$).

Females of *E. desantisi* preferred volatile compounds from host-infested melon plants instead of blanks, in their first choice (Fig. 1a, binomial test, $N=50$, $P=0.02$). In addition, the proportion of wasps entering (Fig. 1b, binomial test, $N=133$, $P<0.001$) and the time spent (Fig. 1c, Friedman $\chi^2=21.10$, $df=3$, $P<0.001$) in arms with the odor from host-infested melon plants were higher than in blank olfactometer arms.

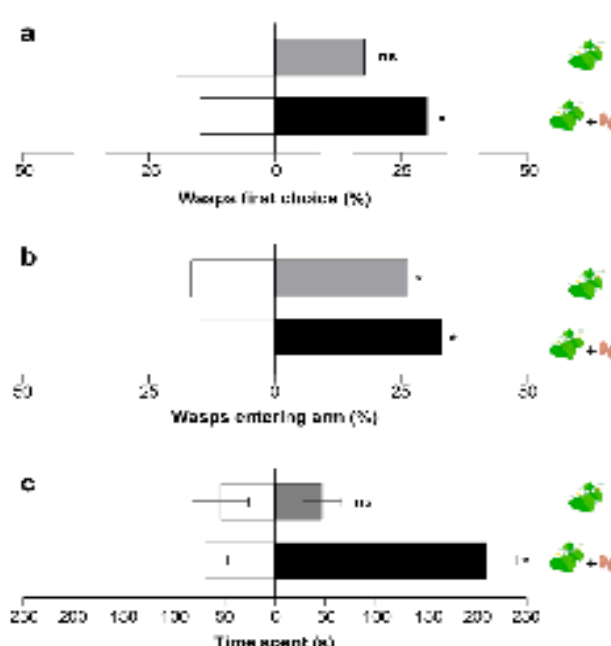


Fig. 1 Preference of the parasitic wasp *Encarsia desantisi* for blank and flowering-melon volatiles in the four-arm olfactometry assay. Parasitoids' first choice (a), entering arm frequency (b) and time spent (mean $\pm$ SE) (c) in olfactometer quadrants with blank (white bars), volatiles from undamaged melon (gray bars) or from host-infested melon plants (black bars). *Designates significant difference at 5% according to binomial test (a, b) or according to Friedman's two-way test followed by Wilcoxon's test with Bonferroni's correction for multiple comparisons (c); ns no significant difference

When *E. desantisi* was exposed to blank, undamaged and infested plants scents at the same time, the wasps' first choice did not differ among treatments (Fig. 2a, multinomial test, $N=50$, $P>0.14$). Nonetheless, wasp entrance (Fig. 2b, multinomial test, $N=132$, $P<0.01$) and time spent (Fig. 2c, Friedman $\chi^2=10.34$, $df=3$, $P=0.01$) in host-infested-odor olfactometer quarters were higher than in blank and undamaged-melon odor quadrants, while the response to undamaged melons did not differ from blank arms ($P>0.56$).

Melon plant volatiles

We identified 12 volatile compounds in samples collected over 24 h from undamaged and host-infested melon plants (Table 1, Online Resource 1). There was no difference in the total amount of volatiles released by the treatments (Fig. 3a, Wilcoxon signed-rank test, $W=12$, $P=0.39$). Considering individual volatiles, the emissions of all compounds did not differ significantly between treatments (Table 1, Wilcoxon signed-rank test, $W>8$, $P>0.13$), except for methyl salicylate and tetradecane, which were released only by

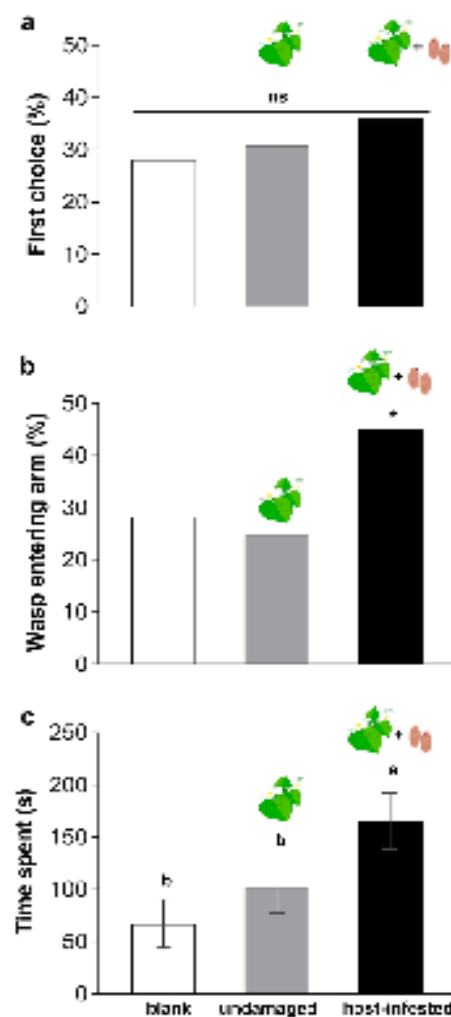


Fig. 2 Preference of the parasitic wasp *Encarsia desantisi* for different flowering-melon volatiles in the four-arm olfactometry assay. Parasitoids' first choice (a), entering arm frequency (b) and time spent (mean $\pm$ SE) (c) in olfactometer quadrants with blank (white bars), volatiles from undamaged melon plants (gray bars) or from host-infested melon plants (black bars). *Designates significant difference at 5% according to multinomial test; ns no significant difference; same letters do not differ according to Friedman two-way test followed by Wilcoxon's test with Bonferroni's correction for multiple comparisons

host-infested plants (Table 1, Wilcoxon signed-rank test, $W = 3$, $P < 0.01$).

There were noticeable differences in the emission of individual compounds between the treatments, in spite of a wide variability in emissions. Therefore, when compounds were grouped in chemical classes, the volatile emissions by undamaged and host-infested melon plants did differ quantitatively (Fig. 3b). Host-damaged melon plants released larger amounts of monoterpenes (Fig. 3b, Wilcoxon

signed-rank test, $W = 2$, $P = 0.03$) and alkane (Fig. 3b, Wilcoxon signed-rank test, $W = 3$, $P > 0.04$), while undamaged plants emitted larger amounts of benzenoids (Fig. 3b, Wilcoxon signed-rank test, $W = 0$, $P < 0.01$).

Analyses of the volatile composition using PCA for compounds grouped in chemical classes showed that the first component, which comprised 46% of the variance, separated host-infested from undamaged melon plants (Fig. 4). This was correlated with the abundance of monoterpenes and alkane, in contrast to benzenoids (Fig. 4).

Olfactometer assays with synthetic compounds

The parasitoid wasps first chose odors from the blend with synthetic compounds, compared to hexane (Fig. 5a, multinomial test, $N = 30$, $P < 0.001$). Furthermore, the wasps spent more time in olfactometer quadrants that contained synthetic volatiles than in quadrants that contained the hexane solvent alone (Fig. 5b, Friedman $\chi^2 = 4.80$, $df = 1$, $P = 0.02$).

Discussion

Our data showed that *E. desantisi* discriminates melon volatiles from flowering plants, and that the parasitoid attraction is dependent on host-derived cues, similarly to other species of *Encarsia* (Guerrieri 1997; Birkett et al. 2003; Li et al. 2014). Although the wasps did not spend more time in or first choose olfactometer arms containing odors from undamaged melon plants over blank arms, the entering frequency was higher in the plant-scent quarter, which suggests that *E. desantisi* recognizes volatiles from intact melons. Several other species of parasitic wasps do not display a strong attraction toward undamaged plants (Blassioli Moraes et al. 2005; Tamiru et al. 2011), since reliable information from host location at long distances is generally obtained from wound-induced plants (Bruce et al. 2005; Bruce 2014). Therefore, we then tested the preference of females for blanks over host-infested melon plants. For all parameters evaluated, the parasitic wasps oriented toward the host-damaged plants, indicating that whitefly-related cues are essential to attract *E. desantisi* during its host-searching behavior.

Parasitoids must discriminate among many sources of odors while searching for suitable hosts (Aartsma et al. 2017). We evaluated *E. desantisi* preferences for blank arms and for volatiles from undamaged and host-infested flowering melon plants. The females oriented equally to all scents at first but entered olfactometer arms with whitefly-induced plants more often and spent more time there. Other *Encarsia* species, such as *E. formosa*, engage in random searches in order to find their host (Roermund and Van Lenteren 1995a; Van Lenteren et al. 1996; Sütterlin and Van Lenteren 2000). Once an *Encarsia* wasp encounters host-associated cues, the

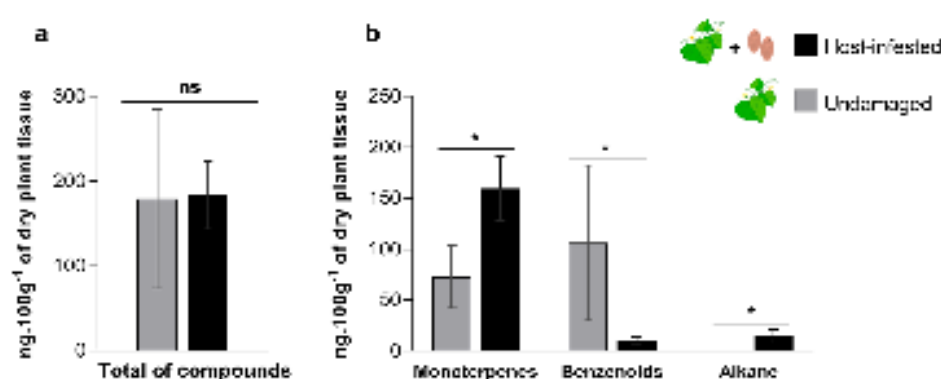
Table 1 Volatiles compounds emitted by undamaged and host-infested flowering melons

Compound	Retention time (min)	Calculated Kovats Index	ng 100 g ⁻¹ of dry plant tissue		P value ^a
			Undamaged	Host-infested	
Monoterpenes					
α -Pinene	12.994	932.20	39.11 $\pm$ 19.21	54.72 $\pm$ 24.52	0.588
Sabinene	13.956	967.47	6.96 $\pm$ 3.75	14.72 $\pm$ 5.54	0.240
β -Pinene	14.081	972.06	5.84 $\pm$ 2.42	36.02 $\pm$ 22.83	0.240
β -Myrcene	14.576	990.21	1.97 $\pm$ 1.08	39.94 $\pm$ 22.01	0.294
Ocimene	15.828	1040.27	8.17 $\pm$ 6.00	14.16 $\pm$ 6.31	0.132
α -Terpineol	19.000	1176.76	11.13 $\pm$ 6.47	8.63 $\pm$ 5.28	0.071
Benzenoids					
3-Phenyl-1-propanal	16.966	1130.37	2.07 $\pm$ 1.10	2.69 $\pm$ 2.69	0.245
Methyl salicylate	17.547	1174.38	0.00 $\pm$ 0.00	4.55 $\pm$ 3.12	0.009
3-Phenyl-propanol	19.628	1204.27	33.52 $\pm$ 22.74	1.01 $\pm$ 1.01	0.129
Cinnamaldehyde	20.301	1237.99	23.77 $\pm$ 16.19	0.51 $\pm$ 0.51	0.182
Cinnamyl alcohol	21.121	1277.78	46.61 $\pm$ 36.26	0.85 $\pm$ 0.85	0.462
Alkane					
Tetradecane	24.009	1427.79	0.00 $\pm$ 0.00	14.17 $\pm$ 6.70	0.009

Relative amounts (mean $\pm$ SE) were estimated based on internal standard

^aHighlighted P value ($P < 0.05$) indicates significant differences between treatments according to Wilcoxon signed rank test

Fig. 3 Composition of melon volatiles released by undamaged and host-infested melon plants. Total amount of volatiles emitted (mean $\pm$ SE) (a) and compounds released according to volatile chemical classes (mean $\pm$ SE) (b). *Designates significant difference at 5% according to Wilcoxon signed-rank test; ns no significant difference



parasitoid orients its walking and flying toward host-related patches (Guerrieri 1997; Sütterlin and Van Lenteren 2000; Zilahi-Balogh et al. 2009), consequently entering areas containing these sources of odors more often (Guerrieri 1997; Birkett et al. 2003), as well as spending more time tracking volatiles from infested plants (Roermund and Van Lenteren 1995b; De Vis et al. 2003; Zilahi-Balogh et al. 2009).

