



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



DOMINGOS LUSITÂNEO PIER MACUVELE

**ATIVAÇÃO DE MECANISMO DE DEFESA VEGETAL DO FEIJÃO CAUPI *VIGNA
UNGUICULATA*(L.) WALP. (FABACEAE) PELA CIS-JASMONA PARA
RESISTÊNCIA AO PULGÃO PRETO, *APHIS CRACCIVORA* (HEMÍPTERA:
APHIDIDAE), KOCH 1854**

DOMINGOS LUSITÂNEO PIER MACUVELE

**ATIVAÇÃO DE MECANISMO DE DEFESA VEGETAL DO FEIJÃO CAUPI *VIGNA*
UNGUICULATA(L.) WALP. (FABACEAE) PELA *CIS*-JASMONA PARA
RESISTÊNCIA AO PULGÃO PRETO, *APHIS CRACCIVORA* (HEMÍPTERA:
APHIDIDAE), KOCH 1854**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química e Biotecnologia do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências.

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

Coorientadora: Profa. Dra. Roseane Cristina Prêdes
Trindade

Maceió - AL
2013

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale

M175a Macuvele, Domingos Lusitâneo Pier.

Ativação do mecanismo de defesa vegetal do feijão caupi *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (Fabaceae) pela Cis-josmona para resistência ao pulgão preto, *Aphis craccivora* (Hemiptera: Aphididae), Koch 1854 / Domingos Lusitâneo Pier Macuvele. – 2013.

94 f. : il.

Orientador: Antonio Euzébio Goulart Sant’Ana.

Co-Orientadora: Roseane Cristina Prêdes Trindade.

Dissertação (Mestrado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2013.

Bibliografia: f. 82-94.

1. Feijão caupi. 2. *Vigna unguiculata* (L.). 3. Cis-jasmona. 4. *Aphis craccivora*. 5. Ecologia química. 6. Pragas agrícolas. I. Título.

CDU: 595.754



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

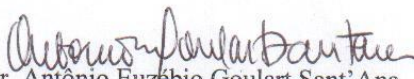


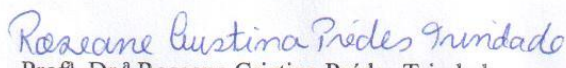
BR 104 Km14, Campus A. C. Simões
Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins
57072-970, Maceió-AL, Brasil
Fone: (82) 3214-1384
email: ppgqb.ufal@gmail.com

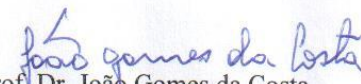
FOLHA DE APROVAÇÃO

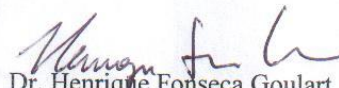
Membros da Comissão Julgadora da Dissertação de Mestrado de **Domingos Lusitâneo Pier Macuvele** intitulada: “**Ativação de mecanismo de defesa vegetal do Feijão Caupi *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (Fabaceae) pela *Cis-Jasmona* para resistência ao Pulgão Preto, *Aphis craccivora* (Hemiptera: Aphididae), Koch 1854”**, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas em 28 de fevereiro de 2013, às 14h00, no Auditório do Núcleo de Pesquisa Multidisciplinar da UFAL.

COMISSÃO JULGADORA


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


Prof. Dr.ª Roseane Cristina Prêdes Trindade
CECA/UFAL


Prof. Dr. João Gomes da Costa
EMBRAPA/PPGQB/UFAL


Dr. Henrique Fonseca Goulart
PNPD/CAPES/UFAL


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

Dedico este trabalho aos meus pais e irmãos.

AGRADECIMENTOS

À DEUS pelo amparo em todos momentos.

Aos meus pais Pinare Domingos Francisco Macuvele (in *memorian*) e Laurentina Vamajane Uamusse, aos meus irmãos e as minhas Tias em especial a Ana Paula Dulamo.

Ao Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana pelo apoio desde o momento que cheguei à Universidade Federal de Alagoas (UFAL), pelo conhecimento passado de uma forma prática, por ser essa ciência ambulante que tanto nos incentiva a buscar conhecimentos através da leitura, por todas as oportunidades oferecidas sem medir esforços é que agradeço sua bondade e amizade. O meu muito obrigado.

À Profa. Dra. Roseane C. Trindade Prêdes (Co-Orientadora), pelo apoio em todos momentos da realização do trabalho.

À Profa. Dra. Marília Oliveira Fonseca Goulart, pelo apoio em todos momentos que precisei desde a minha chegada tardia de Moçambique até hoje. Não existem palavras que cabem para agradecer. Sua colaboração foi e continua sendo fundamental. Muito obrigado de coração.

Ao amigo Dr. João Gomes da Costa pela amizade, pela paciência e bondade de sempre estar contribuindo, mesmo quando não podia. Sua colaboração foi de fundamental importância.

À Profa. Dra. Fabiane Caxico, pela paciência incansável em me fornecer informações que culminaram com a minha chegada aqui em Brasil.

Aos colegas do Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais: Alessandro Riffel, Andréa Vanderlei, Benísio Silva, Carla Karine Barbosa Pereira Daniel Lira, Daniel Moraes, Danniele Lima, Edjane Vieira Pires Érica Verena, Grazielle Silmara, Henrique Goulart, Isis Torres, Ingrid Sofia Vieira, Jaim Oliveira, Júnia Porto, Karlos Ribeiro, Kirley Marques, Luciana Viana, Maria Jaqueline dos Santos, Maria José, Mariana Oliveira, Pedro Aquino, Thiago Ribeiro, Wbyratan Luiz da Silva, Vanderson Barbosa e os demais que já passaram por aqui, em outros tempos, onde vivemos em uma grande família, com confissões, alegrias,

comilanças, discussões acadêmicas, liberdades, enfim muita diversão e troca de harmonia. A todo esse povo, meu carinho e meu muito obrigado do fundo do meu coração.

Aos colegas do Laboratório de Electroquímica, especialmente o Leonardo Vieira pelo apoio desde a minha chegada e sempre disposto a esclarecer as minhas intermináveis dúvidas.

Aos amigos Aldy dos Santos e Margarida Teodoro sempre presentes nos momentos alegres e difíceis, durante todo o tempo de convivência no dia a dia. A eles meu eterno carinho.

À Secretária do PPGQB Rejane Montenegro, sempre amiga e disposta a ajudar.

Aos Prof. Drs. do PPGQB Fabiane Caxico de Abreu, Lucia Conserva, Margarida Teodoro, Prof. Josealdo Tonholo, Ruth R. de Nascimento, Adriana Santos Ribeiro, Mário Roberto Meneghetti, Paulo dos Santos Roldan, Simoni Margareti Plentz Meneghetti, Sônia Salgueiro Machado, Maria Cristina Caño de Andrade pela amizade e ajuda nas horas mais precisas, meu eterno respeito e gratidão.

À Comissão de Assessoria Internacional da UFAL, Madileide e Prof. Dr. Niraldo.

Ao CNPq, pelo auxílio financeiro, permitindo a realização do meu trabalho e permitindo que percorresse fronteiras em busca de mais saber científico.

Ao Ministério de Ciência e Tecnologia de Moçambique pelo apoio financeiro.

À Reitoria da Universidade Pedagógica de Moçambique pela autorização concedida para dar continuidade aos estudos.

À direção da Universidade Pedagógica Delegação de Niassa pelo amparo durante a minha formação.

Aos Professores Doutores António Armino Monjane e António Suluda, pelo apoio concedido durante a candidatura.

Ao Professor Doutor Gerre Zebedias, pelo apoio moral e material durante os estudos.

Aos amigos que será difícil especificar o nome de cada um por serem tantos.

Enfim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a conclusão desse trabalho.

No meio da dificuldade encontra-se a oportunidade.

Isaac Newton

RESUMO

O feijão caupi, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (Fabaceae), é uma leguminosa importante principalmente na dieta humana, pois este é rico em proteínas, vitaminas e minerais, além de conter todos os aminoácidos essenciais. Apesar de rústico, um dos fatores limitantes para a produção são as pragas, do qual se destaca o pulgão preto, *Aphis craccivora craccivora* Koch 1854 (Hemiptera: Aphididae). O controle desta praga usando inseticidas é eficiente, porém tem implicações de ordem ambiental, econômicas e de segurança. Esses problemas podem ser reduzidos usando várias estratégias para o controle da praga como: plantas resistentes, semioquímicos e indutores de resistência. Por isso o presente trabalho teve como objetivo estudar o papel da *cis*-jasmona na ativação do mecanismo de defesa do feijão caupi para resistência ao pulgão preto. Para tal foram escolhidas três cultivares (TVu408, Vita 7 e Gurguéia). Um conjunto de etapas foram seguidas desde o plantio, a criação do pulgão em laboratório, a avaliação da susceptibilidade das cultivares, aplicação da *cis*-jasmona para ensaios de antibiose, coleta de compostos voláteis antes e depois da infestação, coleta de compostos voláteis após aplicação da *cis*-jasmona, realização de bioensaios comportamentais em relação ao pulgão preto e por último fez-se a identificação de compostos voláteis usando o Cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas e Cromatógrafo gasoso equipado com detector com ionização por chama. As principais conclusões obtidas neste trabalho foram: A cultivar Gurguéia apesar de ser comercial foi considerada suscetível na presente pesquisa juntamente com Vita 7; Os compostos orgânicos voláteis liberados pelas variedades Vita 7 e Gurguéia após aplicação da *cis*-jasmona foram significativamente repelentes ao pulgão preto, *A. Craccivora*; A *cis*-jasmona induziu resistência do tipo antibiose nas cultivares Vita 7 e Gurguéia em teste de semi campo nas concentrações 75g.ha⁻¹ e 100g.ha⁻¹ e os compostos orgânicos voláteis produzidos pelas cultivares Vita 7 e Gurguéia após infestação exerceram efeito atrativo ao pulgão Preto, *A. Craccivora*.

Palavras-chave: *Cis*-jasmona. *A. craccivora*. Ecologia química. Indução de resistência.

ABSTRACT

The cowpea, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (Fabaceae), is an important legume for human diet, it is rich in protein, vitamins, minerals and all essential amino acids, but the big problem in growing of this legume are pests. Among several pests that attack the cowpea, the *Aphis craccivora craccivora* Koch 1854 (Hemiptera: Aphididae), is the principal pest because it can cause indirect damage. The control of this pest using synthetic insecticides is efficient, but has a negative environmental, economic and security impact. These problems can be reduced by using environment-friendly strategies like: Plants resistance, resistance inductors and other semiochemicals. Therefore this job investigated the role of *cis*-jasmones in the activation of defence mechanism of cowpea to be resistant to cowpea aphid, *A. craccivora*. To this, were chosen three cultivars (TVu408, Vita and Gurguéia 7). A series of steps were followed since planting, the creation of the aphid in the laboratory, evaluation of cultivar susceptibility, application of *cis*-jasmones for antibiosis tests, collection of volatile compounds before and after infestation, collection of volatile compounds after application of *cis*-jasmones, performing behavioral bioassays with aphid and finally was done the identification of volatile compounds using a gas chromatograph coupled with mass spectrometry and Gas Chromatograph equipped with flame ionization detector. The main conclusions of this study were: The cultivar Gurguéia, despite being commercial was considered susceptible in this research along with Vita 7; Volatile organic compounds released by the varieties Vita 7 and Gurguéia after application of *cis*-jasmones were significantly repellent to the black aphid, *A. Craccivora*; The *cis*-jasmones induced antibiosis resistance type in the cultivars Vita 7 and Gurguéia in semi-field test of concentrations 75g.ha⁻¹ and 100g.ha⁻¹ and the volatile organic compounds produced by the Vita 7 and Gurguéia, after infestation, exercise attractive effect to the black aphid, *A. Craccivora*.

Keywords: *Cis*-jasmones. *A. craccivora*. Chemical ecology. Resistance induction.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura Química de Imadaclorid (B) e do Carbofurano(A).....	19
Figura 2 - Ciclo de vida de pulgões.....	23
Figura3 - Estrutura química de importantes compostos voláteis envolvidos na defesa indireta. A-Compostos derivados do ácido shiquímico;B-Compostos voláteis de folhas verdes da planta derivados da rota lipoxigenase; C-compostos de origem terpênica.....	25
Figura 4 - Estrutura química de salicilato de metila.....	30
Figura 5 - Estruturas químicas de jasmonato de metila e ácido jasmônico.....	31
Figura 6 - Estrutura química da <i>cis</i> -jasmona.....	31
Figura 7 - Estruturas químicas de substâncias não voláteis produzidas após a aplicação da <i>cis</i> -jasmona em trigo.....	33
Figura 9 - Representação esquemática dos semioquímicos e suas principais subclasses...	35
Figura 10 - Interação tritrófica: planta-herbívro-predador.....	37
Figura 11 - Relação simbiótica entre afídeos e formigas.....	38
Figura 12 - Interação sinomonal via odores florais das orquídeas.....	39
Figura 13 - Push in Pull usando plantas como fonte de sinais químicos.....	40
Figura 14 - Sistema de coleta de compostos voláteis.....	42
Figura 15 – Representação esquemática do Cromatógrafo Gasoso Acoplado ao espectrômetro de massa.....	48
Figura 16 - Típico processo de ionização eletrônica a 70 eV: Formação do cátion radical,seguida de fragmentação e rearranjos moleculares.....	48
Figura 17 - Representação esquemática de alguns eventos durante a ionização química, usando metano como gás reagente.....	49
Figura 18 - Representação esquemática de alguns eventos durante ionização química para formação de íons positivos.....	49
Figura 19 - Representação esquemática de um quadrupolo.....	50
Figura 20 - Rearranjo McLafferty.....	50
Figura 21 - Plantas de feijão caupi em vasos plásticos.....	53
Figura 22 - Esquema ilustrativo de coleta de voláteis.....	56
Figura 23 - Coleta de compostos voláteis por aeração.....	56
Figura 24 - Dessorção por solvente de compostos voláteis.....	57
Figura 25 - Diagrama ilustrando as cinco áreas do olfatômetro de 4 braços.....	58