We analyzed the volatiles emitted by undamaged and whitefly-infested flowering melon plants in order to determine the compounds that are responsible for attracting *E. desantisii*. Under both treatments, the plants released individual volatiles in similar amounts, except for methyl salicylate (MeSA) and tetradecane, which were emitted exclusively by host-induced plants. MeSA is a volatile derived from the salicylic-acid pathway (Erb et al. 2012), and is a defensive hormone triggered by feeding

of the whitefly *B. tabaci* (Walling 2008). MeSA is widely employed by predators and parasitoids during host-finding behavior (Zhu and Park 2005; Mallinger et al. 2011), and the use of synthetic lures containing this compound has proved to be efficient in monitoring and recruiting natural enemies in several fruit crops (James 2003b; James and Price 2004; Rodriguez-Saona et al. 2011). Conversely, the alkane tetradecane found in whitefly-infested plants might be derived from the plant, the whiteflies, or both. In some species, tetradecane occurs in volatile blends from both undamaged and host-infested plants in some species (Liu et al. 2009), although after early wound induction it can be emitted at higher rates by insect-damaged plants (Lou et al. 2005). Tetradecane may also be a kairomone cue for natural enemies, since the feces of some insect species contain this alkane (Steidle et al. 2003) and result in

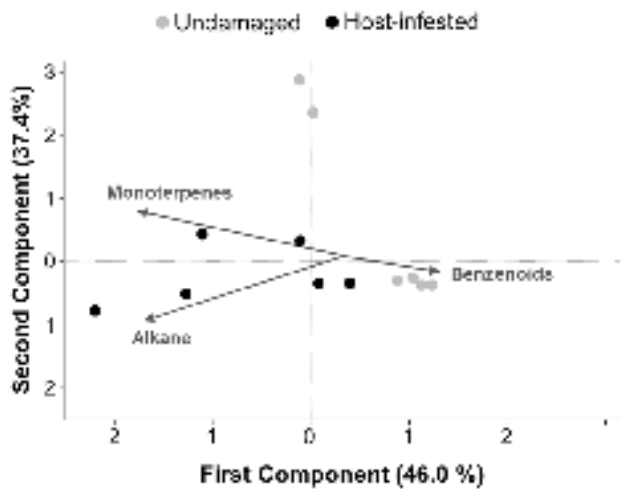


Fig. 4 Loading plots for principal components analysis (PCA) with plant-volatile chemical classes as variables. PCA of composition of volatiles emitted by undamaged and host-infested melon plants according to compound chemical classes

an intense olfactory activity of egg parasitoids (Morawo et al. 2016).

Similarly, to most of the individual compounds, the total volatiles released by undamaged and host-infested flowering melons did not differ statistically. Unlike tissue-damaging herbivores, phloem-feeders stimulate the emission of smaller quantities of volatiles compared to intact plants, and at times no changes may be detectable (Du et al. 1998; Turlings et al. 1998; Rodriguez-Saona et al. 2003; Silva et al. 2017), due to the minimal leaf injury inflicted and to salivary effectors that prevent the synthesis of volatiles (Walling 2008). Although Desurmont et al. (2015) showed that herbivory induces much smaller amounts of leaf volatiles in flowering than in vegetative plant stages, parasitic wasps are still able to recognize nuances of plant-blend composition in order to effectively locate their host (Bruce et al. 2005).

We therefore grouped plant volatiles in chemical classes, in order to investigate potential qualitative differences between undamaged and whitefly-infested flowering-melon volatiles that mediate the preference of *E. desantisi*. The alkane class consisted only of tetradecane, which was emitted only in whitefly-induced melons. Interestingly, whitefly feeding reduced benzenoid emissions at the same time that it increased the release of monoterpenes. In consequence, the high levels of terpenoids might underlie the preference of *E. desantisi* parasitoids for host-infested plants, as they do for most natural enemies (Degenhardt et al. 2003; Kappers et al. 2005).

Since several benzenoids are flowering-related volatiles (Dudareva et al. 2004; Vogt 2010) and monoterpenes are mostly defense-related volatiles (Dudareva et al. 2013), we speculate whether the phloem-feeding of whiteflies would cause a trade-off between reproduction and defense in flowering melon plants. Volatile shifting may be the primary paradigm in plant biology, which is the allocation of resources, since energy devoted to defense is unavailable for reproduction and vice versa (Herms and Mattson 1992; Lucas-Barbosa et al. 2011; Lucas-Barbosa 2016). Few studies have described defense and reproduction trade-off mechanisms induced by phloem-feeding insects in flowering plants, their effects on third-trophic-level interactions (Hare 2010; Lucas-Barbosa et al. 2011; Lucas-Barbosa 2016). The reproductive effect of whitefly feeding on melon plants is beyond the scope of this study, but our analyses of volatiles grouped by chemical classes could indicate that intense feeding of *B. tabaci* nymphs, which reduces the plant phloem content (Stansly and Naranjo 2010), also reduced the flower compounds and simultaneously increased the defenses that make a plant highly attractive to parasitoids. Further investigations are required to clarify the defenses strategies of melon plants throughout their ontogeny, which would include comparisons of the emission of volatiles compounds in all vegetative and reproductive stages, before and after *B. tabaci* attack.

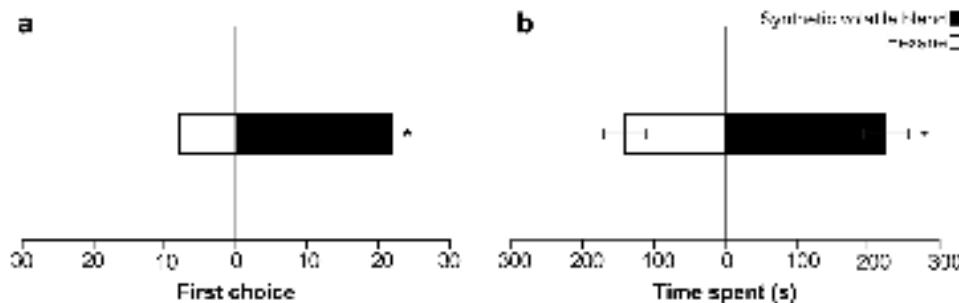


Fig. 5 Preference of the parasitic wasp *Encarsia desantisi* for blends of synthetic volatiles and hexane in four-arm olfactometry assay. Parasitoids' first choice (a) and time spent (mean $\pm$ SE) (b) in olfactometer quadrants with hexane or synthetic volatiles mimicking host-

infested plant. *Designates significant difference at 5% according to binomial test for first choice or Friedman two-way test followed by Wilcoxon's test with Bonferroni's correction for multiple comparisons

Based on the preference of *E. desantisi*, we selected the most quantitatively important terpenes and alkane, in order to mimic the defensive compounds of host-infested flowering melon plants that attracted the parasitoids. We produced a mix of synthetic compounds comprised the monoterpenes α -pinene, β -pinene, β -myrcene, and β -ocimene, the benzenoid MeSa, and the alkane tetradecane. The wasps first chose and spent more time in the mix of volatiles than in the hexane-solvent odor areas, indicating a strong preference for the mimic scent. Previous studies have shown that hymenopterous parasitoids are attracted by a wide range of synthetic volatiles, both in laboratory assays (Birkett et al. 2003; Lou et al. 2005; Bruinsma et al. 2009; Li et al. 2014) and as field lures (James 2003a, b; James and Grasswitz 2005). Since specialist parasitoids are more discriminatory in exploiting HIPVs than are generalist parasitoids (McCormick et al. 2012), the adoption of synthetic lures that best mimic the complex volatile blend of host-infested plants is more likely to efficiently recruit parasitic wasps. Furthermore, specialist parasitoids extensively employ plant volatiles as valuable cues to locate hosts at a suitable stage of development for parasitism (Takabayashi et al. 1995; Yoneya et al. 2009). Thus, lures that release volatiles closely associated with specific host damage at the ideal stage of development for parasitism, such as our synthetic blend tested on *E. desantisi* in flowering melon plants, would be even more effective in recruiting and monitoring natural enemies, helping in biological-control strategies (Kaplan 2012).

In summary, we found that the whitefly *B. tabaci* induces the emission of different volatile blends in infested compared to undamaged flowering melon plants. Although the amount of volatiles and the majority of individual compounds did not differ between the two plant treatments, only the host-infested melons released MeSa and tetradecane, compounds known to attract natural enemies. In addition, whitefly-infested flowering melon plants displayed a trade-off between defensive and reproductive volatiles, emitting high amounts of monoterpenes and alkane and reducing the release of benzenoids. The parasitoid *E. desantisi* recognized volatiles from undamaged flowering melons; however, these wasps strongly preferred the odor of infested flowering plants. Additionally, the wasps were attracted to the mix of synthetic defensive volatiles that mimicked whitefly-infested flowering melons, opening a new avenue for further investigations on the use of olfactory lures in the biological control of *B. tabaci*. To the best of our knowledge, this is the first report of induced defenses in melon plants and melon volatiles mediating a tritrophic interaction. This is also the first study to evaluate the use of plant volatiles by *E. desantisi* parasitoids during their host-searching behavior.

Acknowledgements The authors acknowledge financial support from the National Institute of Science and Technology (INCT)

Semiochemicals in Agriculture (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico—CNPq, Process 465511/2014-7, and the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo—FAPESP, Process 2014/50871-0). TAS was funded by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and PAS by FAPESP, (Process 2017/18226-6).

Compliance with ethical standards

Conflict of Interest All the authors confirm that they have no financial or other involvement in activities or organizations that might bias the work reported here.

References

- Aartsma Y, Bianchi FJ, Werf W, Poelman EH, Dicke M (2017) Herbivore-induced plant volatiles and tritrophic interactions across spatial scales. *New Phytol* 216:1054–1063. <https://doi.org/10.1111/nph.14475>
- Arnó J, Gabarra R, Liu T-X, Simmons AM, Gerling D (2009) Natural enemies of *Bemisia tabaci*: predators and parasitoids. In: Stansly PA, Naranjo SE (eds) *Bemisia*: bionomics and management of a global pest. Springer, Netherlands, pp 385–421
- Birkett M, Chamberlain K, Guerrieri E, Pickett J, Wadhams L, Yasuda T (2003) Volatiles from whitefly-infested plants elicit a host-locating response in the parasitoid, *Encarsia formosa*. *J Chem Ecol* 29:1589–1600. <https://doi.org/10.1023/A:102421872>
- Blassioli Moraes MC, Laumann R, Sujii ER, Pires C, Borges M (2005) Induced volatiles in soybean and pigeon pea plants artificially infested with the neotropical brown stink bug, *Euschistus heros*, and their effect on the egg parasitoid, *Telenomus podisi*. *Entomol Exp Appl* 115:227–237. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2005.00290.x>
- Boege K, Marquis RJ (2005) Facing herbivory as you grow up: the ontogeny of resistance in plants. *Trends Ecol Evo* 20:441–448. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2005.05.001>
- Boege K, Dirzo R, Siemens D, Brown P (2007) Ontogenetic switches from plant resistance to tolerance: minimizing costs with age? *Ecol Lett* 10:177–187. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2006.01012.x>
- Bonaventure G (2014) Plants recognize herbivorous insects by complex signalling networks. *Annu Plants Rev* 47:1–35. <https://doi.org/10.1002/9781118829783.ch1>
- Bruce TJ (2014) Interplay between insects and plants: dynamic and complex interactions that have coevolved over millions of years but act in milliseconds. *J Exp Bot* 66:455–465. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru391>
- Bruce TJ, Wadhams LJ, Woodcock CM (2005) Insect host location: a volatile situation. *Trends Plant Sci* 10:269–274. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2005.04.003>
- Bruinsma M, Posthumus MA, Mumm R, Mueller MJ, Van Loon JJ, Dicke M (2009) Jasmonic acid-induced volatiles of *Brassica oleracea* attract parasitoids: effects of time and dose, and comparison with induction by herbivores. *J Exp Bot* 60:2575–2587. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp101>
- De Vis RM, Mendez H, Van Lenteren JC (2003) Comparison of foraging behavior, interspecific host discrimination, and competition of *Encarsia formosa* and *Amitus fuscipennis*. *J Insect Behav* 16:117–152. <https://doi.org/10.1023/A:1022805529942>
- Degenhardt J, Gershenzon J, Baldwin IT, Kessler A (2003) Attracting friends to feast on foes: engineering terpene emission to make crop plants more attractive to herbivore enemies. *Curr*

- Opin Biotechnol 14:169–176. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(03\)00025-9](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(03)00025-9)
- Desurmont GA, Laplanche D, Schiestl HP, Turlings TC (2015) Floral volatiles interfere with plant attraction of parasitoids: ontogeny-dependent infochemical dynamics in *Brassica rapa*. BMC Ecol 15:17. <https://doi.org/10.1186/s12898-015-0047-7>
- Du Y, Poppy GM, Powell W, Pickett JA, Wadhams LJ, Woodcock CM (1998) Identification of semiochemicals released during aphid feeding that attract parasitoid *Aphidius ervi*. J Chem Ecol 24:1355–1368. <https://doi.org/10.1023/A:1021278816970>
- Dudareva N, Pichersky E (2006) Biology of floral scent. CRC Press, Boca Raton
- Dudareva N, Pichersky E, Gershenzon J (2004) Biochemistry of plant volatiles. Plant Physiol 135:1893–1902. <https://doi.org/10.1104/pp.104.049981>
- Dudareva N, Klemm A, Muhlemann JK, Kaplan I (2013) Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. New Phytol 198:16–32
- Erb M, Meldau S, Howe GA (2012) Role of phytohormones in insect-specific plant reactions. Trends Plant Sci 17:250–259. <https://doi.org/10.1111/nph.12145>
- Guerrieri E (1997) Flight behaviour of *Encarsia formosa* in response to plant and host stimuli. Entomol Exp Appl 82:129–133. <https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.1997.00122.x>
- Gurr G, Kvedaras O (2010) Synergizing biological control: scope for sterile insect technique, induced plant defences and cultural techniques to enhance natural enemy impact. Biol Control 52:198–207. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.02.013>
- Hare JD (2010) Ontogeny and season constrain the production of herbivore-inducible plant volatiles in the field. J Chem Ecol 36(12):1363–1374. <https://doi.org/10.1007/s10886-010-9878-z>
- Heil M (2009) Damaged-self recognition in plant herbivore defence. Trends Plant Sci 14:356–363. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.04.002>
- Heraty JM, Polaszek A, Schauff ME (2008) Systematics and biology of *Encarsia*. In: Gould J, Hoelmer KA, Golsby JA (eds) Classical biological control of *Bemisia tabaci* in the United States: a review of interagency research and implementation. Springer, Amsterdam, pp 71–87
- Herm DA, Mattson WJ (1992) The dilemma of plants: to grow or defend. Q Rev Biol 67:283–335. <https://doi.org/10.1086/417659>
- Hoddle M, Van Driesche R, Sanderson J (1998) Biology and use of the whitefly parasitoid *Encarsia formosa*. Annu Rev Entomol 43:645–669. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.43.1.645>
- James DG (2003a) Synthetic herbivore-induced plant volatiles as field attractants for beneficial insects. Environ Entomol 32:977–982. <https://doi.org/10.1603/0046-225X-32.5.977>
- James DG (2003b) Field evaluation of herbivore-induced plant volatiles as attractants for beneficial insects: methyl salicylate and the green lacewing, *Chrysopa nigricornis*. J Chem Ecol 29:1601–1609. <https://doi.org/10.1023/A:1024270713493>
- James DG, Grasswitz TR (2005) Synthetic herbivore-induced plant volatiles increase field captures of parasitic wasps. Biocontrol 50:871–880. <https://doi.org/10.1007/s10526-005-3313-3>
- James DG, Price TS (2004) Field-testing of methyl salicylate for recruitment and retention of beneficial insects in grapes and hops. J Chem Ecol 30:1613–1628. <https://doi.org/10.1023/B:JOEC.0000042072.18151.6f>
- Jones VP et al (2015) Evaluating plant volatiles for monitoring natural enemies in apple, pear and walnut orchards. Biol Control 102:53–65. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.03.009>
- Kaplan I (2012) Attracting carnivorous arthropods with plant volatiles: the future of biocontrol or playing with fire? Biol Control 60:77–89. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.10.017>
- Kappers IF, Aharoni A, Van Herpen TW, Luckerhoff LL, Dicke M, Bouwmeester HJ (2005) Genetic engineering of terpenoid metabolism attracts bodyguards to *Arabidopsis*. Science 309:2070–2072. <https://doi.org/10.1126/science.1116232>
- Kelly JL, Hagler JR, Kaplan I (2014) Semiochemical lures reduce emigration and enhance pest control services in open-field predator augmentation. Biol Control 71:70–77. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.01.010>
- Kessler A, Halitschke R (2009) Testing the potential for conflicting selection on floral chemical traits by pollinators and herbivores: predictions and case study. Funct Ecol 23:901–912. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2009.01639.x>
- Kessler A, Heil M (2011) The multiple faces of indirect defences and their agents of natural selection. Funct Ecol 25:348–357. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2010.01818.x>
- Khan ZR, James DG, Midega CA, Pickett JA (2008) Chemical ecology and conservation biological control. Biol Control 45:210–224. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2007.11.009>
- Koo AJ, Howe GA (2009) The wound hormone jasmonate. Phytochemistry 70:1571–1580. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2009.07.018>
- Li SJ et al (2011) Host plants and natural enemies of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in China. Insect Sci 18:101–120. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7917.2010.01395.x>
- Li SJ et al (2014) Efficiency of plant induced volatiles in attracting *Encarsia formosa* and *Serangium japonicum*, two dominant natural enemies of whitefly *Bemisia tabaci* in China. Pest Manag Sci 70:1604–1610. <https://doi.org/10.1002/ps.3749>
- Liu Y, Wang WL, Guo GX, Ji XL (2009) Volatile emission in wheat and parasitism by *Aphidius avenae* after exogenous application of salivary enzymes of *Sitobion avenae*. Entomol Exp Appl 130:215–221. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2008.00822.x>
- Liu TX, Stansly PA, Gerling D (2015) Whitefly parasitoids: distribution, life history, bionomics, and utilization. Annu Rev Entomol 60:273–292. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-010814-021101>
- Lou YG, Ma B, Cheng JA (2005) Attraction of the parasitoid *Anagrus nilaparvatae* to rice volatiles induced by the rice brown planthopper *Nilaparvata lugens*. J Chem Ecol 31:2357–2372. <https://doi.org/10.1007/s10886-005-7106-z>
- Lucas-Barbosa D (2016) Integrating studies on plant–pollinator and plant–herbivore interactions. Trends Plant Sci 21:125–133. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.10.013>
- Lucas-Barbosa D, Van Loon JJ, Dicke M (2011) The effects of herbivore-induced plant volatiles on interactions between plants and flower-visiting insects. Phytochemistry 72:1647–1654. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.03.013>
- Mallory RE, Hogg DB, Gratton C (2011) Methyl salicylate attracts natural enemies and reduces populations of soybean aphids (Hemiptera: Aphididae) in soybean agroecosystems. J Econ Entomol 104:115–124. <https://doi.org/10.1603/EC.10253>
- McCall AC, Fordyce JA (2010) Can optimal defence theory be used to predict the distribution of plant chemical defences? J Ecol 98:985–992. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2010.01693.x>
- McCormick AC, Unsicker SB, Gershenzon J (2012) The specificity of herbivore-induced plant volatiles in attracting herbivore enemies. Trends Plant Sci 17:303–310. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.03.012>
- Morawo T, Burrows M, Fadamiro H (2016) Electroantennogram response of the parasitoid, *Microplitis croceipes* to host-related odors: the discrepancy between relative abundance and level of antennal responses to volatile compound. F1000Res 5:2725. <https://doi.org/10.12688/f1000res.10104.2>
- Ohmheiss TE, Baldwin IT (2000) Optimal defense theory predicts the ontogeny of an induced nicotine defense. Ecology 81:1765–1783. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2000\)081%5B1765:ODTPT%5D2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2000)081%5B1765:ODTPT%5D2.0.CO;2)

- Pareja M et al (2012) Herbivory by a phloem-feeding insect inhibits floral volatile production. *PLoS ONE* 7:e31971. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031971>
- Rodriguez-Saona C, Crafts-Brandner SJ, Cañas LA (2003) Volatile emissions triggered by multiple herbivore damage: beet armyworm and whitefly feeding on cotton plants. *J Chem Ecol* 29:2539–2550. <https://doi.org/10.1023/A:1026314102866>
- Rodriguez-Saona C, Kapla I, Braasch J, Chinnasamy D, Williams L (2011) Field responses of predaceous arthropods to methyl salicylate: a meta-analysis and case study in cranberries. *Biol Control* 59(2):294–303
- Roermund HV, Van Lenteren J (1995a) Foraging behaviour of the whitefly parasitoid *Encarsia formosa* on tomato leaflets. *Entomol Exp Appl* 76:313–324. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1995.tb01975.x>
- Roermund HV, Van Lenteren J (1995b) Residence times of the whitefly parasitoid *Encarsia formosa* Gahan (Hym., Aphelinidae) on tomato leaflets. *J Appl Entomol* 119:465–471. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1995.tb01319.x>
- Schiestl FP, Kirk H, Bigler L, Cazzolino S, Desurmont GA (2014) Herbivory and floral signaling: phenotypic plasticity and trade-offs between reproduction and indirect defense. *New Phytol* 203:257–266. <https://doi.org/10.1111/nph.12783>
- Silva DB, Weldegergis BT, Van Loon JJ, Bueno VH (2017) Qualitative and quantitative differences in herbivore-induced plant volatile blends from tomato plants infested by either *Tuta absoluta* or *Bemisia tabaci*. *J Chem Ecol* 43:53–65. <https://doi.org/10.1007/s10886-016-0807-7>
- Stansly PA, Naranjo SE (2010) *Bemisia*: bionomics and management of a global pest. Springer, Netherlands
- Steidle JL, Steppuhn A, Ruther J (2003) Specific foraging kairomones used by a generalist parasitoid. *J Chem Ecol* 29:131–143. <https://doi.org/10.1023/A:1021932731350>
- Sütterlin S, Van Lenteren J (2000) Pre- and post-landing response of the parasitoid *Encarsia formosa* to whitefly hosts on *Gerbera jamesonii*. *Entomol Exp Appl* 96:299–307. <https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.2000.00709.x>
- Takahayashi J, Takahashi S, Dicke M, Posthumus M (1995) Developmental stage of herbivore *Pseudaletia separata* affects production of herbivore-induced synomone by corn plants. *J Chem Ecol* 21:273–287. <https://doi.org/10.1007/BF02036717>
- Tamiru A et al (2011) Maize landraces recruit egg and larval parasitoids in response to egg deposition by a herbivore. *Ecol Lett* 14:1075–1083. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2011.01674.x>
- Thaler JS, Farag MA, Paré PW, Dicke M (2002) Jasmonate-deficient plants have reduced direct and indirect defences against herbivores. *Ecol Lett* 5:764–774. <https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2002.00388.x>
- Turlings TC, Wäckers F (2004) Recruitment of predators and parasitoids by herbivore-injured plants. In: Cardé RT, Millar JG (eds) *Advances in insect chemical ecology*, 2nd edn. Cambridge University Press, Cambridge, pp 21–75
- Turlings TC, Bernasconi M, Bertossa R, Bigler F, Caloz G, Dorn S (1998) The induction of volatile emissions in maize by three herbivore species with different feeding habits: possible consequences for their natural enemies. *Biol Control* 11:122–129. <https://doi.org/10.1006/bcon.1997.0591>
- Van Lenteren JC, Van Roermund HJ, Sütterlin S (1996) Biological control of Greenhouse Whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*) with the Parasitoid *Encarsia formosa*: How does it work? *Biol Control* 6:1–10. <https://doi.org/10.1006/bcon.1996.0001>
- Vogt T (2010) Phenylpropanoid biosynthesis. *Mol Plant* 3:2–20. <https://doi.org/10.1093/mp/ssp106>
- Walling LL (2008) Avoiding effective defenses: strategies employed by phloem-feeding insects. *Plant Physiol* 146:859–866. <https://doi.org/10.1104/pp.107.113142>
- Wasternack C, Hause B (2013) Jasmonates: biosynthesis, perception, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. An update to the 2007 review in *Annals of Botany*. *Ann Bot* 111:1021–1058. <https://doi.org/10.1093/aob/mct067>
- Yoneya K, Kugimiya S, Takabayashi J (2009) Can herbivore-induced plant volatiles inform predatory insect about the most suitable stage of its prey? *Physiol Entomol* 34:379–386. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.2009.00701.x>
- Yu H, Zhang Y, Wu K, Gao XW, Guo YY (2008) Field-testing of synthetic herbivore-induced plant volatiles as attractants for beneficial insects. *Environ Entomol* 37:1410–1415. <https://doi.org/10.1603/0046-225X-37.6.1410>
- Zarate SI, Kempema LA, Walling LL (2007) Silverleaf whitefly induces salicylic acid defenses and suppresses effectual jasmonic acid defenses. *Plant Physiol* 143:866–875. <https://doi.org/10.1104/pp.106.090035>
- Zhang P-J, Li W-D, Huang F, Zhang J-M, Xu F-C, Lu Y-B (2013a) Feeding by whiteflies suppresses downstream jasmonic acid signaling by eliciting salicylic acid signaling. *J Chem Ecol* 39:612–619. <https://doi.org/10.1007/s10886-013-0283-2>
- Zhang PJ et al (2013b) Phloem-feeding whiteflies can fool their host plants, but not their parasitoids. *Funct Ecol* 27:1304–1312. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12132>
- Zhu J, Park KC (2005) Methyl salicylate, a soybean aphid-induced plant volatile attractive to the predator *Coccinella septempunctata*. *J Chem Ecol* 31:1733–1746. <https://doi.org/10.1007/s10886-005-5923-8>
- Zilahi-Balogh G, Shipp J, Cloutier C, Brodeur J (2009) Comparison of searching behaviour of two aphelinid parasitoids of the Greenhouse Whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* under summer vs. winter conditions in a temperate climate. *J Insect Behav* 22:134–147. <https://doi.org/10.1007/s10905-008-9160-1>

CAPITULO III. Attractiveness of *Encarsia desantisi* (Hymenoptera: Aphelinidae) to the cuticular nymph compounds of *Bemisia tabaci* biotype B (Hemiptera: Aleyrodidae).