Figura 26 - Esquema ilustrando o olfactômetro de quatro braços.....	58
Figura 27 - Detalhe do bioensio com olfactômetro de 4 braços.....	59
Figura 28- Detalhe da gaiola utilizada para o estudo de antibiose do pulgão preto em feijão caupi.....	60
Figura 29- Resposta comportamental do pulgão preto <i>A. craccivora</i> aos compostos orgânicos voláteis emitidos pelas palntas testemunhas (COVs –RPT) das cultivares TVu 408, Gurguéia e Vita 7 e em relação ao hexano (controle). O <i>A. craccivora</i> foi observado por 16 minutos (N=20). A altura no gráfico de barras corresponde ao tempo médio gasto pelo inseto em cada braço do olfatômetro. As respostas comportamentais do inseto foram analisadas por ANOVA e seguida pelo Teste de Tukey ($P<0.05$).....	64
Figura 30 - Resposta comportamental do pulgão preto <i>A. craccivora</i> aos voláteis emitidos pela cultivar Guruguéia após infestação (COVs-PAI) em relação ao hexano (controle), no olfatômetro de quatro braços em olfatômetro. O <i>A. craccivora</i> foi observado por 16 minutos (N=20). (A)-24horas; (B)-48horas e (C)-72horas A altura no gráfico de barras corresponde ao tempo médio gasto pelo inseto em cada braço do olfatômetro. As respostas comportamentais do inseto foram analisadas por ANOVA e seguida pelo Teste de Tukey ($P<0.05$).....	66
Figura 31 - Resposta do pulgão preto <i>Aphis craccivora</i> aos voláteis emitidos pela cultivar Vita 7 após infestação (COVs-PAI) em relação ao hexano, no olfatômetro de quatro braços. (A)-24horas; (B)-48horas e (C)-72horas. O <i>A. craccivora</i> foi observado por 16 minutos (N=20). A altura no gráfico de barras corresponde ao tempo médio gasto pelo inseto em cada braço do olfatômetro. As respostas comportamentais do inseto foram analisadas por ANOVA e seguida pelo Teste de Tukey ($P<0.05$).....	67
Figura 32- Resposta comportamental do pulgão preto <i>A. craccivora</i> aos compostos orgânicos voláteis emitidos pela cultivar Vita 7 após aplicação da <i>cis</i> -jasmona (COVs-CJ) em relação ao hexano (controle) em olfatômetro. O <i>A. craccivora</i> foi observado por 16 minutos (N=20). A altura no gráfico de barras corresponde ao tempo médio gasto pelo inseto em cada braço do olfatômetro. As respostas comportamentais do inseto foram analisadas por ANOVA e seguida pelo Teste de Tukey ($P<0.05$). N=20).....	73

Figura 33- Resposta comportamental do pulgão preto <i>A. craccivora</i> aos compostos orgânicos voláteis emitidos pela cultivar Gurguéia após aplicação da cis-jasmona (COVs-CJ) em relação ao hexano (controle) em olfatômetro. O <i>A. craccivora</i> foi observado por 16 minutos (N=20). O asteristico indica a existência de diferenças significativas. A altura no gráfico de barras corresponde ao tempo médio gasto pelo inseto em cada braço do olfatômetro. As respostas comportamentais do inseto foram analisadas por ANOVA e seguida pelo Teste de Tukey ($P < 0.05$).....	74
Figura 34- Efeito da dose de cis-jasmona sobre a biologia do pulgão preto na cultivar do feijão caupi, Vita 7. (avivost- adultos vivos totais).....	78
Figura 35 - Efeito da dose de cis-jasmona sobre a biologia do pulgão preto na cultivar do Feijão caupi, Gurguéia (avivost-adulto vivos totais).....	79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Número médio de adultos, ninfas e ninfas por adulto do pulgão preto, <i>A craccivora</i> , em 3 cultivares de feijão caupi, <i>V. unguiculata</i> . (ANOVA, a 5% de probabilidade).....	62
Tabela 2 -	Compostos orgânicos voláteis emitidos pelas três cultivares de feijão caupi sem nenhum tratamento.....	65
Tabela 3 -	Compostos voláteis liberados pelo feijão caupi, cultivar Gurguéia após a infestação pelo pulgão preto.....	68
Tabela 4 -	Compostos voláteis liberados pelo feijão caupi, cultivar Vita 7 após a infestação pelo pulgão preto, <i>A. craccivora</i>	69
Tabela 5 -	Compostos orgânicos voláteis emitidos pela cultivar Vita 7 após aplicação de <i>cis</i> -jasmona.....	74
Tabela 6 -	Compostos orgânicos voláteis emitidos pela cultivar Gurguéia após aplicação de <i>cis</i> -jasmona.....	75

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	REVISÃO.....	21
2.1	Feijão caupi.....	21
2.2	Pulgão preto.....	22
2.3	Interação inseto-planta.....	24
2.3.1	Localização do hospedeiro.....	25
2.3.3	Resposta de plantas ao ataque de insetos.....	26
2.4	Resistência de plantas a insetos.....	26
2.4.1	Indução de resistência.....	28
2.4.2	Indutores de resistência.....	29
2.5	Semioquímicos.....	34
2.5.1	Classificação de semioquímicos.....	34
2.5.1.1	Aleloquímicos.....	35
2.5.1.1.1	Alomônios.....	35
2.5.1.1.2	Cairomônios.....	35
2.5.1.1.3	Sinomônios.....	36
2.5.1.2	Feromônios.....	36
2.6	Compostos voláteis de plantas no Manejo Integrado de Praga.....	40
2.6.1	Compostos voláteis na estratégia “Push in Pull”.....	40
2.6.2	Controle Biológico.....	41
2.7	Metodologias usadas no estudo de semioquímicos.....	23
2.7.1	Coleta de semioquímico.....	41
2.7.1.1	Aeração.....	42
2.7.1.2	Microextração em fase sólida.....	43
2.7.2	Identificação de semioquímicos.....	43
2.7.2.1	Cromatografia gasosa.....	43
2.7.2.2	Quantificação de semioquímicos.....	45
2.7.2.3	Espectrometria de massas.....	47
2.7.2.4	Cromatografia Gasosa Acoplada à Eletroantenografia.....	50
2.7.2.5	Química Orgânica Sintética na Identificação de Semioquímicos.....	51
2.7.3	Bioensaios Comportamentais.....	51
3	PARTE EXPERIMENTAL.....	53

3.1	Condução das plantas do feijão caupi.....	53
3.2	Obtenção e criação do pulgão em laboratório.....	53
3.3	Avaliação da susceptibilidade das cultivares do feijão caupi.....	53
3.4	Aplicação da <i>Cis-jasmona</i>	54
3.5	Coleta de Compostos orgânicos voláteis.....	54
3.6	Bioensaios em olfatômetro.....	57
3.7	Análise de compostos voláteis.....	59
3.8	Ensaio de de antibiose em casa de vegetação.....	60
3.9	Análise estatística.....	61
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	62
4.1	Avaliação da susceptibilidade das cultivares do feijão caupi.....	62
4.2	Ação de compostos voláteis obtidos das plantas de feijão caupi testemunhas	
4.3	Ação dos voláteis produzidos após a infestação do feijão caupi sobre o comportamento do pulgão preto.....	66
4.4	Ação dos voláteis produzidos após aplicação da <i>cis-jasmona</i> no feijão caupi sobre o pulgão preto.....	72
4.5	Avaliação do efeito da <i>cis-jasmona</i> sobre a biologia do pulgão preto	79
5	CONCLUSÃO.....	80
	PERSPECTIVAS FUTURAS.....	81
	REFERÊNCIAS.....	82

1 INTRODUÇÃO

O feijão caupi, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (Fabaceae) é principalmente cultivado na África tropical e os grãos constituem uma fonte importante de proteínas na dieta humana. Esta cultura é extensivamente produzida em 16 países Africanos dos quais Nigéria e Níger, produzem cerca de 2,9 milhões e 1,5 milhões de toneladas por ano, que representa cerca de 75% da produção mundial (FAO, 2010). Esta cultura também é comum na América Latina, Ásia e parte dos Estados Unidos da América do Norte (IITA, 2010). Esta cultura é praticada principalmente por pequenos agricultores das regiões Norte e Nordeste do Brasil, sendo uma das principais alternativas sociais e econômicas de suprimento alimentar, especialmente para a população rural (FREIRE FILHO et al., 2005).

Segundo Moraes (2007), o feijão caupi é uma alternativa social e econômica, devido à possibilidade de geração de emprego e fornecimento alimentar rico em proteína, principalmente para populações rurais. Sua importância como fonte proteica, reside nos teores detectados nos grãos, pois segundo Silva et al. (2002), a composição química de 45 genótipos de feijão caupi apresenta teores de proteínas variando de 20,29 a 29,29%. Por isso esta cultura é considerada a “carne de pobres”, para populações de baixa renda, pois devido a sua riqueza em proteínas pode substituir a carne (IITA, 2010). Por outro lado é importante referenciar que todas as partes do feijão caupi, exceto as raízes são usadas para alimentação e são ricas em vitaminas, proteínas e minerais (ABEBE; HATTAR; AL-TAWAHA, 2005).

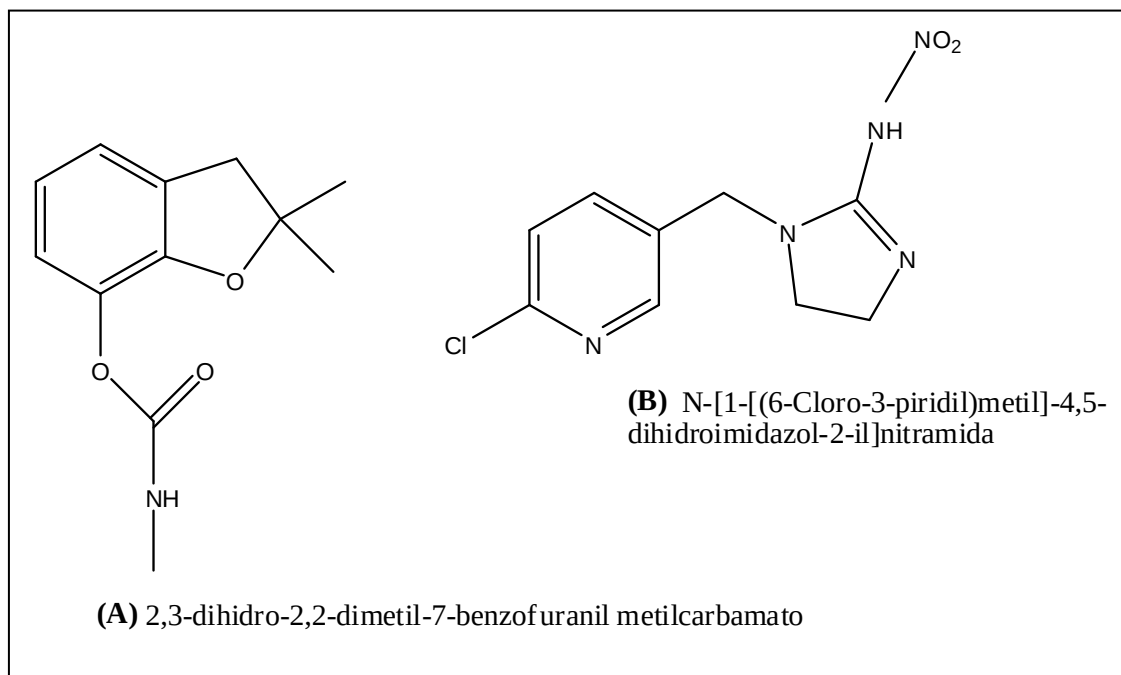
Apesar da extensa área de produção do feijão caupi na África, o rendimento por hectare (produtividade) é relativamente pequeno. Estima-se que o rendimento médio em monocultura é cerca de 1500Kg/ha nos Estados Unidos da América, 650Kg/ha na América do Sul, mas muitas vezes abaixo de 400Kg/ha na Nigéria e nos outros países Africanos (OMONGO et al., 1997). O maior problema biológico na produção do feijão caupi na África é a alta infestação e danos causados por vários insetos pragas no campo e durante o seu armazenamento (SINGH et al., 1990; KARUNGI et al., 1999;). Em campos exclusivamente de feijão caupi sem uso de inseticidas as perdas do rendimento variam de 20%-100% (YOUDEOWEI, 1989). O pulgão preto, *Aphis craccivora* Koch 1854 (Hemiptera: Aphididae), é considerado a principal praga do feijão caupi em África, Ásia e América Latina (RAKHSHANI, 2005). Outras espécies de afídeos, incluindo *A. fabae scopoli*, *A. gossypii* Glover, *Myzus persicae* (Sulzer) e *Picturaphis brasiliensis* Moreira atacam o feijão caupi, mas

não causam danos econômicos significativos (SINGH, 1990; SILVA et al., 2005). Leguminosas e uma vasta gama de espécies cultivadas são hospedeiros do *A. craccivora*, mas o inseto não é restrito para esta família (JABA et al., 2010). Estudos de preferência do hospedeiro, mostraram que o feijão caupi é que proporciona melhores condições para o desenvolvimento e reprodução do *A. craccivora* (JABA et al., 2010).

Esse inseto pode atacar plântulas, as quais murcham e podem até morrer, enquanto que as plantas mais velhas podem paralisar seu crescimento, com deformação de folhas e redução no número de vagens. A presença desta praga causa danos indiretos devido a transmissão de viroses (THOTTAPPILLY, 1990; SCHREINER, 2000; LIMA; STOLLIN; LIMA, 2005; OBOPILE, 2006; ORAWU et al. 2013) e também pode deixar secreções que propiciam o desenvolvimento de fungos que deixam uma camada que interfere nos processos fotossintéticos (WATANABE; KITAGAWA, 2000; SHELTER, 2001). Essa secreção sendo rica em açúcares e aminoácidos pode propiciar o aparecimento de formigas que protegem o pulgão dos inimigos naturais (VOLK, 1992; YAO et al., 2010).

Neste âmbito, para controlar a população desta praga o uso de inseticida tem sido eficiente, pois os afídeos são susceptíveis a muitos inseticidas (ANDREI, 2005). Muitos inseticidas têm sido descritos em referências como sendo eficientes no controle do *Aphis craccivora* (OFUYA, 1997). A aplicação no solo de grânulos de 2,3-dihidro-2,2-dimetil-7-benzofuranil metilcarbamato (carbofurano) (Figura 1 A) controla de forma eficiente a infestação do feijão caupi por pulgão preto (OFUYA, 1997). Outra classe de inseticidas promissores no controle de pulgões são os neocotinóides, como *N*-[1-[(6-Cloro-3-piridil)metil]-4,5-dihidroimidazol-2-il]nitramida (imidacloprid) (Figura 1 B) (ZEWEN et al., 2003). Por outro lado, o uso de inseticidas tem implicações de ordem ambiental e saúde (TORKEY et al., 2009) e econômica, pois agricultores que exploram o feijão caupi muitas vezes são pequenos produtores, que fazem da produção de feijão caupi ~~como~~ fonte de geração de emprego (FREIRE FILHO et al., 2005).