Artigo submetido à revista *Journal of Pest Sicense*, ISSN:1612-4766, Qualis A2 na área Biotecnologia.

Journal of Pest Science

Attractiveness of *Encarsia desantisi* (Hymenoptera: Aphelinidae) to the cuticular nymph compounds of *Bemisia tabaci* biotype B (Hemiptera: Aleyrodidae).

–Manuscript Draft–

Manuscript Number:	PEST-D-18-00457	
Full Title:	Attractiveness of <i>Encarsia desantisi</i> (Hymenoptera: Aphelinidae) to the cuticular nymph compounds of <i>Bemisia tabaci</i> biotype B (Hemiptera: Aleyrodidae).	
Article Type:	Original Article	
Keywords:	Bemisia tabaci; semiochemicals; kairomones; Encarsia desantisi; biological control; parasitoids; whitefly	
Corresponding Author:	Talita Antonia Silveira, MSc Universidade Federal de Alagoas Maceió, Alagoas BRAZIL	
Corresponding Author Secondary Information:		
Corresponding Author's Institution:	Universidade Federal de Alagoas	
Corresponding Author's Secondary Institution:		
First Author:	Talita Antonia Silveira, MSc	
First Author Secondary Information:		
Order of Authors:	Talita Antonia Silveira, MSc Arodi Prado Favaris, MSc Milton Fernando Cabezas-Guerrero, Dr Jose Mauricio Simões Bento, Dr Antonio Euzebio Goulart Santana, Dr Herinque Fonseca Goulart, Dr	
Order of Authors Secondary Information:		
Funding Information:	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (465511/2014-7) Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (2014/50871-0) Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (0)	Not applicable Not applicable Mrs Talita Antonia Silveira
Abstract:	Parasitoids require some chemical cues to find their hosts, such as cuticular compounds. They have several functions in the insect, such as avoiding desiccation, protection against pathogens, taxonomic and communication with their host. Our experiments were conducted in order to study the possible attractiveness of the parasitoid <i>Encarsia desantisi</i> to the nymph compounds of <i>Bemisia tabaci</i>, biotype b. Bioassays with "Y" olfactometers were performed with the crude extract of the nymphs (washing with hexane) and presented attractiveness to the parasitoid females. In order to identify which compounds were causing this attraction, fractions of this extract were carried out, where the 50% ether fraction showed to be active, attracting the parasitoids. The 50% ether fraction was refracted, and in the bioassays the 10% ether fraction showed biological activity. The results analyzed in GC and GC/MS characterized the compounds as being of two chemical groups: esters and ketones. We believe that these results are the first indications of a possible applicability of these volatiles to help the control of <i>Bemisia tabaci</i> for various crops.	

Attractiveness of *Encarsia desantisi* (Hymenoptera: Aphelinidae) to the cuticular nymph compounds of *Bemisia tabaci* biotype B (Hemiptera: Aleyrodidae).

T. A. Silveira^{1*a} · A. P. Favaris^{2b} · M. F. Cabezas-Guerrero³ · J. M. S. Bento^{2c} · A. E. G. Santana^{1d} · H. F. Goulart^{1e}

1 Agriculture Sciences Center, Federal University of Alagoas, Maceió, AL 57072-900, Brazil

2 Department of Entomology and Acarology, University of São Paulo, “Luiz de Queiroz” College of Agriculture (ESALQ/USP), Av. Pádua Dias, 11, P.O. Box 9, Piracicaba, SP, Brazil

3 Present Address: Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Facultad de Ciencias Agrarias, Campus “Ingeniero Manuel Agustín Haz Álvarez”, Av. Quito, km 1 1/2 vía a Santo Domingo de los Tsáchilas, Quevedo, Ecuador

* **Corresponding author: e-mail address:** tasilveira@usp.br, telephone: +55 19 983678293

ORCID numbers: ^a 0000-0002-8975-7784, ^b 0000-0001-5537-2176, ^c 0000-0001-8655-5178, ^d 0000-0001-5025-9107, ^e 0000-0001-6333-2406

Abstract

Parasitoids require some chemical cues to find their hosts, such as cuticular compounds. They have several functions in the insect, such as avoiding desiccation, protection against pathogens, taxonomic and communication with their host. Our experiments were conducted in order to study the possible attractiveness of the parasitoid *Encarsia desantisi* to the nymph compounds of *Bemisia tabaci*, biotype b. Bioassays with "Y" olfactometers were performed with the crude extract of the nymphs (washing with hexane) and presented attractiveness to the parasitoid females. In order to identify which compounds were causing this attraction, fractions of this extract were carried out, where the 50% ether fraction showed to be active, attracting the parasitoids. The 50% ether fraction was refracted, and in the bioassays the 10% ether fraction showed biological activity. The results analyzed in GC and GC/MS characterized the compounds as being of two chemical groups: esters and ketones. We believe that these results are the first indications of a possible applicability of these volatiles to help the control of *Bemisia tabaci* for various crops.

Key words: whitefly, nymph, *Bemisia tabaci*, *Encarsia desantisi*, cuticular compounds

Key message

- *Bemisia tabaci* is a generalist insect plague that causes trouble in thousands of cultures around the world; the difficulty that the producers have found to contain the advance of this insect has motivated new researches for alternative controls besides the chemical;
- Tests performed with *B. tabaci* nymph extract were highly attractive for the parasitoid *E. desantisi*;
- The use of these volatiles in biological control may be a plausible alternative for more sustainable control of this pest.

Author Contributions

TS, AF, JB, AS elaborated the research, AF, TS aided in the execution of the work, MC statistical analyzes, HG, AS, TS, AF chemical analyzes. All authors edited the manuscript and approved the final version.

Acknowledgements

The authors acknowledge financial support from the National Institute of Science and Technology (INCT) Semiochemicals in Agriculture (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico—CNPq, Process 465511/2014-7, and the Fundação de Amparo à

Pesquisa do Estado de São Paulo— FAPESP, Process 2014/50871-0). TAS was funded by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and PAS by FAPESP, (Process 2017/18226-6).

Introduction

Whitefly, *Bemisia tabaci* biotype b, is a key plague of several crops, not only due to direct damage, but mainly because it is an important vector of diseases, and has been causing problems in the last decades (De Barro et al. 2011). It is responsible for losses in productivity of up to 70% in some crops (Oliveira et al., 2013), whose control has been mainly carried out by the massive application of insecticides (Esashika et al., 2016). However, the constant use of these products not only increases the incidence of residues in fruits and in the environment, but also increases the insecticide-resistant populations to practically all the molecules used in their control (Alon et al., 2008; Silva et al., 2009; Ma et al., 2010; Shadmany et al., 2014).

Alternative control has been studied over the years (Turlings; Erb, 2018) and biological control is one of the most promising ones (Stefanelo, 2002). The use of natural enemies such as predators (Naranjo, 2001) or parasitoids has been gaining attention due to its great potential in the control of *Bemisia tabaci* (Oliveira et al., 2001). Several species of parasitoids are associated with the control of *Bemisia tabaci* biotype B, being the species of the genera *Encarsia* and *Eretmocerus* the most relevant (Gerling, et al, 2001, Pessoa, 2009).

Among the studies carried out, studies involving species of the genus *Encarsia* presented the most promising results for several crops such as soybean, tomato, melon and beans. The efficiency of the parasitoid has also been demonstrated in greenhouses with different crops (Pessoa, 2009, Oliveira et al., 1999, Quintela et al., 1992). (Pessoa, 2009; Oliveira et al., 1999; Quintela et al., 1992).

The attractiveness of the parasitoid to its host can be explained by the existence of volatile chemicals released by the host as well as by the host plant. The parasitoid *Encarsia desantisii* presented positive responses to the volatiles of melon plants attacked by *B. tabaci* (Silveira et al., 2018). These substances, known as kairomones, act in interspecific communication, being extremely important in the host search process (Brown et al., 1970; Lewis et al., 1975 a; b).

Based on the above, this work aims to evaluate the attractiveness of the parasitoid *Encarsia desantisii* to the volatile compounds released by nymphs of *Bemisia tabaci*, biotype B.

Material and methods

Insects and plants

In order to obtain the nymphs of *Bemisia tabaci*, adult insects from rearing kept in the laboratory of Chemical Ecology and Behavior of Insects were kept in cabbage (*Brassica oleracea* L.) plants offered for oviposition in a greenhouse located in the Department of Entomology and Acarology of ESALQ / USP.

For the creation and maintenance of parasitoids, 3rd and 4th instar nymphs were offered as host every 5 days. The insects destined to the bioassays were kept at a temperature of 27 ± 1 °C, $65 \pm 10\%$ relative humidity, isolated in acrylic cages for 24 h before being used in the experiment.

Extraction of compounds

Using the direct washing in organic solvent (hexane), 300 nymphs of *Bemisia tabaci*, 3rd and 4th instars, were removed from the cabbage leaves with a magnifying glass and brush. After separated, nymphs were submerged in the solvent for 5 minutes. Soon after, the solvent (extract) was filtered in a Pasteur pipette containing glass wool to retain the impurities, and stored in vial at -30 ° C. The crude extract was isolated by fractionation and its biological activity was tested by olfactometer bioassays.

After confirmation of biological activity, crude extract was concentrated to 200 μ L by means of sample purification by column chromatography packed with silica. For this, the column was prepared using a glass Pasteur pipette (146 mm) containing glass wool and filled with 2 g of 60/100 mesh silica (Sigma-Aldrich). After washing the silica column with hexane, the crude extract was applied. The elutions were carried out with 1 mL of the hexane and diethyl ether solvents for solutions increasing in polarity: 100% hexane; 25% ether; 50% ether; 75% ether and 100% ether. A 1.5 mL vial was placed at the end of the column to collect each fraction.

Fractionation of 50% ether fraction

After the bioassays with the fractions, the 50% fraction was fractionated again, using 1mL of 50% ether fraction which was concentrated to 200 μ L using the method of sample purification by column chromatography packed with silica. The column was prepared from a 146 mm glass Pasteur pipette containing glass wool and filled with 2 g 60/100 mesh silica (Sigma-Aldrich). After washing the silica column with hexane, the 50% ether fraction was applied. The elutions were carried out with with 1 mL of the hexane and diethyl ether solvents for solutions increasing in polarity: 100% hexane; 10% ether; 15% ether; 20% ether; 50% ether and 100% ether. A 1.5 mL vial was placed at the end of the column to collect each fraction.

Bioassays in olfactometers

The attractiveness of the crude extract (wash) and the fractions were tested in a "Y" olfactometer in order to evaluate the response of the parasitoids. The extracts, as well as the

control treatment (hexane only), were soaked in cotton in a volume of 10 μL for the bioassays and the same volume was used for the fractions.

The treatments were arranged in glass connectors connected to the olfactometer arms. In this system the filtered air with activated and humidified charcoal was pushed through the system at 0.6 $\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ of purified air. The air flow was obtained using a vacuum pump which was connected to the olfactometer outlet, which removed from the system 0.2 $\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$.

For the tests, insects previously mated and with oviposition experience (1 to 5 days of age) were individualized and kept in an air conditioned room 12 h prior to the beginning of the bioassays. Each repetition corresponded to a female of *Encarsia desantisii*. A single female was released at the base of the olfactometer, and then the behavior was observed for 10 minutes, where the first choice was evaluated and defined as the olfactometer arm in which the parasitoid initially entered and remained at least 40s. At each repetition, the cottons with the extract and control were replaced and the positions of the olfactometer arms were altered to avoid a tendency in parasitoid responses. A total of 35 replicates were performed for the wash extract attractiveness tests and 30 replicates for their fractions. The bioassays were conducted in the period from 2:00 p.m. to 4:30 p.m., a period previously defined due to higher parasitoid activity. Generalized Linear Mixed Models (GLMM) with a binomial distribution and logistic link were used to analyze the data of insects first choice with the software R 3.3.2 (R CORE TEAM, 2016). In the olfactometer bioassays, the likelihood ratio chi-square test χ^2 was used to determine the significance ($P < 0.05$), and the analyzes were performed with software R 3.3.2 (R CORE TEAM, 2016).

Gas Chromatography (GC)

The extracts and fractions were analyzed on a Shimadzu 2010 equipped with a flame ionization detector (FID) and using an HP-1MS column (30m x 0.25mm ID; 0.25 μm film thickness, Agilent technologies, CA, USA). The oven temperature was maintained at 40° C for 5 minutes, then increased at 5° C min^{-1} at 150° C for 1 minute, then 10° C min^{-1} at 250° C and maintained for 20 minutes. The FID was adjusted to 280° C and the injector at 250 °C. Two microliters of each sample were injected into an undivided injector, with helium as the carrier gas.

Coupled Gas Chromatography / Mass Spectrometry (GC / MS)

The identification was carried out in a gas chromatograph with mass spectrometry (Varian 4000), equipped with an HP-5MS capillary column (30m x 0.25mm ID, 0.25 μm film, Agilent technologies, CA, USA), helium being the carrier gas. The samples were injected at 250 ° C in “splitless” mode using the same temperature program of GC-FID analyzes. Identification of compounds was performed using the Kovats index (KI) calculated using n-alkane standards

(C7-C30), and from comparisons of mass spectra of the compounds with those available from the Wiley 6 library chemical class level suggested the similarity index.

Results

Bioassays in "Y" olfactometer

E. desantisi presented greater attractiveness to the crude extract (from the washing of the nymphs of *B. tabaci*) than to the control treatment (Hexane) ($Gl = 1$; $\chi^2 = 12,08$; $P = 0,0005$) as well as the fraction of 50% ether ($Gl = 1$; $\chi^2 = 94,33$; $P = 0,0021$) (Fig.1). However, they were not attracted by the volatiles of the 100% ether fraction ($Gl = 1$; $\chi^2 = 0,32$; $P = 0,5743$). The responses obtained in the bioassays with the fractions of 25% ether, 75% ether and 100% hexane were not considered for analysis due to the low number of females that responded to some of the treatments.

The 50% ether fraction, which was attractive in the bioassay, was fractionated again. After refraction, only the 10% ether fraction ($Gl=1$; $\chi^2=60,80$; $P= 0,01367$) (Fig. 2) showed biological activity. The 20% ether fraction ($Gl = 1$, $\chi^2 = 25.06$, $P = 0.1134$), despite being attractive, showed no statistical difference in relation to the control. The other fractions, 100% hexane; 15% ether; 50% ether and 100% ether were not considered for analysis because of the low number of response to treatment.

Analysis of the compounds by GC-MS

In the GC-MS analysis of fractions, the presence of four peaks (1,2,3 and 4) was observed in a higher concentration in the 50% ether fraction, which was biologically active in olfactometer bioassays and only one peak (peak 5) of this fraction (Fig. 3).

Comparing the chromatograms analyzed by GC-MS, from the fractionation of the wash extract of the nymphs, it is observed that the 50% ether fraction presented four peaks that stand out in quantity when compared to the other fractions, as well as a peak that appears only in this fraction

Discussion

Our results demonstrated that compounds of the group esters and ketones are found in nymphs of *Bemisia tabaci* Biotype b, and possibly may have been responsible for the chemical communication used by the parasitoids *Encarsia desantisi* to meet their host. Additionally, in the assessment to identify the compounds responsible for the attractiveness, it was found that compounds isolated in the 50% ether fraction from the crude extract may be responsible for such response in the parasitoid.

The most studied chemist groups in the last years as being responsible for a possible response of the parasitoids to their hosts are the kairomones, being mainly aldehydes, esters, isothiocyanates, sulfides, nitriles, furanoids, terpenoids, pyridines and hydrocarbons, the latter being the most commonly found in the process (Afsheen, et al., 2008). The study by Rani et al. (2007) proposed that compounds that have a high number of carbon atoms can act as contact stimulants, while those with less than 10 carbon atoms are more volatile and may attract parasitoids to the host.

These cuticular compounds have been widely studied in several species of insects in recent years, often acting as sex attractants (pheromones) (Snellings, et al., 2018). These hormones within a bee colony, for example, control the activities of these insects in the maintenance of caste (Ferreira-Caliman, et al., 2010), as well as the kairomones are used by natural enemies predators and parasitoids to meet their hosts (Bakthavatsalam; et al., 2006).

Several studies have been developed over the years to identify such compounds in nymphs (Neal et al., 1994; Buckner et al., 1999; Buckner et al., 2000). However, none of them have shown the biological function of such compounds. The attraction of *Encarsia desantisi* to the cuticular compounds of *B. tabaci* nymphs can be exploited in an applied way for the control of whitefly, as demonstrated in several studies that tested the kairomones with the objective of using them as attractive for the parasitoids, collaborating in the control of the insect pest. Rani et al. 2007 studied the response of *Trichogramma japonicum* to cuticle extracts of yellow stem borer and adult adult of rice stem borer. The response of the parasitoid was stronger for the host adult with cuticle extracts compared to larval fractions or larval body extracts, indicating that this response is specific for the adult host.

In *B. tabaci* nymphs, wax coating on cuticular surfaces also has the function of protecting from honeydew, which is excreted at the time of adult feeding. These insects possess the mechanism of avoiding their own honeydew, but not the honeydew produced by their neighbors (Byrne, et al., 1991). It is known that during growth and development, whitefly nymphs remain immobile and continually feed on phloem, except during molt activity between instars (Mound, 1963).

In other insects, these cuticular lipids may have distinct roles, acting as sex pheromone, in the case of *Glossina morsitans* (tsetse) females to attract males (Carlson et al., 1978) and courtship behavior in several species of *Drosophila* (Jallon and Cobb, 1990).

Parasitoids as *Trichogramma chilonis* presented high parasitism rate when effective kairomones were extracted and identified from eggs of one of their hosts, with concentration and application technique adjustment (Bakthavatsalam and Tandon, 2006).

Studies carried out with *Cotesia rubecula* identified the attractiveness of this parasitoid to feces of two species of Lepidoptera (*Pieris rapae* and *Pieris brassicae*) caterpillars in different stages of development and that they emitted different volatiles. Therefore, it can be inferred that there was an interaction between what the host plant emits of volatile when attacked or not by the herbivore, together with the feces of these caterpillars, being the quality and quantity of these volatiles of extreme importance for a positive response in the attraction (Agelopoulos et al., 1995).

From studies such as these, we understand that not only the chemical clues of host insects are important for the location, but also the use of clues of host plants and their stages of development. However, the parasitoids alter their specificity, learning to identify the host or the volatiles emitted after having contact with them, being able or not to memorize these contacts, varying according to the species (Herard et al., 1988; Sheehan and Shelton, 1989; Turlings et al., 1989; Vet and Groenewold, 1990; Kester and Barbosa, 1991; Eller et al., 1992; Turlings et al. 1993; Geervliet et al., 1997).

In some cases, the source of kairomones contains a mixture of volatiles, but only one of them is proven to mediate the parasitoid specific response (Reddy et al., 2002; Mizutani, 2006).

Some studies with pupae parasitoids have addressed how these insects may have different forms of exploitation depending on the host. Some are known for exploiting contact kairomones and volatiles to locate their hosts (Leonard et al., 1975; Tucker and Leonard 1977; Sandlan 1980). For Rostas et al. (1998), the parasitoid was not attracted by volatiles of pupae of the host, however, when in contact with the kairomones extracted from the outer layer of the cocoon and the pupae and non-volatile components of the tegument, provoked parasitoid antennation, indicating the recognition of the host. It has also been reported that pupae parasitoids use signals produced by their hosts at the developmental stage preceding that in which they parasitize (Thibout, 2005) or by-product of the previous host stage (Auger et al., 1989) to locate their target stage.

In view of all the results presented, it is necessary the continuity of these studies to understand the chemical communication that the host emits and how these volatiles are interpreted by the parasitoid in its search. We consider it possible to get as close to one or a mixture of volatile compounds, to act as attractive and to aid in biological control.

Reference

- Afsheen, S., Wang, X., Li, R. et al. (2008). Differential attraction of parasitoids in relation to specificity of kairomones from herbivores and their by-products *Insect Science*. 15: 381-397, DOI 10.1111/j.1744-7917.2008. 00225.x
- Agelopoulos, N.G., Dicke, M., Posthumus, M.A. (1995) Role of volatile infochemicals emitted by feces of larvae in host-searching behavior of parasitoid *Cotesia rubecula* (Hymenoptera: Braconidae): A behavioral and chemical study. *Journal of Chemical Ecology*, 21, 1789-1811.
- Alon, M; Alon, F; Nauen, R; et al. (2008). Organophosphates' resistance in the B-biotype of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) is associated with a point mutation in an ace1-type acetylcholinesterase and overexpression of carboxylesterase. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 38: 940-949.
- Auger, J., Lecomte, C., Paris, J. et al (1989) Identification of leek-moth and diamondback-moth frass volatiles that stimulate parasitoid, *Diadromus pulchellus*. *Journal of Chemical Ecology*, 15, 1391-1398.
- Bakthavatsalam , N., Tandon, P.L. (2006) Kairomones, their optimum concentrations, and application techniques to enhance the parasitization efficiency of *Trichogramma chilonis* Ishii (Hymenoptera: Trichogrammatidae) *J. Biol. Control*, 20: 169-174.
- Brown, W. L. Jr., Eisner, T; Whittaker, R. H. (1970). Allomones and kairomones: Transpecific chemical messengers. *BioSciellce*, 20: 21-22.
- Buckner JS, Hagen M.M, Nelson DR. (1999). The composition of the cuticular lipids from nymphs and exuviae of the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Comp Biochem Physiol* 124B:201–207.
- Buckner, J.S., Poprawski, T.J., Jones,W. A. et al. (2000). Effect of whitefly parasitoids on the cuticular lipid composition of *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) nymphs. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 44:82–89.
- Byrne DN, Bellows TS Jr. (1991). Whitefly biology. *Annu Rev. Entomol* 36:431–57.
- Carlson, D.A., Langley, P.A., Huyton, P. (1978). Sex Pheromone of the Tsetse Fly: Isolation, Identification, and Synthesis of Contact Aphrodisiacs *Science*. 201:750-753.
- Cobb, M., Jallon, J.M. (1990). Pheromones, mate recognition and courtship stimulation in the *Drosophila melanogaster* species sub-group. *Anim. Behav.* 39: 1058-1067.

De Barro, P.J.; Liu, Shu-Sheng; Boykin, L.M.; et al (2011). *Bemisia tabaci*: A Statement of Species Status. *Annu. Rev. Entomol.* 56:1–19.

Eller, F.J., Tumlinson, J.H.; Lewis, W.J. (1992) Effect of host diet and preflight experience on the flight responses of *Microplitis croceipes* (Cresson). *Physiological Entomology*, 17, 1607-1616.

Esashika, DAS; Michereff-Filho, M; Bastos, et al. (2016). Suscetibilidade de adultos de *Bemisia tabaci* biótipo B a inseticidas. *Horticultura Brasileira* 34: 189-195. DOI - <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-053620160000200007>.

Ferreira-Caliman, M.J., Nascimento, F. S., Turatti, I.C., et al. (2010). The cuticular hydrocarbons profiles in the stingless bee *Melipona marginata* reflect task-related differences *Journal of Insect Physiology* 56: 800–804 doi:10.1016/j.jinsphys.2010.02.004.