Figura 1- Estruturas químicas de Carbofurano (A) e do Imadacloprid (B).



Fonte: ZHAO et al., 2010.

Em razão do grande volume de agrotóxicos utilizados nesta cultura e dos seus efeitos adversos, como o surgimento de biótipos resistentes, táticas do manejo integrado de pragas (MIP) ganham ênfase, como uso de variedades resistentes (HALL, 2003; OBOPILE; OSITILE, 2010) e de semioquímicos, em particular os que induzem a resistência. Tais práticas têm demonstrado boa capacidade de redução da população de insetos-praga, trazendo benefícios socioeconômicos e ambientais (VENDRAMIM, 1984; LARA, 1991; GALLO et al., 2002).

O emprego de plantas resistentes, de modo geral, é compatível com outros métodos de controle de pragas, pois permite a manutenção de pragas em níveis inferiores ao de dano econômico além de contribuir para a redução da aplicação de defensivos e, consequentemente, na redução nos custos de produção (LARA, 1991; VENDRAMIM, 1984). O Instituto Internacional de Investigação de Agricultura Tropical da Nigéria identificou algumas variedades de *V. unguiculata* resistentes a *A. craccivora* tais como: TVu36, TVu408, TVu410, TVu 801, Tvu 2896 e TVu 3000 (SINGH, 1977; JACKAI; DAOUST, 1986; SINGH, 1988). A resistência dessas variedades foi descrita como sendo por antibiose (OFUYA, 1988; SILVA, 2012).

A ativação de mecanismos de defesa em plantas por meio dos seus próprios sinais químicos oferece uma nova forma de controle de pragas. Recentemente, pesquisas têm mostrado que o constituinte volátil comum a várias plantas, *cis*-jasmona, pode ativar as defesas vegetais tornando-as menos atrativas aos insetos herbívoros, e mais atrativos a inimigos naturais destas pragas, como por exemplo, vespas parasitóides (BIRKETT et al., 2000; COSTA, 2010; HEGDE et al., 2012). Foi demonstrado que o uso da *cis*-jasmona em campo reduziu populações de pulgão dos cereais *Sitobion avenae* (BRUCE; PICKET; SMART, 2003).

Atualmente foram descobertas as propriedades semioquímicas da *cis*-jasmona, considerado mais versátil (BIRKETT et al., 2000; BRUCE et al., 2003). Este produto, além de ter revelado propriedades repelentes para alguns pulgões de clima temperado, também se mostrou atrativo aos seus inimigos naturais, notadamente joaninhas e parasitóides (BIRKETT et al., 2000), ativando desta forma o terceiro nível trófico, responsável pelo controle biológico dos fitófagos. Trabalhos atuais tem revelado o papel da *cis*-jasmona no controle de insetos praga (HEDGE et al., 2012, DEWHIRST et al., 2012; VIERA et al., 2013).

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo estudar o papel da *cis*-jasmona na ativação de mecanismo da defesa do feijão caupi para a resistência ao pulgão preto, *A. craccivora*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Feijão caupi

O feijão, *V. unguiculata*, tem vários nomes vulgares no Brasil, sendo conhecido como feijão-macaçar e feijão-caupi na região Nordeste. Feijão-da-colônia, feijão-de-praia e feijão-de-estrada na região Norte e, feijão-miúdo na região Sul. É também chamado de feijão-catador e feijão-gurutuba em algumas regiões da Bahia e no norte de Minas Gerais, e de feijão-fradinho nos estados da Bahia e do Rio de Janeiro. Foi introduzido primeiramente na Bahia, no século 16, por colonizadores espanhóis e portugueses e a partir daí se difundiu para as outras regiões do país (FREIRE FILHO, 2005).

O feijão-caupi é uma leguminosa rústica com grande capacidade produtiva, sendo mais bem adaptado do que o feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) (Fabaceae) às condições climáticas dos trópicos semi-árido, úmido e subúmido. É cultivado principalmente por pequenos agricultores nas Regiões Nordeste e Norte do País, sendo uma das principais alternativas sociais e econômicas de suprimento alimentar e geração de emprego, especialmente para as populações rurais, e ainda a principal fonte protéica vegetal para a população (QUINTELA et al., 1991; FREIRE FILHO et al., 2005).

O grão seco para o consumo humano é o principal produto do feijão caupi, mas as folhas são utilizadas no leste da África, feijão fresco no sudeste dos EUA e Senegal e vagens nas regiões úmidas da Ásia e Caribe também são consumidos. Além disso, a cultura também é usada para adubação verde (Sudeste dos EUA e Austrália) e como forrageira nas partes do Sahel (OFUYA, 1997; ABEBE, 2005).

Dentre vários fatores que comprometem sua produção são as pragas, tais como *A. fabae*, *A. gossypii*, *M. persicae* e *P. brasiliensis* das quais se destaca o pulgão preto *A. craccivora*, pois além de sugar a seiva, transmite viroses que inibem o desenvolvimento da própria planta (OFUYA, 1997).

Estudos conduzidos no Instituto de Investigação da Agricultura Tropical, Nigéria identificaram cultivares resistentes a *Aphis craccivora* Koch tais como TVu 36, TVu 408, TVu 410, TVu 801, TVu 2896 e TVu 3000. (SINGH, 1977), sendo confirmada largamente na Ásia e África (OFUYA, 1988; SILVA, 2012).

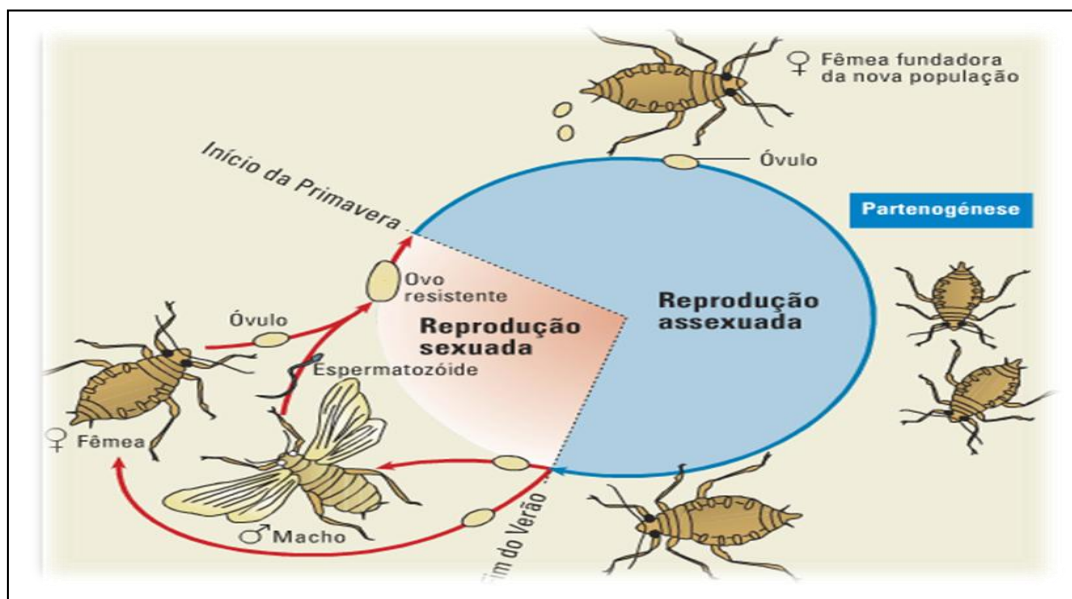
A resistência de certas cultivares apenas é útil por algum tempo, visto que após seis meses o nível de dano de plantas resistentes aproxima-se ao de plantas susceptíveis (OFUYA, 1997). Esta resistência é bastante útil em muitos países em desenvolvimento, mas apenas esta tática para o manejo de pragas não é suficiente para fornecer uma alta qualidade de grãos para distintos mercados (EHLERS; HALL, 1997).

O controle químico tem sido promissor, mas existe a questão ambiental, de resistência do inseto (HAN; LI, 2004), e de contaminação que pode chegar até ao homem. Por isso, estudos que visam o desenvolvimento de estratégias mais limpas de controle de pragas são de extrema importância (EHLERS; HALL, 1997). Pirróis e dipirróis neocotinínoídes fundidos tem sido descritos como substâncias que tem efeito deletério sobre o pulgão preto (YE et al., 2012).

2.2 Pulgão preto

O pulgão preto *A. craccivora* é um inseto pequeno, com no máximo cinco mm de comprimento, de coloração que varia do amarelo claro ao preto brilhante, corpo ovalado e apresentando no abdome, dois apêndices tubulares laterais chamados sifúnculos e um central chamado de codícola. Os ovos desenvolvem-se dentro da fêmea e as ninfas nascem vivas. Dentro de poucos dias a população pode aumentar rapidamente. Nas fases iniciais da infestação os pulgões adultos não têm asas, entretanto quando a planta fica muito infestada as asas são formadas para seguirem ao encontro de outras plantas não infestadas para garantir a existência das gerações subsequentes. Nos trópicos estes afídeos reproduzem-se sem acasalamento e colônias são constituídas inteiramente por fêmeas, esta forma de reprodução recebe o nome de partenogênese (Figura 2) (OFUYA, 1997). Os pulgões aparecem logo após o plantio e dispersam-se rapidamente. Este pode ser encontrado em todas as fases desde a fase vegetativa até a reprodução do feijão. Os pulgões são conhecidos por transmitirem viroses, que resultam em perdas enormes do rendimento da produção. Estes têm vários hospedeiros, mas são primeiramente em legumes (SCHREINER, 2000).

Figura 2 - Ciclo de vida de pulgões.



Fonte: < <http://www.netxplica.com/Verifica/figuras/ciclo.vida.pulgoes.png> >

Segundo Ofuya (1997), existem várias formas do controle de pulgão preto tais como: controle cultural, físico, químico, uso de variedades resistentes e biológico. O controle químico é eficiente no controle de afídeos (HAN; LI, 2004). Entretanto este método de controle tem implicações negativas, visto que, não são seletivos, acabam eliminando inimigos naturais e contaminam os lençóis freáticos e pode afetar a saúde do homem (OFUYA, 1997).

O uso de inimigos naturais é promissor, porém esta estratégia no controle de *A. craccivora* não tem sido usado com devida atenção (SINGH et al., 1990). O potencial dos inimigos naturais é dependente das condições climáticas de cada país, visto que, é melhor num país tropical do que no temperado, devido a diversidade de artrópodes onde a atividade prolonga-se durante todo o ano (GULLAN; CRAMSTON, 1994). Vários inimigos para *A. craccivora* já foram identificados como parasitóides, predadores e patógenos (RAKHSHANI et al., 2005). O pulgão preto é atacado por diversos inimigos naturais como, por exemplo, *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Aphidiinae) Viereck, *Lysiphlebus fabarum* (Hymenoptera: Aphidiidae) (Marshall), *Lysiphlebus confusus* (Hymenoptera: Braconidae) Tremblay e Eady, *Lysiphlebus testaceipes* (Hymenoptera: Aphidiidae) (Cresson), *Binodoxys acalephae* (Hymenoptera: Braconidae) (Marshall), *Binodoxys angelicae* (Hymenoptera: Braconidae) (Haliday), *Praon volucre* (Hymenoptera: Braconidae) (Haliday) e *Ephedrus persicae* (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) Froggatt (RAKHSHANI, 2005).

2.3 Interação inseto-planta

Plantas e insetos são organismos que estão continuamente interagindo de forma complexa em ecossistemas naturais. A interação inseto-planta é um sistema dinâmico, sujeito à contínua variação e mudança, não apenas pelas adaptações evolutivas, mas fatores bióticos extrínsecos e abióticos (STOWE, 1998; MELLO; SILVA FILHO, 2002;).

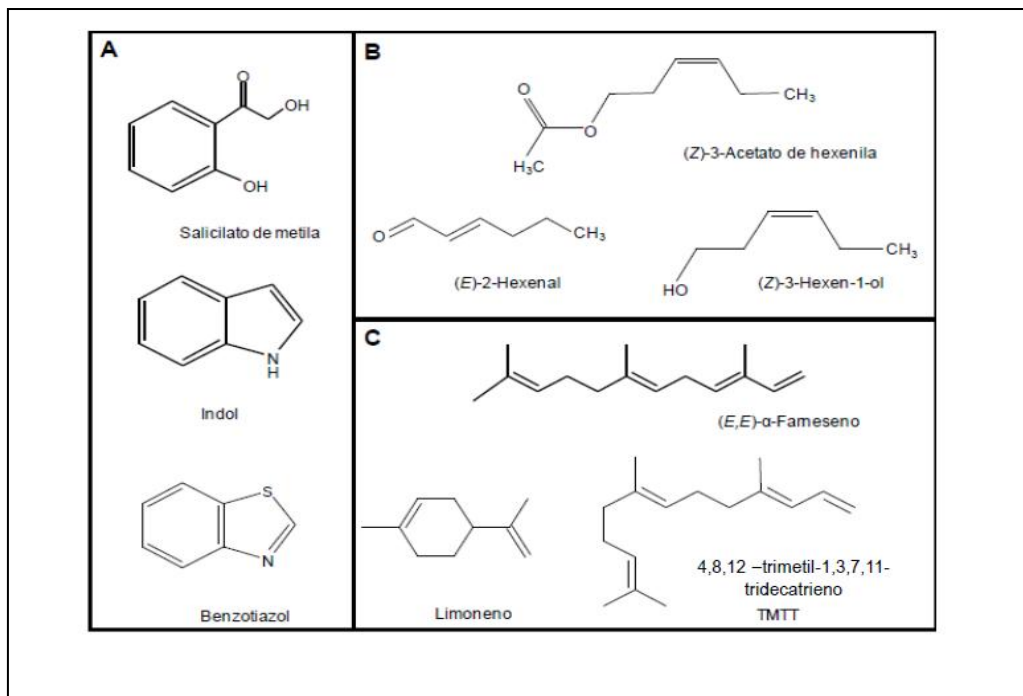
De acordo com Panda e Kush (1995), as plantas e insetos estão associados de forma íntima, pois ambos têm benefícios. As plantas beneficiam-se pela polinização e defesa, enquanto que, os insetos recebem das plantas locais para ovipositar, alimento e abrigo.

Entretanto, após sofrer a injúria as plantas desenvolveram estratégias de defesa ao longo do tempo. Estas estratégias podem ser classificadas como diretas quando imediatamente tiverem uma ação negativa sobre o herbívoro, ou indiretas quando envolvem a ação do terceiro nível trófico, assim cumprindo a sua ação defensiva (PRICE et al., 1980).

As defesas diretas podem prevenir a alimentação dos herbívoros via barreiras físicas como espinhos, tricomas, ceras ou aquelas substâncias do metabolismo secundários não voláteis, por exemplo, (fenilpropanóides, ácidos graxos, alcaloides e terpenóides); ou via proteínas especializadas.

Por outra via as defesas indiretas funcionam atraindo inimigos naturais do herbívoro reduzindo-os na planta hospedeira. Essa é mediada por compostos voláteis que a planta libera quando sofre alguma injúria ou quando entra em contato com substâncias elicitoras (Figura 3) (ARIMURA; KOST; BOLAND 2005; BRUCE; PICKETT; SMART, 2003; TAIZ; ZEIGER, 2004).

Figura 3 - Estrutura química de importantes compostos envolvidos na defesa indireta. A-compostos derivados do ácido shiquímico; B-compostos voláteis de folhas verdes da planta derivados da rota lipoxigenase; C-compostos de origem terpênica.



Fonte: DUDAREVA et al, 2006

Por sua vez os insetos tem o poder de destoxificar os potenciais metabólitos secundários tóxicos, usando enzimas detoxificadoras, principalmente as citocromo P450 monoxigenases e glutathione S-transferases. Estas enzimas podem ser induzidas quando são expostos aos compostos de plantas do metabolismo secundário tóxicos; por exemplo xantotoxibas furanocoumarinas induzem a expressão de CYP450 na espiga de milho (DEGENHARDT et al., 2003)

2.3.1 Localização do hospedeiro

O processo da localização do hospedeiro em insetos inclui as seguintes fases: orientação, pouso, reconhecimento, alimentação e reprodução.

De acordo com Powell; Tosh; Hardie (2006), o processo de seleção de hospedeiro pelos de pulgões envolve seis estágios: a) o comportamento de pré-chegada ao hospedeiro, b) o contato inicial das plantas e avaliação de pistas de superfície antes de inserção estilete; c) sondagem do epiderme; d) via de estilete atividade, e) salivação e f) aceitação do floema e ingestão sustentada. Uma vez que os pulgões têm baixas capacidades de vôo dirigido, eles só

podem ser orientados contra o vento a velocidades de vento baixas, embora sejam capazes de permanecer no ar por longo tempo e, portanto, ser transportados por distâncias consideráveis por movimentos de ar (PETTERSSON et al., 2007). Em pulgões, a seleção hospedeira é baseada principalmente em pistas químicas (POWELL; HARDIE, 2001; COSTA, 2010), mas sinais visuais também podem desempenhar um papel (DOERING; CHITTKA, 2007).

2.3.2 Resposta de plantas ao ataque de insetos

As substâncias químicas de defesa induzidas são sintetizadas em resposta a injúrias causadas no tecido vegetal pelo ataque de herbívoros, eleitores e pela oviposição (BRUCE; PICKETT; SMART, 2003). Em conjunto com os mecanismos de resistência constitutivos, estas estratégias são capazes de prevenir a maioria dos herbívoros, embora haja um reduzido número de insetos que sejam capazes de se adaptar a espécies vegetais específicas (MELLO; SILVA FILHO, 2002).

Os metabólitos secundários desempenham várias funções em plantas, agindo de forma induzida ou constitutiva. Alguns compostos são reguladores de crescimento, agem como sinais químicos no ecossistema e outros agem como repelentes ou diretamente na antibiose de herbívoros (PANDA; KHUSH, 1995). Petterson et al. (1998), em seus experimentos com feijão caupi observou que os voláteis induzidos pela injúria do *A. craccivora*, foram muito atrativos ao pulgão preto em laboratório quando comparado aos voláteis resultantes de plantas não danificadas.

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

2.4 Resistência de plantas a insetos

As pragas e os patógenos (fungos, bactérias e vírus) são responsáveis por grandes perdas na agricultura, por causarem injúrias e doenças, além de se alimentarem dos tecidos de

plantas. As perdas na produção da agricultura mundial, devido ao ataque de pragas e doenças, chegam a 37%, sendo 13% dessa perda causada por insetos (GATEHOUSE et al., 1992).

As plantas possuem, entretanto, certo grau de resistência a insetos e, há muito anos, tem se estudado a biossíntese e a regulação de compostos químicos de plantas associados a essas defesas. Esses compostos químicos são encontrados em diversos tecidos vegetais e dentre esses compostos estão incluídos antibióticos, alcalóides, terpenos e proteínas (RYAN, 1990).

A resistência de plantas a insetos é definida como sendo característica hereditária da planta, as quais influenciam o resultado do grau de dano que o inseto causa o que, em outras palavras, representa a capacidade que possuem certas espécies ou cultivares de plantas de alcançarem maior produção de boa qualidade que outras, quando comparadas nas mesmas condições (SMITH, 2005). De acordo com Kennedy e Barbour (1992) planta resistente é aquela que devido à sua constituição genotípica é menos danificada por pragas que outra, em igualdade de condições.

A resistência de plantas a insetos é baseada em fatores genéticos da planta e da consequência molecular resultante entre o hospedeiro e o inseto praga (GEBHARDT; VALKONEN, 2001; PEDLEY; MARTIN, 2008). De acordo com Smith (2005), existem, basicamente, três tipos ou mecanismos de resistência: não-preferência ou antixenose, antibiose e tolerância. Uma planta pode ter ao mesmo tempo os três tipos de resistência, já que os fatores genéticos que os condicionam podem ser independentes.

Ocorre antibiose quando a planta causa um efeito adverso sobre o inseto praga por causa de substâncias químicas ou estruturas que a planta possui. As plantas possuem uma variedade de substâncias algumas das quais podem ser tóxicas para uma praga ou causar um lento desenvolvimento da mesma. Este mecanismo de resistência afeta vários parâmetros da biologia do inseto-praga tais como: mortalidade na fase imatura (frequentemente no primeiro ínstar), prolongamento do período de desenvolvimento, redução de tamanho e peso, redução da fecundidade, da fertilidade e no período de oviposição, e alteração no tempo de vida (LARA, 1991; GALLO et al., 2002).

Os principais compostos envolvidos na resistência por antibiose são aleloquímicos, que são compostos químicos não nutritivos produzidos por plantas que afetam o

comportamento, a biologia de outra espécie. Aleloquímicos podem ser constitutivos ou induzidos. Tais compostos podem ser ativos em concentrações baixas (por exemplo, o ácidos hidroxâmicos - DIMBOA, DIBOA), ou ativos de uma forma mais quantitativa (por exemplo, apimaseína, ácido clorogênico e maisina) (SMITH, 2005).

Por outro lado, as plantas apesar de terem capacidade de produzir metabólitos secundários que tem efeito nos parâmetros biológicos de pulgões estes por sua vez tem a capacidade de mudar o perfil de metabólitos aumentando o nível de substâncias nutricionais (TELANG et al., 1999).

Segundo Smith (2005), antixenose envolve fatores comportamentais sobre o inseto que não irá escolher a planta para alimentação ou colocar seus ovos. Esta não seleção pode ser o resultado de substâncias químicas, cores ou mesmo a presença de estruturas na planta. Dessa forma, esse tipo de resistência ocorre quando um genótipo é menos utilizado pelo inseto do que outro genótipo, em igualdade de condições, para alimentação, oviposição ou abrigo (PAINTER, 1968). Esse tipo de resistência exprime uma reação comportamental do inseto em relação à planta (LARA, 1991). Consequentemente, o sistema sensorial está envolvido nesse processo, isto é, a olfação, visão e gustação (SMITH, 2005).

A tolerância é uma característica de algumas plantas que lhes permitem resistir ou recuperar de danos causados por insetos ou doença (SMITH, 1989), isto é, quando um genótipo é menos danificado que os demais, sob um mesmo nível de infestação do inseto, sem que haja efeito no comportamento ou biologia do inseto (GALLO, 2002).

2.4.1 Indução de resistência

A indução de resistência é um processo através do qual, plantas muito suscetíveis tornam-se menos suscetíveis por ação de injúrias causadas por pragas, patógenos e fatores abióticos (STOUT et al., 1998; COOPER; GOGGIN, 2005). Um dos benefícios da defesa induzida para as plantas seria uma possível redução do custo energético relacionado à defesa, já que enquanto a planta não sofre herbivoria, sua energia é alocada para seu crescimento e reprodução.

As defesas induzidas podem atuar diretamente repelindo os herbívoros (DE MORAES; MESCHER; TUMLINSON, 2001; KESSLER; BALDWIN, 2001), ou indiretamente, pela atração de inimigos naturais como insetos, aves ou nematoides

entomopatogênicos (DUDAREVA et al., 2006). No entanto, essas defesas induzidas envolvem substâncias do metabolismo secundário sejam elas voláteis e não voláteis. Algumas destas moléculas podem ser tóxicas ou repelentes atuando diretamente sobre o inseto praga ou ainda podem atrair inimigos naturais, desempenhando um papel preponderante na defesa indireta (KESSLER; BALDWIN, 2002).

Os metabólitos secundários além de proteger as plantas contra ataques e plantas competidoras agem como atrativos para animais polinizadores e dispersores de sementes; quimicamente, os metabólitos secundários mais comuns são os terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Estas defesas podem variar qualitativa e quantitativamente de acordo com: a espécie do herbívoro que realiza a injúria na planta; a presença de diferentes espécies de herbívoros em uma mesma planta; o tipo de hábito alimentar (mastigador ou sugador) do inseto; o estágio fisiológico e a espécie da planta hospedeira (DICKE; HILKER, 2003; FATOUROS et al., 2005; MORAES et al., 2005).

Um exemplo típico seria, as injúrias causadas pelos percevejos na soja [*Glycine max* (L.) Merrill] (Fabaceae) estas estimulam as defesas induzidas pela herbivoria relacionada à atração de parasitoides de ovos (Scelionidae) (MORAES et al., 2005). A indução de defesas é influenciada pelo hábito de alimentação (sugador ou mastigador) e pelo estágio do inseto herbívoro, bem como por variações genótípicas e fenotípicas da planta (MORAES, et al., 2005, 2008; MICHEREFF et al., 2011).

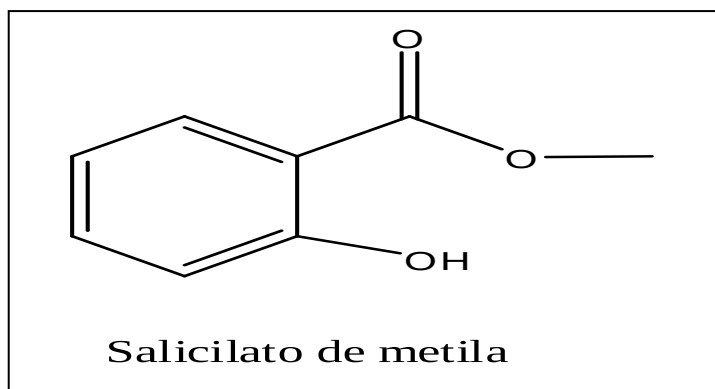
2.4.2 Indutores de resistência

Vários fatores podem induzir resistência em plantas: patógenos (fungos, bactérias e vírus), pragas (insetos e nematoides), elicitores de origem biótica, elicitores de origem abiótica, isto é, substâncias químicas tais como benzotriadiazole, ácido amino butírico, ácidodicloroisocotínico, ácido salicílico, sais inorgânicos, etc (KESSMAN, 1994; LYON; REGLINSKI; NEWTON; 1995; SCHNEIDER et al., 1996; BENHAMOU; PICARD, 1999; COHEN, 2001; KUC, 2001).

O uso de compostos químicos como indutores de resistência é uma extensa área de trabalho com objetivo de desenvolver novas estratégias para o controle de pragas de forma ambientalmente sustentável (EDREVA, 2004).

Entre os compostos que apresentaram efeito indutor de resistência em plantas contra pragas está o salicilato de metila (Figura 4). Em um dos estudos pioneiros, Pettersson et al. (1994) relacionaram o salicilato de metila como um semioquímico ligado ao estresse de plantas. A maioria dos insetos estudados, inclusive hematófagos, mostrou fortes respostas eletrofisiológicas a esse composto. Entretanto quando salicilato de metila foi aplicado no trigo reduziu significativamente (entre 30 - 40%) o número total de afídeos colonizando a cultura. Apesar desse indutor ter essa capacidade de reduzir a população de pulgões existe um fator limitante para a sua aplicação prática que é a sua elevada volatilidade (PICKETT et al., 2005). Thaler (1999), em seu estudo constatou que, a aplicação de ácido jasmônico aumentou os níveis da “polifenol oxidase”, uma enzima oxidativa implicada na resistência para vários insetos herbívoros em plantas de tomate, *Lycopersicon esculentum* (Solanaceae). Plantas que sofreram indução apresentaram 60% menos injúrias na folhagem do que as plantas não tratadas.

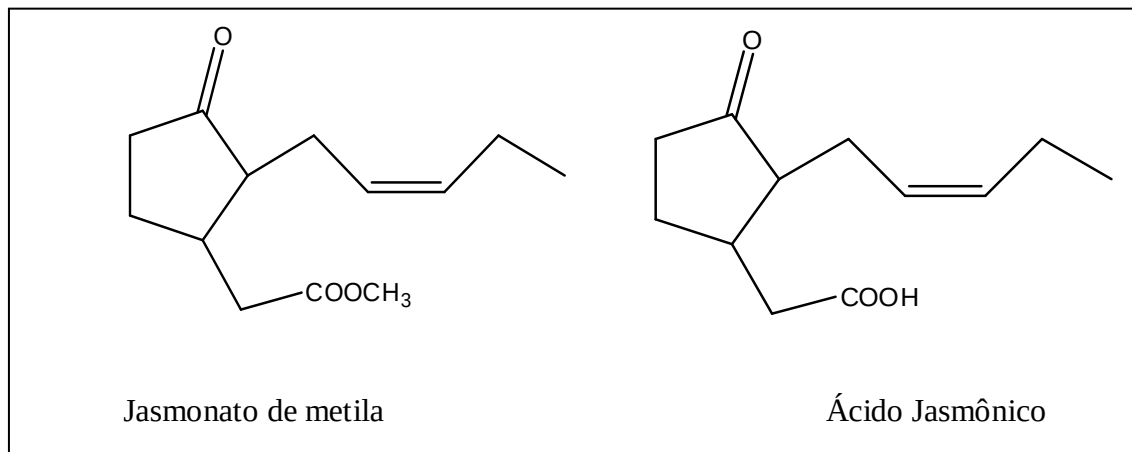
Figura 4 - Estrutura química de salicilato de metila.