Gerling, D; Alomar, O.; Arnó, J. (2001). Biological control of *Bemisia tabaci* using predators and parasitoids. *Crop Protection*, 20: 779-799.

Geervliet, J.B.F., Posthumus, M.A., Vet, L.E.M. et al. (1997) Comparative analysis of headspace volatiles from different caterpillar-infested or uninfested food plants of *Pieris* species. *Journal of Chemical Ecology*, 23, 2935-2954.

Herard, F., Keller, M.A., Lewis, W.J. et al. (1988) Beneficial arthropod behavior mediated by airborne semiochemicals. III. Influence of age and experience on flight chamber responses of *Microplitis demolitor* Wilkinson. *Journal of Chemical Ecology*, 14, 1583-1596.

Kester, K.M., Barbosa, P. (1991) Post emergence learning in the insect parasitoid, *Cotesia congregata* (Say) (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Insect Behavior*, 4, 727-742.

Leonard, D.E., Bierl, B.A. and Beroza, M. (1975) Gypsy moth kairomones influencing behavior of the parasitoids *Brachymeria intermedia* and *Apanteles melanoscelus*. *Environmental Entomology*, 4, 929-930.

Lewis, W. J., Jones, R. L., Nordlund, D. I; et al. (1975a). Kairomones and their use for management of entomophagous insects I. Evaluation for increasing rates of parasitization by *Trichogramma* spp. in the field. *Journal of Chemical Ecology*, 1 : 343-347.

Lewis, W. J., Jones, R. L., Nordlund, D. A. et al. (1975b). Kairomones and their use for management of entomophagous insects II. Mechanism causing increase in rate of parasitization by *Trichogramma* spp. *Journal of Chemical Ecology*, I: 349-360.

Ma, W; Li, X; Dennehy, TJ; et al (2010). Pyriproxyfen resistance of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) biotype B: metabolic mechanism. Journal of Economic Entomology 103: 159-165.

Mizutani, N. (2006) Pheromones of male stink bugs and their attractiveness to their parasitoids. Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology, 50, 87-99.

Mound LA. (1963). Host-correlated variation in *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae). Proc R Entomol Soc Lond Ser (A) 38:171–80.

Naranjo,S.E. (2001). Conservation and evaluation of natural enemies in IPM systems for *Bemisia tabaci*. Crop Prot. 20,835–852.

Neal JR. J. W, Leonhardt, B.A. Brown, J.K., et al. (1994). Cuticular lipids of greenhouse whitefly and sweetpotato whitefly type A and B (Homoptera: Aleyrodidae) pupal exuviae on the same hosts. Physiology, Biochemistry, and Toxicology 87: 609-618.

Oliveira, M. R. V.; Laumann, R. A.; Moraes, F. de A. B. et al. (1999). Inimigos naturais coletados nas populações de *Bemisia tabaci* Raça B e *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae). In: ENCONTRO LATINO-AMERICANO E DO CARIBE SOBRE MOSCAS-BRANCAS E GEMINIVIRUS, Anais. Recife-PE p. 122.

Oliveira, C.M.; Auad, A.M., Mendes, S.M. et al. (2013). Economic impact of exotic insect pests in Brazilian agriculture. J. Appl. Entomol. 137:1–15.

Oliveira, M.R.V., Henneberry,T.J., Anderson, P.K.,(2001). History, current status, and collaborative research projects for *Bemisia tabaci*. Crop Prot. 20,709–723.

Pessoa, R. (2009). Infestação e parasitismo natural de ninfas de *Bemisia tabaci* biótipo b (Hemiptera: Aleyrodidae) em soja-hortaliça e elaboração de chave de identificação de *Encarsia* spp. (Hymenoptera: Aphelinidae). Dissertação, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/91388>>.

Quintela, E. D.; Sanchez, S. E. M.; Yocoyama, M. (1992). Parasitismo de *Encarsia* sp. (Hymenoptera: Aphelinidae) sobre *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) (Homoptera: Aleyrodidae). Anais da Sociedade Entomologica do Brasil, 21: 471- 475.

R CORE TEAM (2016) R: A Language and Environment for Statistical Computing.Vienna, Austria. R Foundation for Statistical Computing.

Rani, P.U., Kumari, S.I., Sriramakrishna, T. et al (2007) Kairomones extracted from rice yellow stem borer and their influence on egg parasitization by *Trichogramma japonicum* Ashmead. *Journal of Chemical Ecology*, 33, 59-73.

Reddy, G.V.P., Holopainen, J.K., Guerrero, A. (2002) Olfactory responses of *Plutella xylostella* natural enemies to host pheromone, larval frass, and green leaf cabbage volatiles. *Journal of Chemical Ecology*, 28, 131-143.

Rostas, M., Dippel, C., Hilker, M. (1998) Infochemicals influencing the host foraging behaviour of *Dahlbominus fuscipennis*, a pupal parasitoid of the European spruce sawfly (*Gilpinia hercyniae*). *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 86, 221-227.

Sandlan, K. (1980) Host location by *Coccygominus turionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 27, 233-245.

Shadmany, M; Omar, D; Muhamad, R. (2014). Biotype and insecticide resistance status of *Bemisia tabaci* populations from Peninsular Malaysia. *Journal of Applied Entomology*. <http://dx.doi.org/10.1111/jen.12131>.

Sheehan, W. and Shelton, A.M. (1989) The role of experience in plant foraging by the aphid parasitoid *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: Aphididae). *Journal of Insect Behavior*, 2, 743-758.

Silva, LD; Omoto, C; Bleicher, E; et al. (2009). Monitoramento da suscetibilidade a inseticidas em populações de *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) no Brasil. *Neotropical Entomology* 38: 116-125.

Silveira, T.A., Sanches, P.A., Zazycki, L.C.F. et al. (2018). Phloem-feeding herbivory on flowering melon plants enhances attraction of parasitoids by shifting floral to defensive volatiles. *Arthropod-Plant Interactions* . online. <https://doi.org/10.1007/s11829-018-9625-x>

Snellings, Y. Herrera, B. Wildemann, B., et al. (2018) The role of cuticular hydrocarbons in mate recognition in *Drosophila suzukii* *Scientific Reports*. 8:4996. doi:10.1038/s41598-018-23189-6.

Stefanelo, E. L. (2002). Agronegócio Brasileiro: Propostas e tendências. *FAE BUSINESS*. 3: 10-13.

Thibout, E. (2005) Role of caterpillar silk thread in location of host pupae by the parasitoid *Diadromus pulchellus*. *Journal of Insect Behavior*, 18, 817-826.

Tucker, J.E., Leonard, D.E. (1977) The role of kairomones in host recognition and host acceptance behavior of the parasite *Brachymeria intermedia*. *Environmental Entomology*, 6, 527-531.

Turlings, T.C.J.; Matthias Erb, M. (2018). Tritrophic interactions mediated by herbivore-induced plant volatiles: mechanisms, ecological relevance, and application potential. *Annu. Rev. Entomol.* 63:433–52. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-020117-043507>.

Turlings, T.C.J., Tumlinson, J.H., Lewis, W.J. et al (1989) Beneficial arthropod behavior mediated by airborne semiochemicals: VIII. Learning of host-related odours induced by a brief contact experience with host by-products in *Cotesia marginiventris* (Cresson), a generalist larval parasitoid. *Journal of Insect Behavior*, 2, 217-226.

Turlings, T.C.J., Wackers, F.L., Vet, L.E.M., et al (1993) Learning of host-finding cues by hymenopterous parasitoids. *Insect Learning: Ecological and Evolutionary Perspectives* (eds. D.R. Papaj & A.C. Lewis), pp.51-78. Chapman & Hall, New York.

Vet, L.E.M. , Groenewold, A.W. (1990) Semiochemicals and learning in parasitoids. *Journal of Chemical Ecology*, 16: 3119-313

Fig 1. Response of *Encarsia desantisi* females in 'Y' olfactometer for fractions vs control and extract wash vs control. Asterisks indicate significant differences between treatments according to the chi-square test of the likelihood ratio (*** $P < 0.001$; ** $P < 0.01$; ns = No Significant).

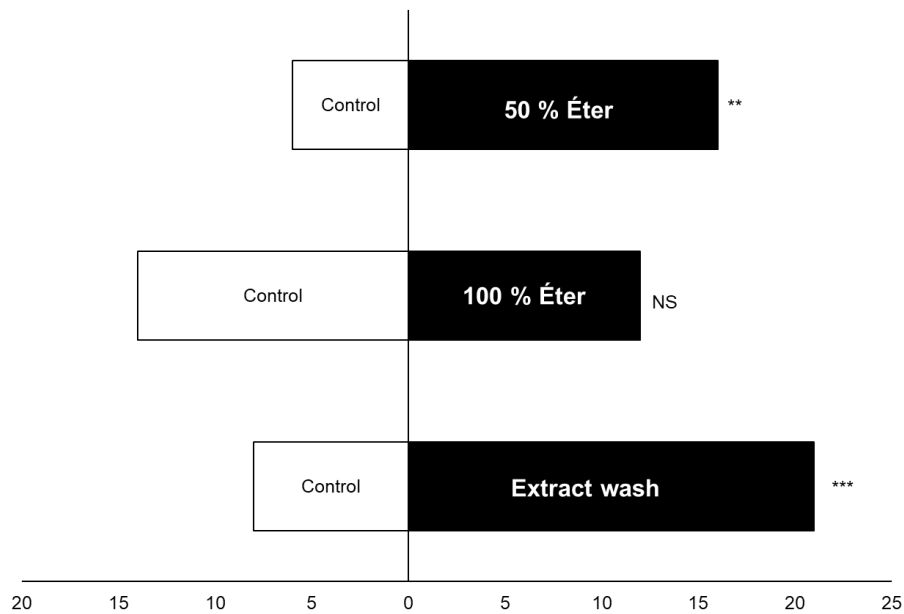


Fig 2. Response of *Encarsia desantisi* females in 'Y' olfactometer for fractions vs control. Asterisks indicate significant differences between treatments according to the chi-square test of the likelihood ratio (* $P < 0.01$; ns = No Significant).

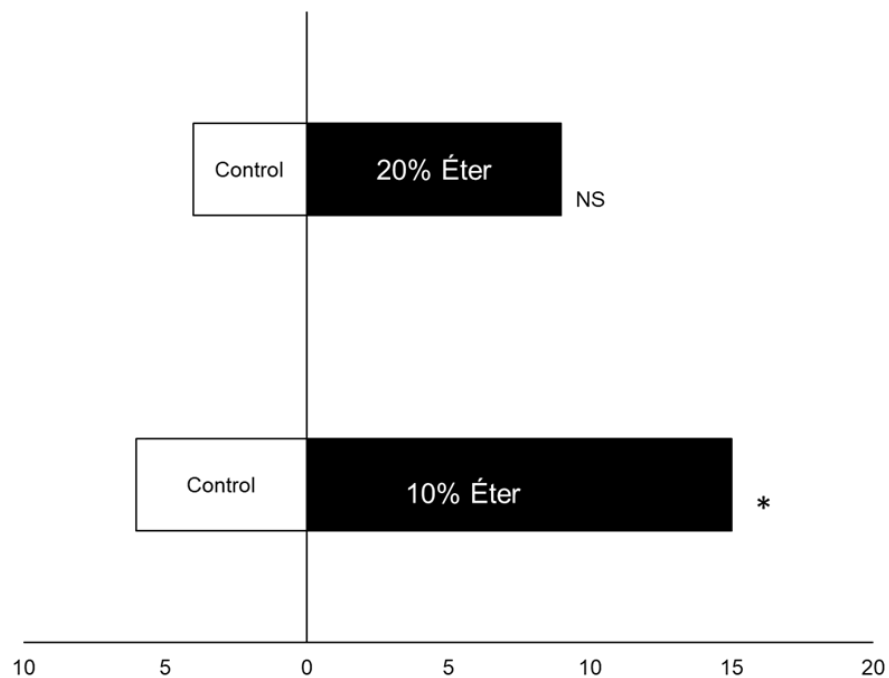


Fig 3. Chromatograms indicating the relevant peaks in the fraction 50% ether (biologically active).