Fonte: DUDAREVA et al, 2006.

Cooper e Goggin (2005) observaram no tomateiro uma redução significativa na longevidade (sete dias a menos) e na reprodução de adultos (em média, 12 pulgões por fêmea, a menos). Pickett et al. (2005), descobriram que o ácido jasmônico (Figura 5) quando metilado torna-se volátil, podendo ser liberado pela planta e afeta os genes relacionados à defesa de plantas vizinhas. O jasmonato de metila (Figura 5) é um composto aromático já identificado em pelo menos nove famílias vegetais. Farmer e Ryan (1990) demonstraram que o jasmonato de metila liberado no ar elevou a produção de inibidores de proteinase em tomate e em plantas próximas às tratadas.

Figura 5 - Estruturas químicas de jasmonato de metila e ácido jasmônico.

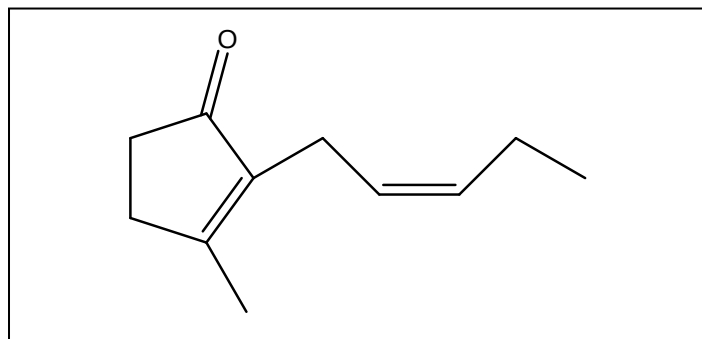


Fonte: DUDAREVA et al, 2011.

Na primeira década do século XXI foram descobertas as propriedades semioquímicas da *cis*-jasmona, ou (*Z*) - jasmona, uma substância volátil comum a várias plantas. Este composto ativa as defesas vegetais, tornando as plantas repelentes para pragas e mais atrativas aos inimigos naturais destas pragas, ativando desta forma o terceiro nível trófico, responsável pelo controle biológico dos fitófagos (BIRKETT et al., 2000; BRUCE et al, 2003; BRUCE; PICKETT; SMART, 2003, PICKETT et al, 2005).

A *cis*-jasmona (Figura 6) tem alta especificidade e efeitos persistentes na regulação da expressão de genes associados com a defesa de plantas, apresentando assim, elevada possibilidade de redução nos custos de produção e contribuindo na manutenção da entomofauna benéfica (PICKET et al., 2005).

Figura 6 - Estrutura química da *cis*-jasmona



Fonte:

2006.

DUDAREVA et al,

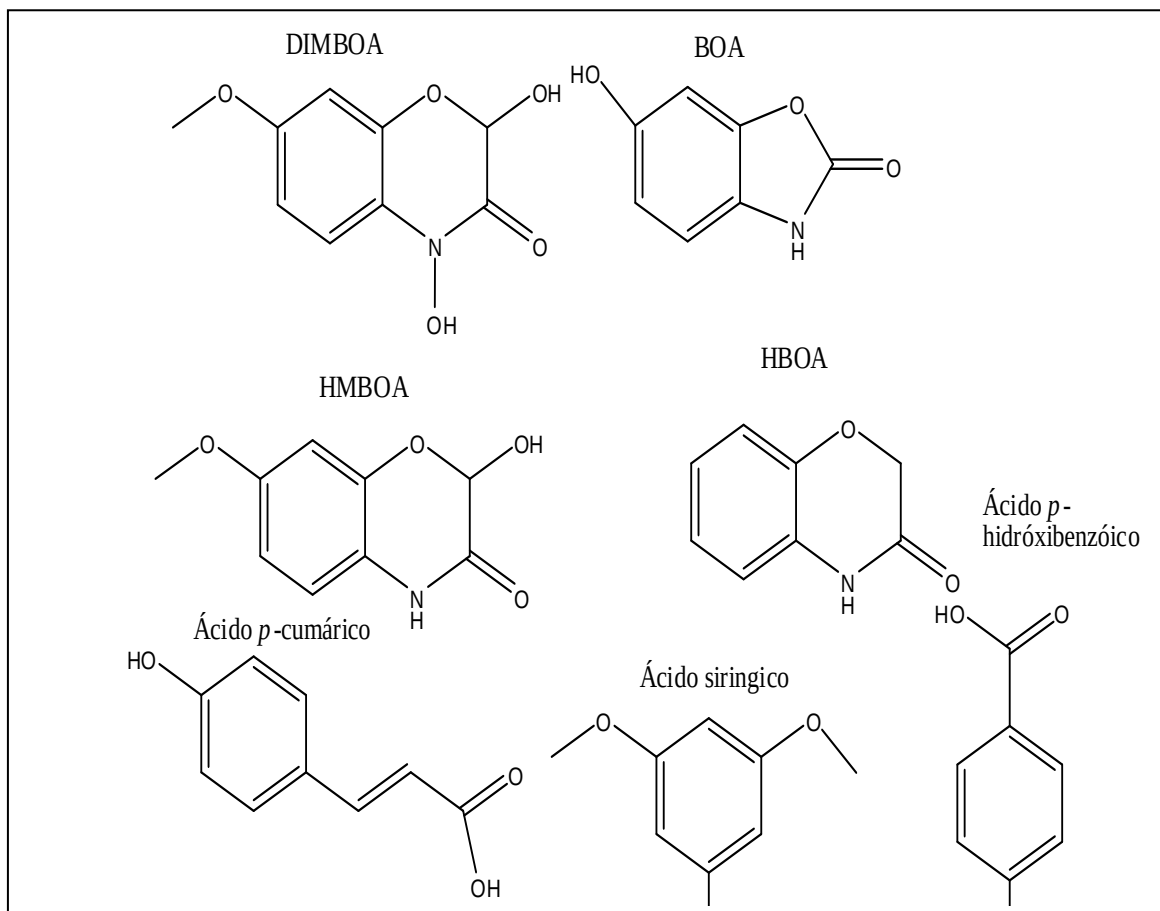
Em *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae), ecotipo Columbia, plantas intactas com oito semanas de vida, foram expostas por 24 horas ao jasmonato de metila ou à *cis*-jasmona em forma de vapor (1 microlitro não diluído) em caixas seladas de 3,7 litros. Observou-se que 30 genes a mais, foram regulados pela exposição à *cis*-jasmona do que ao jasmonato de metila, incluindo genes como o citocromo P450, 4-metil-5(2-hidroximetil) triazol monofosfato biosintase e um gene da redutase do ácido oxofitodienólico, confirmando a hipótese de que produtos regulados por genes ativados por indutores vegetais podem ser enzimas envolvidas na geração de repelentes para herbívoros e estimulantes de procura de alimento para predadores e parasitóides (MATTHES et al., 2003; PICKETT et al., 2007).

Sua atividade como indutor de resistência foi descoberta no Instituto de Pesquisa Rothamsted, na Inglaterra, quando componentes voláteis de groselha, *Ribes nigrum* L (Grossulariaceae), estavam sendo identificados. Tais voláteis repeliram a forma de verão do pulgão-da-alface, *Nasonovia ribis-nigri* (Homoptera: Aphididae) (Mosley). Desde então, a *cis*-jasmona revelou ter um efeito significativo nas interações entre insetos-pragas e plantas cultivadas (BRUCE; PICKETT; SMART, 2003).

Em um bioensaio em laboratório, a *cis*-jasmona causou efeito repelente para a forma alada *Sitobion avenae* (Hemiptera: Aphididae) (Fabricius). Em campo, plântulas de trigo tratadas com uma solução de *cis*-jasmona em uma concentração equivalente a 50 g/ha e um controle sem aplicação, foram submetidas à infestação com 250 pulgões, 24 horas após a aplicação. Vinte e quatro horas depois, se verificou que as plantas tratadas tiveram um número menor de pulgões pousados sobre elas (BRUCE et al., 2003).

Moraes et al. (2008), mostraram que a *cis*-jasmona induz a acumulação de substâncias de defesa no trigo tais como BOA, benzoxazolin-2(3H)-ona; HBOA, 2-hidroxi-7-metóxi-(2H)-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona; DIBOA, 2,4-dihidróxi-(2H)-1,4-benzoxazin-3(4H)-one; DIMBOA, 2,4-dihidróxi-7-metóxi-(2H)-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona; MBOA, 6-metoxi-benzoxazolin-2(3H)-ona; HMBOA, 2-hidroxi-7-metoxi-(2H)-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona; PHB, ácido p-hidroxibenzóico; VAN, ácido vanílico; SYR, ácido siringico; *cis*-FER, ácido *cis*-ferrúlico; *trans*-*p*-COU, ácido *trans*-*p*-cumárico; *trans*-FER, ácido *trans*-ferrúlico (Vide a Figura 7 e 8).

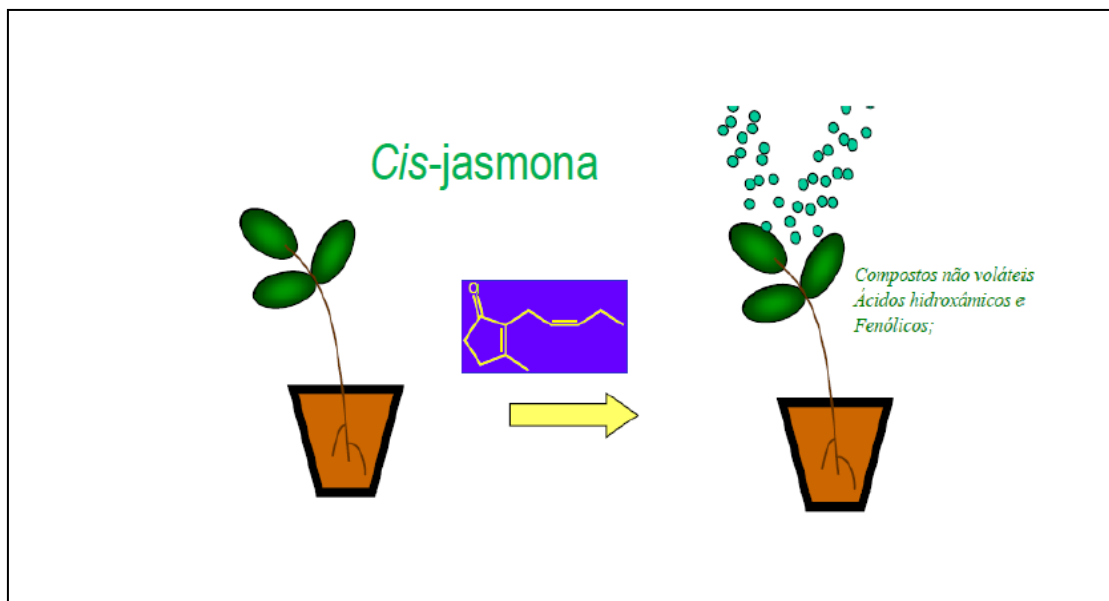
Figura 7 - Estruturas químicas de substâncias não voláteis produzidas após a aplicação da *cis*-jasmona em trigo.



Fonte: MORAES et al, 2008.

A *cis*-jasmona em soja promoveu a produção e liberação de compostos similares aos compostos liberados quando este é injuriado por percevejos (Pentatomidae) (MORAES et al., 2005; 2008), e estes compostos induzidos pela herbivoria atraíram o parasitóide de ovos *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Platygasteridae) (Ashmed) (MORAES et al., 2009). Hedge et al (2012), verificaram que a *cis*-jasmona induz a produção de compostos orgânicos voláteis (VOCs) que tornam o algodoeiro menos preferido ao pulgão *Aphis gossypii*. Vieira et al. (2013), testaram em condições de campo o efeito da aplicação exógena da *cis*-jasmona em plantações de soja. Os resultados mostraram que a aplicação da *cis*-jasmona foi eficaz na atração do parasitóide melhorando desta forma a população de parasitóide mas não teve efeito na intensidade da ocorrência do parasitismo e no número de percevejos.

Figura 8 - Esquema ilustrativo do mecanismo da ação da *cis*-jasmona em plantas.



Fonte: MORAES , 2011

2.5 Semioquímicos

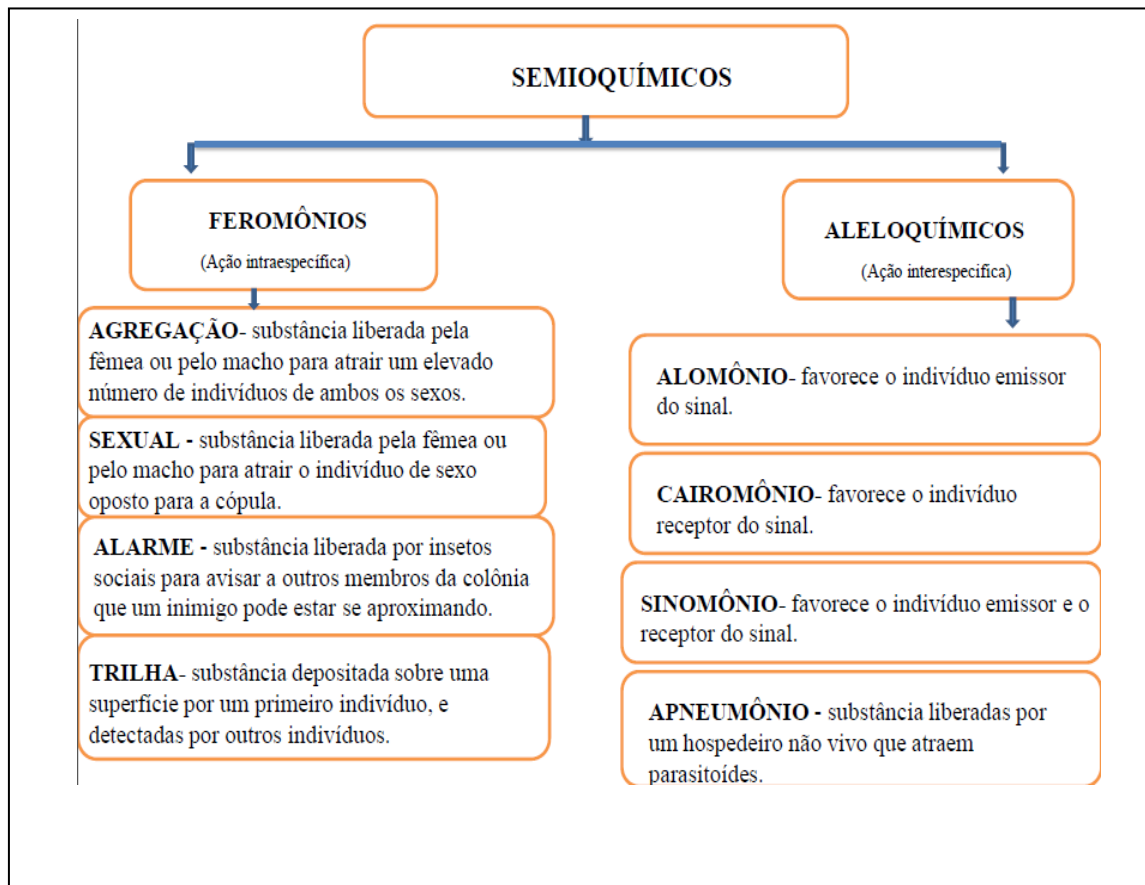
Os insetos exercem suas relações ecológicas com o ambiente e com os outros organismos de várias maneiras, sendo uma das mais importantes a comunicação por meio de compostos químicos. Estes compostos no indivíduo receptor da mensagem química agem como gatilhos fisiológicos de reações comportamentais específicas. Em uma nomenclatura mais generalista estas substâncias são denominadas de semioquímicos. É através da detecção e emissão destes compostos que os insetos encontram parceiros para o acasalamento, alimento ou presa, escolhem local de oviposição, se defendem contra predadores e organizam suas comunidades, no caso dos insetos sociais (ZARBIN; RODRIGUES; LIMA, 2009).

O termo semioquímico é amplo, não se referindo apenas às substâncias químicas responsáveis pelo fornecimento de informações, assim utiliza-se o termo infoquímico para diferenciar essa categoria de substâncias responsáveis pelo transporte de informações, das toxinas e nutrientes (NORLUND; LEWIS, 1976).

2.5.1 Classificação de semioquímicos

O organograma a seguir ilustra como podem ser classificados os semioquímicos.

Figura 9 - Representação esquemática dos semioquímicos e suas principais subclasses.



Fonte: SANTOS et al., 2010

2.5.1.1 Aleloquímicos

São compostos químicos que mediam a interação entre organismos de espécies distintas. (NORDLUND; LEWIS, 1976; DICKE; SABELIS, 1988). Estas substâncias exercem um papel preponderante em todas as comunidades, estendendo-se, em vários casos, além de duas espécies, mediando entre três ou mais níveis tróficos (PRINCE et al., 1980). Geralmente os alomônios são descritos como repelentes, mas em alguns casos eles podem ser atrativos para as suas presas (BALAN; GEBER, 1972; EBHERARD, 1977; JANSSON; NORDBRING-HERTZ, 1979).

2.5.1.2 Alomônios

São sinais químicos que somente favorecem o emissor, isto é, quando os sinais químicos liberados pelo emissor entram contato com o receptor, provocam nesse último uma

resposta comportamental ou fisiológica, desfavorável, mas favorável ao emissor (LEAL, 2005).

Exemplos típicos de alomônios são os compostos de defesa dos insetos. Por exemplo, flores de *Dracula chestertonii* (Orchidaceae) Luer 1978, emitem aroma semelhante a alguns cogumelos e atraem moscas-fêmeas, genericamente conhecidas como moscas de fungos, as quais normalmente ovipositam nos recipientes nutritivos desses fungos que são fonte alimentar para as futuras larvas. Ao visitar as flores de *D. chestertonii*, as moscas agem como polinizadores, porém as larvas, ao eclodirem, morrem por escassez de alimento (KAISER, 1993).

2.5.1.2.3 Cairomônios

São sinais químicos que quando liberados beneficiam somente o agente receptor, não favorecendo o emissor, quando os sinais químicos liberados pelo emissor entram em contato com o receptor e, provocam nesse último uma resposta comportamental ou fisiológica favorável, mas desfavorável ao emissor (NORDLUND; LEWIS, 1976; DICKE; SABELIS, 1988).

A maioria dos trabalhos descreve interações que fazem o uso desta classe de substâncias, principalmente no que diz respeito a insetos parasitóides. Isso seria, por exemplo, o caso de voláteis emitidos pelo milho (fenilacetaldéido, e 3-metilbutan-1-ol,) e frutas maduras (etileno), os quais atraem e estimulam a produção do feromônio sexual ((Z)-11-hexadecenal) de mariposas fêmeas de *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae). A atração dos machos só é eficiente quando, junto ao feromônio da fêmea, encontra-se o acetato de (Z)-3-hexenila (que age sinergisticamente), componente volátil comumente emitido por plantas de folhas verdes, às quais poderão servir de fonte alimentar para a futura prole (larvas) (OLDHAM; BOLAND, 1996).

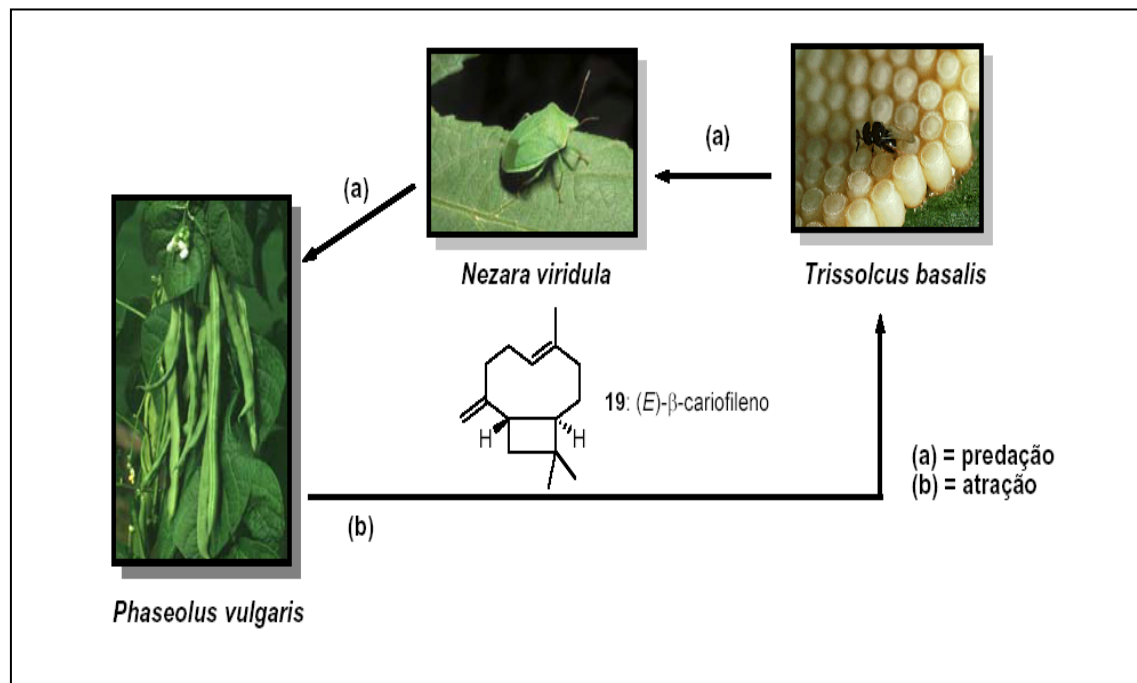
2.5.1.2.4 Sinomônios

São sinais químicos que beneficiam tanto o emissor como receptor do sinal. Essas substâncias provocam uma resposta comportamental ou fisiológica adaptativa favorável a ambos os indivíduos (receptor e emissor) (NORDLUND; LEWIS, 1976; DICKE; SABELIS, 1988).

Os sinomônios são comuns nas interações planta - polinizador e herbívoro-predador e em alguns casos no nível tritrófico de interações (planta-herbívoro-predador). O exemplo típico seria dos voláteis emitidos pelo milho *Zea mays* que, quando atacado por herbívoros (lagartas da mariposa *Spodoptera exigua*), atraem fêmeas da vespa *Cortesia marginiventris*, a qual é um parasitóide natural destas lagartas (SCHRÖDER, 1998).

Em outro exemplo pode-se citar o percevejo *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) Linnaeus, 1758 que garantem sua demanda energética através do consumo de duas espécies de leguminosas (*Vicia faba* e *Phaseolus vulgaris*) e por consequência em ambas plantas um incremento na biossíntese de terpenóides como o (*E*)- β -cariofileno (FRANCIS; LOGNAY; HAUBRUGE, 2004). E esta substância atrai o parasitóide *Trissolcus basalis* (Hymenoptera: Scelionidae), que parasita os ovos do percevejo, controlando assim sua população (Figura 10). (COLAZZA, 2004).

Figura 10 - Interação tritrófica: planta-herbívoro-predador.



Fonte: WENDLER, 2006

Um exemplo clássico de sinomonios é a relação de trófica entre formigas e afídeos. Neste caso alguns os afídeos excretam uma mistura açúcares, em inglês “honeydew” que servem de alimento para algumas formigas e os afídeos recebem proteção. Algumas espécies de formigas simbiotes respondem, orientando-se a fonte de odor e atacando os predadores (Figura 11) (NAULT; MONTGOMERY, 1976).

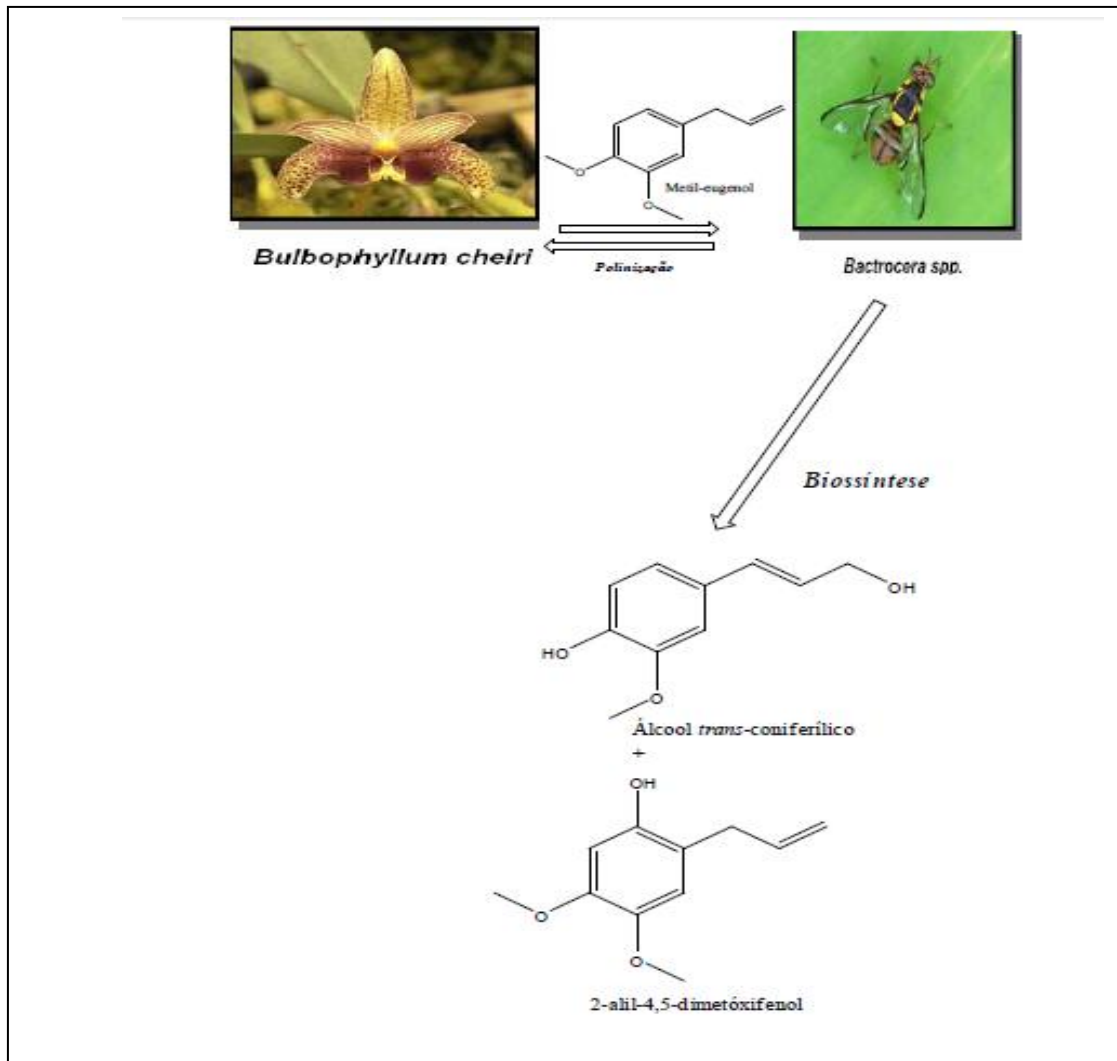
Figura 11 - Relação simbiótica entre afídeos e formigas.



Fonte: WENDLER, 2006.

É importante destacar também o exemplo de orquídeas, *Bulbophyllum cheiry* (Orchidaceae) que produzem o composto metileugenol, que atrai moscas das frutas do gênero *Bactrocera* (*B. carambolae*, *B. papaye* e *B. umbrosa*). Entretanto, os insetos machos da espécie *B. papayae* apresentaram em suas glândulas metabólitos de metil-eugenol, 4-[(E)-3-hidroxiprop-1-enil]-2-metoxifenol e 2-alil-4,5-dimetoxifenol, indicando que o mesmo foi consumido previamente e constitui se como intermediário ao sistema de defesa e feromonal dessas moscas (Figura 12) (TAN; NISHIDA; TOONG, 2002). Os voláteis florais das orquídeas beneficiam mesmos por atraírem polinizadores e ainda favorecem estes por garantir o alimento e localização de parceiros para o acasalamento.

Figura 12 - Interação sinomonal via odores florais das orquídeas.



Fonte: WENDLER, 2006.

2.5.1.5 Feromônios

São substâncias que mediam a comunicação entre indivíduos da mesma espécie, provocando uma reação específica ou um processo de desenvolvimento fisiológico definido. O termo surge pela combinação das palavras gregas *pherein* que significa carregar e *horman*, estimular (WYATT; 2010).