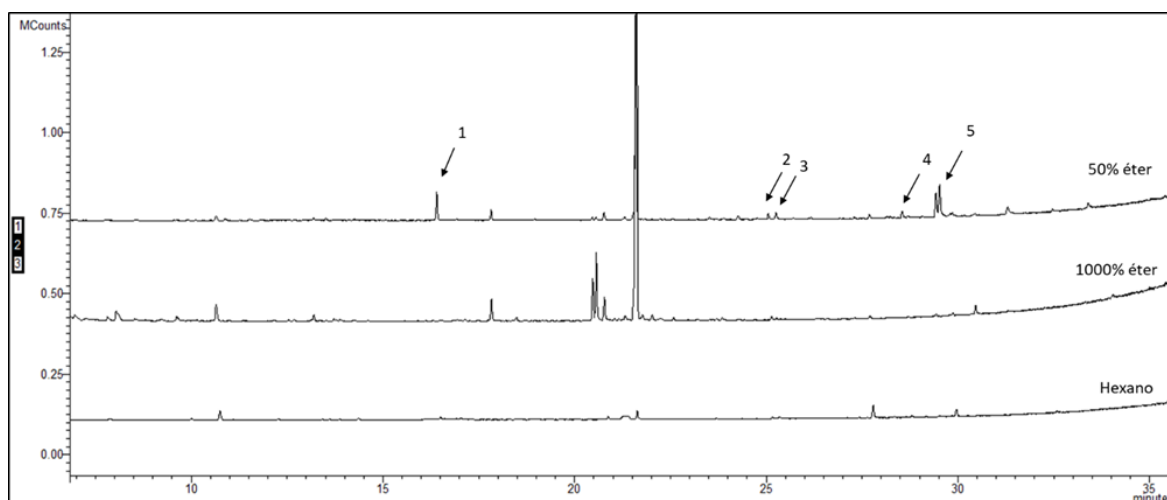
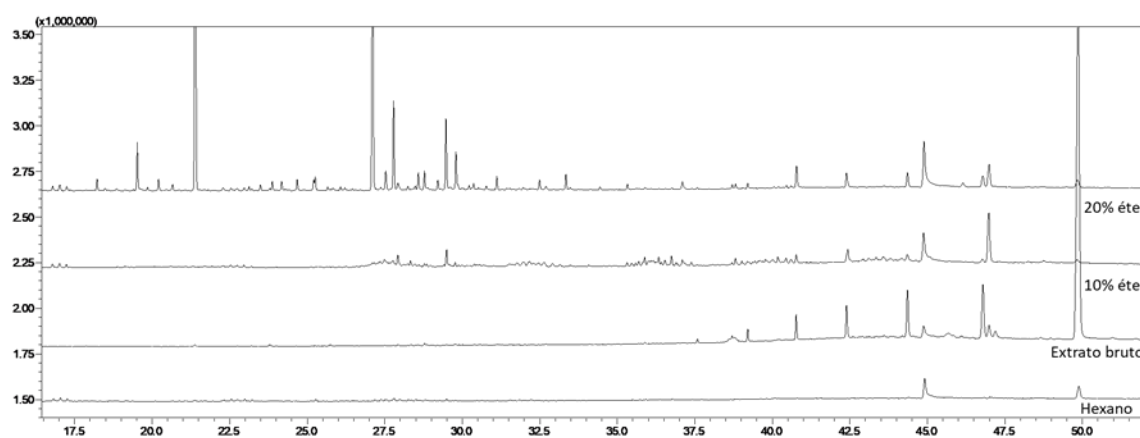


Fig 4. Chromatograms of fractions 10% ether and 20% ether from the 50% ether fraction refraction.



3.CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados obtidos até o momento, pode se concluir que existem várias formas de manejo a serem exploradas para o controle de *Bemisia tabaci*, compreender o papel que os voláteis das plantas de melão sadias e das plantas infestadas pelo herbívoro na atração da praga e do inimigo natural;

Entender a importância do comportamento de busca do parasitoide pelo seu hospedeiro, esses conhecimentos, podem ser utilizados em um controle mais eficiente para mosca-branca e o uso do controle biológico atrelado ao uso dos semioquímicos é uma forma de controle limpa e sustentável.

4.REFERÊNCIAS

ALENCAR, J.A. Pragas do melão e alternativas de controle. Embrapa Semiárido. **I Curso sobre cultivo de Melão**. Petrolina, nov. 2000.

ANTONY, B.; PALANISWAMI, M. S.; KIRK, A. A.; HENNEBERRY, T. J. Development of *Encarsia bimaculata* (Heraty and Polaszek) (Hymenoptera:Aphelinidae) in *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae) nymphs. **Biological Control**, v.30, p. 546-555, 2004.

ARAÚJO, V. F.S.; CAMPOS, D. F. A cadeia Logística do Melão Produzido no Agropolo Fruticultor Mossoró/Açu. **Revista Documentos técnico-científicos**, Vol. 42, n.03, ano de publicação: julho/setembro, 2011. Disponível em: <https://ren.emnuvens.com.br/ren/article/viewFile/156/135>. Acesso em: 03/04/2018.

ARRUDA-GATTI, I. C. DE; VENTURA, M. U. Iscas contendo cucurbitacinas para o manejo de *Diabrotica* spp. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 24, n. 2, p. 331-336, 2003.

BELLOWS JUNIOR, T. S.; PERRING, T. M.; GILL, R. J.; HEADRICK, D. H. Description of a species of *Bemisia* (Homoptera: Aleyrodidae) infesting North American agriculture. **Annals Entomological Society of America**, Palo Alto, v. 87, n. 2, p.1 95 -2 0 6, 1994.

BIRKETT, M. A. et al. Volatiles from whitefly-infested plants elicit a host-locating response in the parasitoid, *Encarsia formosa*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 29, n. 7, p. 1589–1600, 2003.

BYRNE, D. N.; BELLOWS JUNIOR, T. S. Whitefly biology. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 36, p. 431-457, 1991.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Fiscalização de Insumos Agrícolas. Coordenação-Geral de Agrotóxicos e Afins. Relatório de Pragas e Doenças da cultura do Melão, praga *Bemisia tabaci*. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons Acesso em: maio de 2018.

BRUCE, T.J.A., WADHAMS, L.J.; WOODCOCK, C.M. Insect host location: a volatile solution. **Trends in Plant Science**, v.10, p.1360–1385, 2005.

CALVO, F. J.; BOLCKMANS, K.; BELDA, J. E. Control of *Bemisia tabaci* and *Frankliniella occidentalis* in cucumber by *Amblyseius swirskii*. **BioControl**, Heidelberg, v. 56, p. 185-192, 2011.

CASTINERAS, A. Natural enemies of *Bemisia tabaci* (Homóptera: Aleyrodidae) in Cuba. **Florida Entomologist**, v.78, n. 3, p. 538-540, 1995.

COELHO SAMP; LOURENCÃO AL; MELO AMT; SCHAMMASS EA. Resistência de meloeiro a *Bemisia tabaci* biótipo B. **Bragantia** v.68, p.1025-1035, 2009.

COSTA, A. S.; COSTA, C. L.; SAUER, H. F. G. Surto de mosca-branca em culturas do Paraná e São Paulo. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Itabuna, v. 2, n. 1, p. 20-30, 1973

COSTA, N. D. A cultura do melão. 2. ed. rev. ampl. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2008. 191 p. il. (**Coleção Plantar**, 60).

COSTA -LIMA, T. C.; MICHEREFF FILHO, M.; LIMA, M. F.; ALENCAR, J. A. Guia sobre Mosca-branca em Meloeiro: Monitoramento e Táticas de Controle. Petrolina: Embrapa Semiárido, **Circular técnica** **112**. 8p., 2016.
<<https://www.embrapa.br/web/mobile/publicacoes/-/publicacao/1051412/guia-sobre-mosca-branca-em-meloeiro-monitoramento-e-taticas-de-controle>> Acesso em: set de 2016.

CLAVIJO McCORMICK A.; UNSICKER S.B.; GERSHENZON J. The specificity of herbivore-induced plant volatiles in attracting herbivore enemies. **Trends in Plant Science**; v.17, n.5, p.303-10, 2012.

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

DENHOLM, I.; CAHILL, M.; BYRNE, F.J.; DEVONSHIRE, A.L. Progress with documenting and combating insecticide resistance in *Bemisia*. In: GERLING, D., MAYER R.T. (Ed.). *Bemisia* 1995: taxonomy, biology, damage, control and management. Andover, UK: **Intercept**. p.577-603, 1996.

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

FAVERET FILHO, P.; ORMOND, J. G. P.; DE PAULA, S. R. Fruticultura brasileira: a busca de um modelo exportador. Rio de Janeiro: **Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social**, 1999.

FERNANDES, O. A. Pragas do meloeiro. In: BRAGA SOBRINHO, R.; CARDOSO, J. E.; FREIRE, F. C. O. (Ed.). Pragas das fruteiras tropicais e de importância agroindustrial. Fortaleza: **Embrapa Agroindústria Tropical**, p. 181-189, 1998.

FERNANDES, O. A.; FERREIRA, C. C.; MONTAGNA, M. A. Manejo integrado de pragas do meloeiro: manual de reconhecimento das pragas e táticas de controle. Jaboticabal: **Funep-CNPq**, 28 p.2000.

FERNANDES, D. R. R. Inimigos naturais presentes na cultura do meloeiro e sua associação com a mosca minadora *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) na região de Mossoró. Monografia (Graduação em Agronomia) - UFERSA, Mossoró. 59p. 2006.

GERLING, D. Studies with whitefly parasites of southern California *Encarsia pergandiella* Howard (Hymenoptera: Aphelinidae). **The Canadian Entomologist** v.98, p.707-724, 1966.

GERLING, D.; ALOMAR, O.; ARNÓ, J. Biological control of *Bemisia tabaci* using predators and parasitoids. **Crop Protection**, Amsterdam, v. 20, p. 779-799, 2001.

GOINGUENÉ, S.P.; TURLINGS, T.C. The effects of abiotic factors on induced volatile emissions in corn plants. **Plant Physiology** v.129, n.3, p. 1296-307, 2002.

GUIMARÃES, J. A.; BRAGA SOBRINHO, R.; AZEVEDO, F. R.; ARAUJO, E. L.; TERÃO, D.; MESQUITA, A. L. M. Manejo integrado de pragas do meloeiro. p.183-199. In: BRAGA SOBRINHO, R.; GUIMARÃES, J. A.; FREITAS, J. A. D.; TERÃO, D. (Eds.) Produção Integrada de Melão. Fortaleza: EMBRAPA Agroindustrial Tropical, 2008. 338p.

HF BRASIL. MELÃO/CEPEA: Volumes embarcados recuam na safra 2017/18. Disponível em: <http://www.hfbrasil.org.br/br/melao-cepea-volumes-embarcados-recuam-na-safra-2017-18.aspx>. Acesso em: 03 mar. 2018.

HF BRASIL. MELÃO/CEPEA: Embarques nacionais são recordes em 2017. Brasil é o segundo maior exportador da fruta à UE. Disponível em: <https://www.hfbrasil.org.br/br/melao-cepea-embarques-nacionais-sao-recordes-em-2017.aspx>. Acesso em: 08 ago. 2018.

HAI, F. N. P. Avanços no Manejo da Mosca-Branca *Bemisia tabaci* biotipo B (Hemiptera : Aleyrodidae). Petrolina, PE: **Embrapa Semiárido**.186 p., 2004.

HOROWITZ, A.R., ANTIGNUS, Y.; GERLING D. Management of *Bemisia tabaci* Whiteflies. In: W.M.O. Thompson (ed.), *The Whitefly, Bemisia tabaci (Homoptera: Aleyrodidae) Interaction with Geminivirus-Infected. Host Plants*, p. 293-322, 2011.

HOROWITZ, A.R.; ISHAAYA, I. Chemical control of *Bemisia*, management and application. In: GERLING, D., MAYER, R.T. (Ed.). *Bemisia* 1995: taxonomy, biology, damage, control and management. Andover, UK: Intercept. p.537-556, 1996.

HILJE, L. (1996). Metodologias para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus. Turrialba: CATIE, Unidad de Fitoprotección. 150 p. (CATIE. Materiales de Enseñanza; 37).

HODDLE, M. S. et. al. Discovery and utilization of *Bemisia argentifolii* patches by *Eretmocerus eremicus* and *Encarsia Formosa* (Beltsville strain) in greenhouses, **Entomology Experimentalis et Applicata**, v.87, p.15–28, 1998.