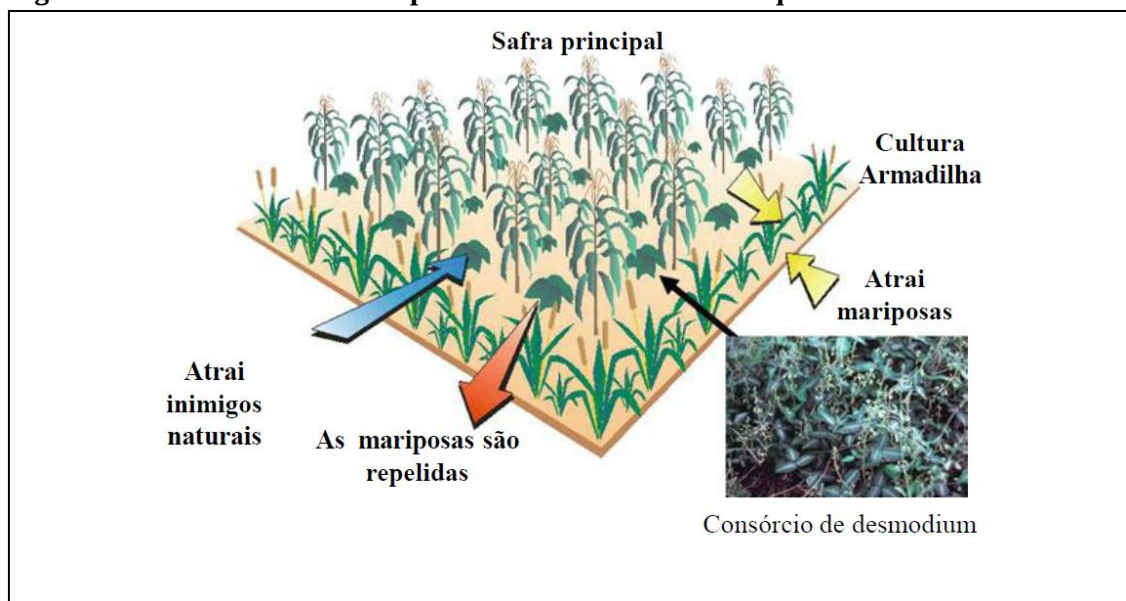
2.6 Compostos voláteis de plantas no Manejo Integrado de Pragas

2.6.1 Compostos voláteis na estratégia “Push in Pull”

O uso desta estratégia em campo usando compostos voláteis liberados pelas plantas no campo foi primeiramente realizada em Kenya (HASSANALI et al., 2008; KHAN et al., 2008). Esta estratégia foi desenvolvida para pequenos agricultores e foi usada com muito sucesso na África do Leste para as culturas de milho e sorgo contra broca de caule e erva bruxa Africana (KHAN et al., 2008). O uso de emissão constitutiva de voláteis de plantas constitui uma solução apropriada para pequenos agricultores visto que os inseticidas são caros e a questão logística para o envio (KHAN et al., 2011).

O sistema utilizou uma combinação de um consórcio que libera semioquímicos que são repelentes de pragas (empurrar-Push) e uma armadilha de culturas cultivadas em torno das bordas que liberam semioquímicos que sejam atraentes as pragas da cultura principal (Pull – puxar) (Figura 13) (KHAN et al., 2011).

Figura 13 - Push in Pull usando plantas como fonte de sinais químicos



Fonte: KHAN et al., 2011.

Os semioquímicos liberados pelo consórcio cultural também atraem os inimigos naturais de insetos pragas (KHAN et al. 1997; KHAN et al. 2008). Culturas de consórcio constitutivamente emitem voláteis como (*E*)-ocimeno e (*E*)-4,8-dimetil-1,3,7-nonatrieno que são voláteis tipicamente liberados pelo milho quando atacado por herbívoros. Estes agem

repelindo pragas, mas atraindo inimigos naturais. Os semioquímicos emitidos pelas plantas armadilhas que atraem as pragas são voláteis de folhas verdes (GLV) que são produzidos em grandes quantidades pelo milho e sorgo a noite quando as mariposas têm o seu maior pico de atividade (CHAMBERLAIN et al., 2006).

2.6.2 Controle Biológico

O controle biológico é a ação de parasitóides, predadores e patógenos na manutenção da densidade de outro organismo a um nível mais baixo do que aquele que normalmente ocorreria na sua ausência (DEBACH, 1968; STONER, 2004).

Os insetos inimigos naturais, conhecidos também como insetos benéficos podem ser classificados em duas classes: predadores e parasitóides. Os insetos benéficos podem ser artificialmente introduzidos em campos infestados (HEUSKIN et al., 2011).

Esta prática deve ser cuidadosamente gerida para que não haja efeitos adversos ambientalmente e assim como economicamente. Por exemplo, a joaninha multicolorida, *Harmonia axyridis* (Coleoptera, Coccinellidae) Pallas, 1773 foi introduzida nos Estados Unidos da América para servir como agente de controle biológico de insetos pragas. Apesar da joaninha ser eficiente no controle de pulgões, acabou tornando-se um incômodo devido agregação em casas e edifícios enquanto procura lugares viáveis para hibernação (HUELSMAN 2002; ROY, BROWN; MAJERUS, 2006; BROWN et al., 2008). De acordo com os mesmos autores, durante essa agregação elas emitem odores desagradáveis e mancham as paredes com sangue resultante da sua hemolinfa. E problemas respiratórios e da pele têm sido apontados como consequência da ação das joaninhas.

2.7 Metodologias usadas no estudo de semioquímicos

2.7.1 Coleta de semioquímicos

Os métodos geralmente usados na coleta de compostos orgânicos voláteis de plantas e de insetos são: aeração, extração com solvente, microextração em fase sólida, entre outros. A escolha de um destes métodos depende da natureza dos compostos voláteis do objetivo.

2.7.1.1 Aeração

A aeração é técnica mais comum na coleta de compostos voláteis de plantas. Por meio deste processo compostos emitidos são coletados. Os compostos são adsorvidos usando materiais poliméricos como Porapak Q (copolímero de *p*divinilbenzeno-vinilbenzeno) e Tenax (polifenilenoxida na base de 2,6-difenilbenzeno), Super Q e carvão ativado (AGEPOULOS et al., 1999; DALESSANDRO; TURLINGS, 2006). Os compostos podem dessorvidos termicamente direto no injetor do cromatógrafo, porém a amostra servirá para análise química e não pode ser aproveitada para ensaios biológicos. Por outro lado a dessorção pode ser realizada utilizando-se solventes como hexano, diclorometano e éter etílico com alto grau de pureza. A preferência por tais solventes deve-se à sua volatilidade, o que possibilita a evaporação sem que os materiais coletados sejam expostos a altas temperaturas (FERREIRA, CORRÊA; VIEIRA, 2001). A amostra obtida por esta via pode ser utilizada tanto para análise química assim como para os ensaios biológicos.

Os sistemas de aeração geralmente são de vidro, mas também pode se usar sacos plásticos (STEWART_JONES; POPPY, 2006). Na entrada do sistema é adaptada uma coluna contendo carvão ativado para que o ar seja pré-purificado. A um fluxo conhecido, por exemplo, de 1L/min, os voláteis são arrastados até a extremidade oposta onde são adsorvidos no polímero (Figura 14). Após o tempo máximo de 24 horas interrompe-se a extração, e a coluna, contendo os compostos adsorvidos, é desconectada do sistema. O processo de dessorção dos voláteis deve ser realizado sempre utilizando uma pequena quantidade de solvente, pois desta forma, aumenta o rendimento da extração e diminui o grau de impurezas.

Figura 14 - Sistema de coleta de compostos voláteis



Fonte: SANTOS et al, 2009.

2.7.1.2 Microextração em fase sólida (SPME)

A técnica de microextração em fase sólida se baseia na adsorção em fibras revestidas por material adsorvente (7µm a 100µm de espessura) e posterior dessorção dos compostos voláteis por aquecimento diretamente no injetor do cromatógrafo a gás. Há vários tipos de polímeros adsorventes, mas são comumente usados polidimetilsiloxano, poliacrilato, carbowax/divinilbenzeno. Esta técnica tem sido usada no estudo de voláteis que mediam as interações plantas-insetos, apesar de ser uma técnica que permite uma coleta e análise de amostras rapidamente, tem alta sensibilidade e para muitos compostos, boa reprodutibilidade. Porém a amostra não pode ser usada para ensaios biológicos.

2.7.2 Identificação de Semioquímicos

Na identificação de semioquímicos geralmente é utilizada uma técnica cromatográfica, como por exemplo, a cromatografia gasosa (CG) ou cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) seguida por um método espectroscópico, como ressonância magnética nuclear de hidrogênio ou um método espectrométrico, como a espectrometria de massas (EM). Embora, a princípio, um número considerável de métodos encontra-se à disposição, na prática, este número é reduzido devido à quantidade excessivamente pequena de material produzido (10^{-6} a 10^{-9} g). As técnicas mais utilizadas são a cromatografia gasosa acoplada à eletroantenografia (CG-EAD) e a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM).

2.7.2.1 Cromatografia gasosa

Esta técnica baseia-se na partição da amostra entre duas fases distintas, a fase móvel (gás de arraste), que serve para arrastar os analitos na coluna cromatográfica e a fase estacionária geralmente.

Índice de retenção (RI)

Uma das importantes características da cromatografia gasosa é o fato dos tempos de retenção de analitos em uma fase estacionária serem altamente reproduzíveis, particularmente em modernas colunas capilares, fabricados com padrões de qualidade altamente controlados. O índice de retenção pode ser reproduzido com alta precisão em outro equipamento, mas

equipado com a mesma coluna, estes índices de retenção são artifícios que fornecem valiosas informações sobre a identidade dos compostos em análise.

Na literatura são referenciados 4 tipos de índices de retenção: índice de retenção (RI), índice de retenção linear (RI^T), índice de retenção de alcanos normais (RI_{norm}) e índice de retenção de Lee (RI_{Lee}) (LEE et al., 1979). Os índices de retenção de Kóvats (RI) são medidos em condições isotérmicas e os índices de retenção linear (RI^T) são medidos por um programa de rampa de temperatura. O RI, RI^T e RI_{norm} usa uma série homóloga de alcanos normais (n-alcanos) como referência. Alguns índices de retenção de n-alcanos são categorizados como índices de retenção de n-alcanos na base de dados de NIST08 porque os índices de retenção não podem ser calculados a partir da literatura original. O RI e RI^T são calculados com as fórmulas a seguir:

$$RI = 100n + 100(N - n) * \frac{\log trx - \log trn}{\log trN - \log trn} \quad (1)$$

$$RI^T = 100 * n + 100 * (N - n) * \frac{trx - trn}{trN - trn} \quad (2)$$

Onde trx é o tempo de retenção do analito, trN e N , são respectivamente, o tempo de retenção e número de átomos de carbono do alcano mais próximo eluindo após o analito, trn e n são, respectivamente, o tempo de retenção e o número de carbonos do alcano mais próximo eluindo antes do analito (CASTELLO; MORETTI; VEZZANI, 2009).

Os índices de retenção de Lee (RI_{Lee}) usam hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PHAs) como: naftaleno, fenantreno, criseno e piceno, isto é, compostos que consistem em dois ou mais anéis benzênicos fundidos, respectivamente como marcadores de retenção para cromatografia gasosa de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e derivados (STEIN, 2008). O valor do RI_{Lee} , pode ser calculado usando a equação (1) ou (2) dependendo das condições experimentais. Todos os índices de Lee são categorizados como complexos, isotérmicos ou rampa na base de dados de NIST008. Para fins de comparação, todos índices isotérmicos de Lee são convertidos para RI de acordo com a expressão abaixo (BABUSHOK; LINSTROM, 2004):

$$RI = (194.4 - 0.201T) + L(4.48 + 3.72 \times 10^{-3}) + L^2(4.21 \times 10^{-6}T - 1.1610^{-5}) \quad (3)$$

Onde T, a temperatura em °C e L índice de retenção de Lee em condições isotérmicas e RI índices de retenção de Kovats convertidos. Os índices de retenção complexos e Rampa de Lee são convertidos para RI de acordo com a equação abaixo:

$$RI = 127.7 + 4.5269 \times L + 2.6193 \times 10^{-3} \times L^2 + 5.00 \times 10^{-7} \times L^3 \quad (4)$$

Onde T, temperatura em °C, L, o índice de retenção de rampa ou complexo e RI, o índice de retenção de Kóvats De acordo com as equações (3) e (4) pode esperar que estes índices de retenção de Kóvats convertidos variem em grande escala pelo fato das fórmulas usadas serem empíricas. Além disso, os índices de retenção de Lee são aproximadamente seis vezes menores que os índices de retenção de Kóvats.

Os índices de retenção variam ligeiramente com a temperatura e bastante com a fase estacionária da coluna. Por isso esses parâmetros devem ser fornecidos junto com o valor do índice de retenção.

2.7.2.2 Quantificação de Semioquímicos

A análise quantitativa de compostos orgânicos voláteis pode ser conduzida por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama através do método de adição de padrão interno, no qual as incertezas devido ao volume de injeção são minimizadas. O método de adição do padrão interno consiste na adição de um composto de concentração conhecida á amostra. O composto escolhido não deve fazer parte da amostra e para atingir maior precisão na quantificação é recomendado que a sua estrutura química seja mais próxima possível do composto que se quer quantificar, pois o detector responde de forma semelhante para os compostos com características químicas semelhantes.

Para a quantificação, a razão das áreas (ou alturas) do padrão interno e do analito são usadas como parâmetro analítico. No entanto não foi eliminado o efeito da resposta do detector para os diferentes analitos que pode se chamar de sensibilidade do equipamento ao analito (K_a).

A área do pico cromatográfico está relacionada com a concentração do analito a e pode ser descrita como:

$$A_a = K_a C_a v$$

Onde k_a é uma constante de proporcionalidade que depende do analito, do detector e das condições de operação do equipamento, C_a é a concentração do analito a e v é o volume injetado de amostra.

Se na mesma solução estiver presente o padrão, s , a área do pico poderá ser descrita pela equação:

$$A_s = K_s C_s v$$

Como as duas substâncias são injetadas simultaneamente, o volume é o mesmo nas duas equações. Caso o detector responda da mesma forma para a e s , então o factor de resposta será um, e por tanto, a equação fica reduzida a:

$$C_a = \frac{A_a \cdot C_s}{A_s}$$

Em estudos de Ecologia Química é usada de forma corriqueira a equação acima, já que muitas vezes não se conhece a identidade de todos os componentes presentes na amostra. Desta maneira é assumido que o detector responde da mesma forma para todos os componentes da amostra e para o padrão interno.