HUSSEY, N.W.; PARR, W.J.; GOULD, H.J. Observations on the control of *Tetranychus urticae* Koch on cucumbers by the predatory mite *Phytoseiulus riegeli* Dosse. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.8, p.271-281, 1965.

JAMES, D.G. Field evaluation of herbivore-induced plant volatiles as attractants for beneficial insects: methyl salicylate and the green lacewing, *Chrysopa nigricornis*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 29, n. 7, p.1601-1609, 2003.

KAPLAN, I. Attracting carnivorous arthropods with plant volatiles: The future of biocontrol or playing with fire? **Biological Control**, v. 60, n. 2, p. 77–89, 2012.

KELLY, J. L.; HAGLER, J. R.; KAPLAN, I. Semiochemical lures reduce emigration and enhance pest control services in open-field predator augmentation. **Biological Control**, v. 71, p. 70–77, 2014.

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

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

LEWIS, T; GOWER, M. Biology of communication. Blackie, London. 1980, 239p.

LOURENÇÃO, A. L.; MIRANDA, M. A. C.; ALVES, S. B. Ocorrência epizootica de *Verticillium lecanii* em *Bemisia tabaci* biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) no Estado do Maranhão. **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 1, p. 183-185, 2001.

LOURENCAO, A. L.; NAGAI, H. Surtos populacionais de *Bemisia tabaci* no Estado de São Paulo. **Bragantia**, v. 53, n. 1, p. 5 3 -5 9, 1994.

MELO, P. C. T. Mosca-branca ameaça produção de hortaliças. Campinas: Asgrow do Brasil Sementes. 2 p. 1992.

MOREIRA, A.N. et al. Parasitoides de *Bemisia argentifolii* em tomateiro e videira no submédio do vale São Francisco. In: ENCONTRO LATINO-AMERICANO E DO CARIBE SOBRE MOSCAS BRANCAS E GEMINIVIRUS, 8., Recife, 1999. p.147.

MCAUSLANE, H. K. Featured creatures: *Bemisia tabaci* (Gennadius) or *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring (Insecta: Hemiptera: Aleyrodidae). Gainesville: University of Florida, 2009. Disponível em: <http://entnemdept.ufl.edu/creatures/veg/leaf/silverleaf_whitefly.htm>. Acesso em: dez. 2016.

NAGATA, T., et. al. Isolation of a novel Carla vírus from melon in Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p. 251-252, 2003.

NAVAS-CASTILLO, J.; FIALLO-OLIVÉ, E.; SÁNCHEZ-CAMPOS, E. Emerging Virus diseases transmitted by whiteflies. **Annual Review of Phytopathology**, v. 49, p. 219-248, 2011.

NECHOLS, J.R.; TAUBER, M.J. Age specific interactions between the greenhouse whitefly and *Encarsia formosa*: Influence of host on the parasite's oviposition and development. **Environmental Entomology**, v. 6, p. 143-149, 1977.

NIKOLSKAYA, M. N.; YASNOSH, V. A. Aphelinids of the European part of the USSR and the Caucasus (Hymenoptera, Aphelinidae). Nauka: Opredelitelipofaune SSSR, 91Moscow & Leningrad, 1966. 296 p.

NORDLUND, D.A.; LEWIS, W.J. Terminology of chemical releasing stimuli in intraspecific and interspecific interactions. **Journal of Chemical Ecology**, v. 2 p.211–220, 1976.

OLIVEIRA, F.I.C. et al. A cultura do melão. Sistemas de produção de melão no Brasil. In: FIGUEIRÊDO, M. C. B. de; GONDIM, R. S.; ARAGÃO, F. A. S. de (Ed.). Produção de melão e mudanças climáticas: sistemas conservacionistas de cultivo para redução das pegadas de carbono e hídrica. Brasília, DF: Embrapa p. 17-32, 2017.

OLIVEIRA, M. R. V. et al. Inimigos naturais coletados nas populações de *Bemisia tabaci* Raça B e *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae). In: ENCONTRO LATINO AMERICANO E DO CARIBE SOBRE MOSCAS-BRANCAS E GEMINIVIRUS, 7., Recife-PE. Anais. Recife-PE: IPA, p. 122, 1999.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. Controle biológico: terminologia. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (Ed.). Controle biológico no Brasil: predadores e parasitoides. São Paulo: Manole, 2002. p. 1-16

PAVIS, C.; HUC, J. A.; DELAVERE, G.; BOISSOT, N. (2003). Diversity of the parasitoids of *Bemisia tabaci* B-biotype (Hemíptera: Aleyrodidae) in Guadeloupe Island (West Indies). **Biological Control**, v. 32, n. 3, p.608-613, 2003.

PEREIRA, W. de B. SOUSA, J. S. C., SANTOS, M.E.P dos, SIMÕES, W. L. Produção do melão “amarelo” submetido a distintos sistemas de irrigação e mulching em Petrolina-PE. IV INOVAGRI International Meeting, 2017

PESSOA, R; ROSSI, G.R.; BUSOLI, A.C. Transgenic Cotton-Fed *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae) Affects the Parasitoid *Encarsia desantisi* Viggiani (Hymenoptera: Aphelinidae) **Neotropical Entomology**, v.45, p.102–106, 2016.

PINTO-ZEVALLOS, D. M. et. al. Compostos orgânicos voláteis na defesa induzida das plantas contra insetos herbívoros. **Química Nova**, v.36, p. 1395-1405, 2013.

PRABHAKER, N. et. al. Resistance monitoring of the sweet potato whitefly (Homoptera:Aleyrodidae) in the Imperial Valley of California. **Journal of Economic Entomology**, v. 85, n. 4, p. 1063-1068, 1992.

PRICE, P. W. **Insect ecology**. New York, Wiley-Interscience. 1984. 607p.

PUTMAN, R. J. **Community ecology**. London: Chapman & Hall, 1994. 178p.

QUINTELA, E. D.; SANCHEZ, S. E. M.; YOCOYAMA, M. Parasitismo de *Encarsia* sp. (Hymenoptera: Aphelinidae) sobre *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) (Homoptera: Aleyrodidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 21, n. 3, p. 471- 475, 1992.

RAGUSO, R. A. Advances in Insect Chemical Ecology; Cardé, R. T.; Millar, J. G., eds.; Cambridge University Press: Cambridge, 2004, cap. 5

RIFFEL, A.; COSTA, J.G. Os voláteis de plantas e o seu potencial para a agricultura Aracaju: **Embrapa Tabuleiros Costeiros**, 2015. 48 p.

SECEX (SECRETARIA DE COMÉRCIO EXTERIOR DO MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO, INDÚSTRIA E COMÉRCIO EXTERIOR) (2018). Disponível em: <http://portal.siscomex.gov.br/informativos/noticias/exportacao>. Acesso em: 04 abr. 2018.

SENAR. Cultivo de melão: manejo, colheita, pós-colheita e comercialização. Serviço Nacional de Aprendizagem Rural - **SENAR** – Brasília.104 p., 2007.

SILVA, H. R.; COSTA, N. D. Introdução. In: SILVA, H. R.; COSTA, N. D. Melão: Produção Aspectos Técnicos. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica: Embrapa Hortaliças; **Petrolina: Embrapa Semiárido**, 2003. p. 13-14. (Frutas do Brasil, 33).

SIMMONS, A.M.; MCCREIGHT, J.D. Evaluation of melon for resistance to *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae). **Journal of Economic Entomology**, v.89, p.1663-1668, 1996.

SIMMONS, A.M.; MCCUTCHEON, G.S. Daily foraging incidence of *Encarsia pergandiella* (Hymenoptera: Aphelinidae) on cowpea. **Journal of Entomology Science**, v. 36, p.218-221, 2001.

SIMMONS, A.M.; ABD-RABOU, S.; MCCUTCHEON, G. Incidence of parasitoids and parasitism of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) in numerous crops. **Environmental Entomology**, v. 31, n.6, p.1031-1036, 2002

SILVA, A. G. DA et al. Interação Tritrófica: Aspectos Gerais E Suas Implicações No Manejo Integrado De Pragas. **Nucleus**, v. 9, n. 1, p. 35–47, 2012.

SILVEIRA, C. A. O. Novo ritmo da proteção: mosca-branca. **In: SEMANA INTERNACIONAL DE FRUTICULTURA BRASILEIRA**, 7, Fortaleza, 2000, Fortaleza: Sociedade de Fruticultura Brasileira, p. 1-4, 2000.

SCHMIDT, S.; NAUMANN, I. D.; BARRO, P. J. *Encarsia* species (Hymenoptera: Aphelinidae) of Australia and the Pacific Islands attacking *Bemisia tabaci* and *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae) - a pictorial key and descriptions of four new species. **Bulletin of Entomological Research**, v.91, p.369387, 2001

SPEYER, E.R. Biological control of the greenhouse whitefly. **Nature**, v.76, p. 1009-1010, 1930.

SUAREZ, L. et al. biología comparada de dos especies del género *Encarsia* (Hymenoptera: Aphelinidae) parasitoides de *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae). **Revista facultad de ciencias básicas**, v. 6, n. 2, p. 152–161, 2010.

SÜTTERLIN, S.; VAN LENTEREN, J.C. Influence of hairness of *Gerbera jamensonii* on the searching efficiency of the parasitoid *Encarsia formosa*. **Biological Control**, n.9, p.157-165, 1997.

TORRES, L.C. et al. Records of natural enemies of *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae) biotype B in Brazil. **Neotropical Entomology**, v.43, p.189-191, 2014.

THULER, R. T. et al. Interação tritrófica e influência de produtos químicos e vegetais no complexo: brássicas x traça-das-crucíferas x parasitoides de ovos. **Ciência Agrotecnologia**, v.32, p.1154-1160, 2008.

VAN LENTEREN, J.C. Integrated pest management in protected crops. In: DENT, D. R. (Ed.). Integrated pest management: principles and systems development. London: Chapman & Hall, p. 311-343, 1995.

VAN LENTEREN, J.C.; WOETS, J. Biological and integrated control in greenhouses. **Annual Review of Entomology**, v. 33, p. 239-269, 1988.

VAN LENTEREN, J. C.; HULPAS-JORDAAN, P.M. *Encarsia formosa* can control greenhouse whitefly at low temperature regimes. IOBC/WPRS Bull. v.10, p.87-91, 1987.

VET, L.E.M.; VAN LENTEREN, J.C.; WOETS, J. The parasite-host relationship between *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera: Aphelinidae) and *Trialetrodes vaporariorum* (Westwood) (Homoptera: Aleyrodidae). IX. A review of the biological control of the greenhouse whitefly with suggestions for future research. **Journal of Applied Entomology**, v.90, p. 26-51, 1980.

VIGGIANI, G. Le specie italiane Del genere *Encarsia* Foerster (Hymenoptera: Aphelinidae). **Bollettino del Laboratorio di Entomologia Agraria "Filippo Silvestri"**, v. 44, p.121-179, 1987.

VILELA, E. F.; DELLA LUCIA, T. M. C. Feromônios de insetos: biologia, química e emprego no manejo de pragas. 2. ed. Ribeirão Preto: **Holos**. 206 p., 2001.

VILLAS BÔAS, G.L.; BUSO, J.A.; VIEIRA, J.V. Avaliação de genótipos de melão para resistência à mosca branca. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 20., 2004, Gramado. Resumos... Gramado: Sociedade Entomológica do Brasil. p.578.

VILLAS BÔAS, G. L.; CASTELO BRANCO, M. Manejo Integrado da Mosca-Branca (*Bemisia tabaci* biótipo B) em Sistema de Produção Integrada de Tomate Indústria (PITI). Brasília- DF, 2009. Disponível em: http://bbeletronica.cnph.embrapa.br/2009/ct/ct_70.pdf. Acesso em: 16 Jun. de 2017.

VILLAS BÔAS, G. L.; FRANÇA, F. H.; ÁVILA, A. C. de; BEZERRA, I. C. **Manejo integrado da mosca- branca *Bemisia argentifolii***. Brasília, DF: EMBRAPA CNPH, 1997. 11 p. (EMBRAPA-CNPH. Circular Técnica da Embrapa Hortaliças, 9).

WARDLOW, L.R.; LUDLAM, A.B.; BRADLEY, L.F. Pesticide resistance in glasshouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum* Westw.). **Pesticide Science**, v.7, p. 320-324, 1976

ZCHORI-FEIN, E. et al. A newly discovered bacterium associated with parthenogenesis and a change in host selection behavior in parasitoid wasps. **National Academy of Sciences**, v. 98, n.22, p.12555-12560, 2001.