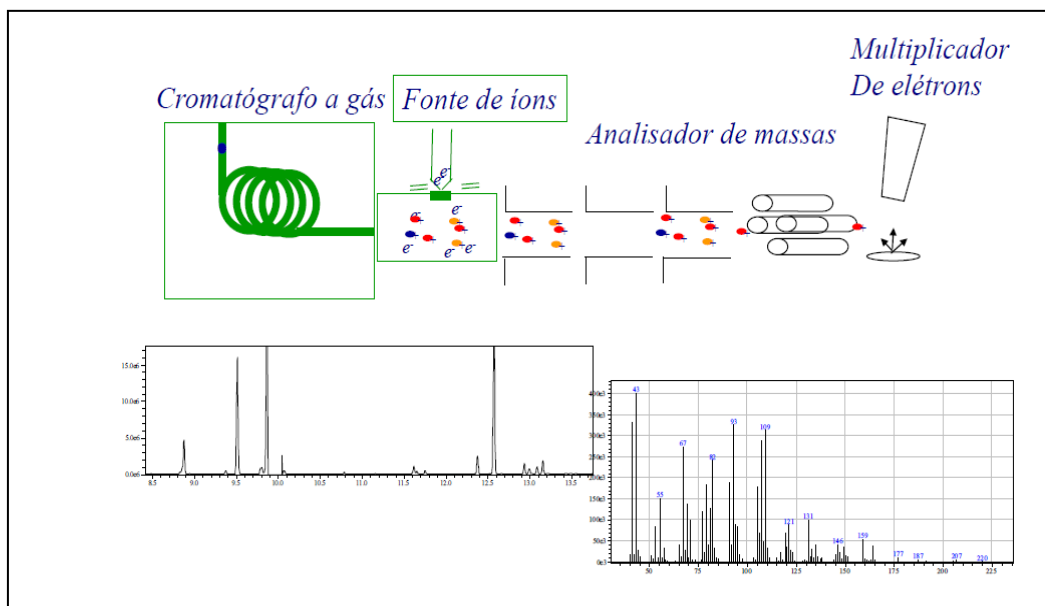
2.7.2.3 Espectrometria de massas

Espectrometria de massas pode ser entendida como uma técnica analítica que permite a identificação da composição química de um determinado composto isolado, ou de diferentes compostos em misturas complexas, essa determinação baseia-se na fragmentação e ionização das moléculas com um feixe de elétrons ou com íons. Por estarem no estado gasoso estes íons formados podem ter suas trajetórias controladas em campos magnéticos e elétricos. Esta movimentação é determinada pela razão entre a massa de um determinado composto (analito) e sua carga líquida, designada por m/z (*mass to charge ratio*). Assim, conhecendo o valor de m/z de uma molécula é possível inferir sua composição química elementar, e com isso determinar sua estrutura (VAN BRAMER, 1998).

Em Ecologia Química a espectrometria de massas é uma opção lógica na identificação de compostos orgânicos voláteis que mediam a interação entre plantas e insetos devido a facilidade de esta ser hifenada com Cromatografia gasosa, esta hifenação permite uma separação e posterior identificação (BIRKETT, 2010). A cromatografia gasosa também pode ser hifenada com o espectrômetria na região do infravermelho especificamente o espectroscopia de infravermelho com Transformadas de Fourier (GC-FIR) (BIRKETT, 2010). Não obstante o GC pode ser hifenado com Espectroscopia de Ressonância Magnética nuclear, mas ainda não foram encontrados exemplos nas referências que mostram a aplicação desta técnica hifenada no estudo de semioquímicos (BIRKETT, 2010).

Os espectrômetros de massas (Figura 15) são constituídos basicamente por : um sistema de injeção de amostra, fonte de ionização, analisador de massas, detector e um sistema de registro de dados.

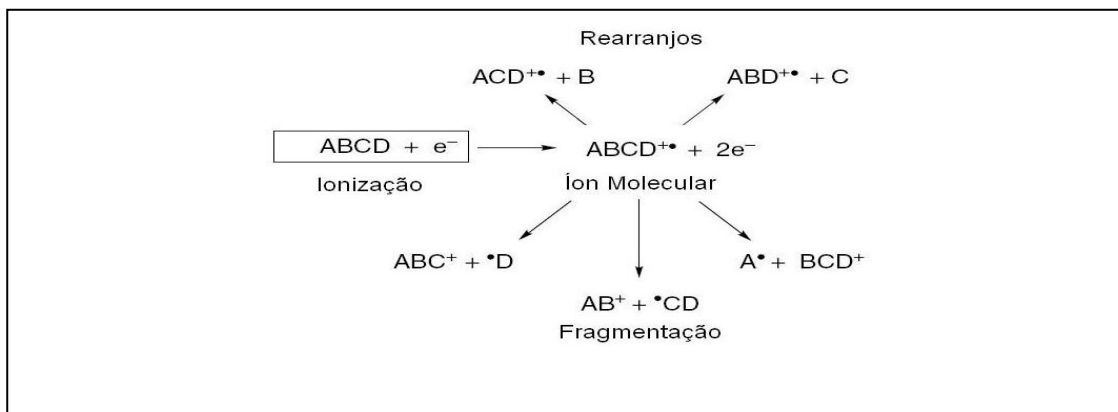
Figura15 - Representação esquemática do Cromatógrafo Gasoso Acoplado ao espectrômetro de massa



Fonte: BLASSIOLI ,2011.

Existem várias técnicas de ionização, dentre elas, os mais comuns para pequenas moléculas voláteis são: impacto de elétrons e a ionização química. Na ionização por impacto de elétrons, os íons são formados quando moléculas a amostra no estado gasoso colidem com elétrons que foram emitidos por um filamento. A faixa de energia destes elétrons em geral é de 10 a 100eV. Quando a energia dos elétrons que colidem com a molécula tem a energia mínima para remover um elétron da molécula neutra, ocorre a ionização formando um íon molecular, porém quando a energia for alta pode ocorrer fragmentações (Figura 16) (KITSON et al.,1996; ARDREY, 2003; ELJARRAT; BARCELO, 2005; HOFFMANN; STROOBANT, 2007; DASS, 2007).

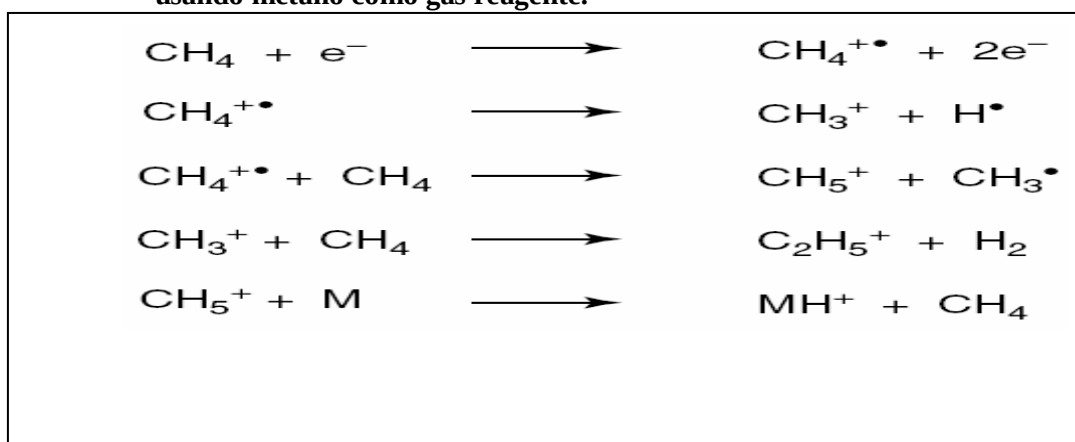
Figura 16 - Típico processo de ionização eletrônica a 70 eV: Formação do cátion radical, seguida de fragmentação e rearranjos moleculares.



Fonte: ARDREY, 2003

Por outro lado, a ionização química é classificada como branda. Nesta técnica, os elétrons não ionizam diretamente a amostra e sim um gás, que é adicionado em proporções elevadas na fonte de íons. Estes íons reagem com as moléculas da amostra, gerando íons positivos (Figura 17) e às vezes negativos (Figura 18) (MUNSON e FIELD, 1966; HOFFMANN; STROOBANT, 2007). Alguns destes gases reagentes mais comumente utilizados incluem: metano, etano, amônia e isobutano.

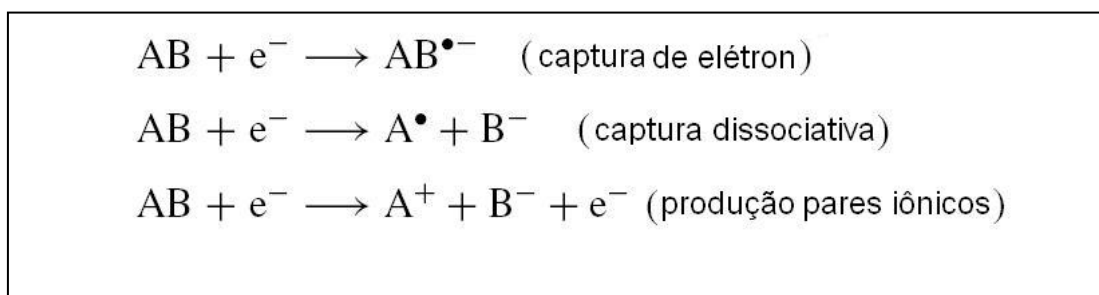
Figura 17 - Representação esquemática de alguns eventos durante a ionização química, usando metano como gás reagente.



Fonte: ARDREY, 2003.

Dependendo das características do analito, a ionização química também pode produzir íons com cargas negativas.

Figura 18 – Representação esquemática de alguns eventos durante ionização química para formação de íons positivos.

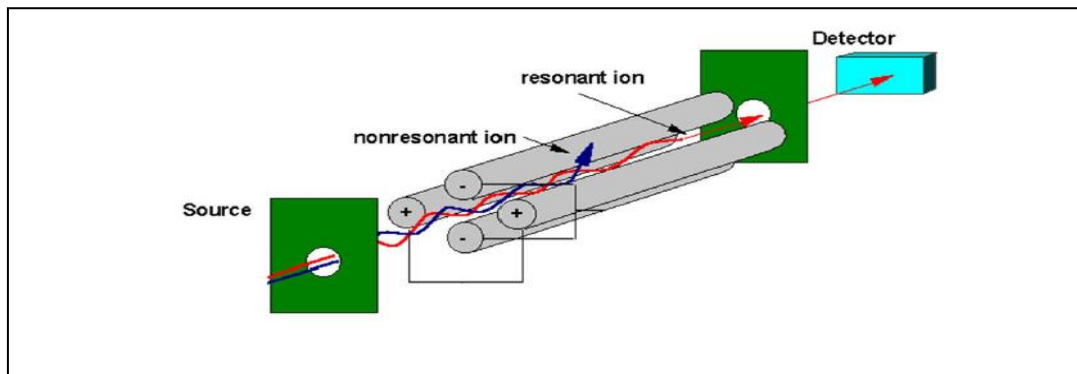


Fonte: HOFFMANN; STROOBANT, 2007.

Outra parte do espectrômetro de massas é o analisador de massas, este tem função de separar os íons formados na fonte de ionização pela sua razão massa carga. Existem vários tipos de analisadores, sendo os mais comuns: o de sector magnético/eletrostático, tempo de

voo (TOF), filtro quadrupolar (Figura 19), armadilhas de íons (íon-trap), analisador de ressonância ciclotrônica (ICR).

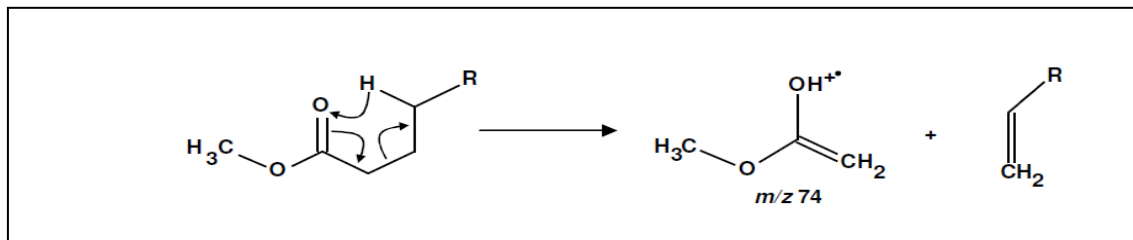
Figura 19 - Representação esquemática de um quadrupolo.



Fonte: <<http://www.chem.vt.edu/chem-ed/ms/quadrupo.html>>

O íon ao sair do analisador, a corrente elétrica destes íons é medida através de um multiplicador de elétrons. Depois registrado e digitalizado, o sinal é registrado em um gráfico (Figura 15). Durante as fragmentações são comuns obtidos de serem obtidos fragmentos primários, aqueles simplesmente obtidos por quebra de ligações. Porém, outros fragmentos podem ser difíceis de serem interpretados, são chamados de fragmentos secundários, produtos de rearranjos moleculares ocorridos durante o processo da fragmentação. Um dos rearranjos, Um dos rearranjos mais conhecidos é chamado de McLafferty, em homenagem a Fred W. McLafferty quem o descreveu. Este tipo de rearranjo ocorre quando uma molécula contendo um grupo carbonílico (como um ácido graxo metil éster) passa por uma clivagem do tipo b, que leva a formação de um íon radicalar (Figura 20) (MCLAFFERTY, 1959; IUPAC, 2006).

Figura 20 – Rearranjo McLafferty



2.7.2.4 Cromatografia Gasosa Acoplada à Eletroantenografia (CG-EAD)

As principais características dos insetos, no que diz respeito à comunicação química, são a sensibilidade e especificidade com que suas antenas atuam para a percepção do(s)

correto(s) componente(s) de seus feromônios (STEINBRECHT e SCHNEIDER, 1980; KAISLING ;THORSON, 1980). Schneider (1963) estudando o comportamento eletrofisiológico no sistema olfativo de *Bombyx mori* revelou que o potencial de recepção do inseto ao seu feromônio poderia ser registrado utilizando-se uma antena isolada, posicionada entre dois microeletrodos capilares, que estariam conectados a um amplificador e a um registrador. O sistema, então chamado de EAD (*electroantennographic detector*), em que a antena do inseto é utilizada como elemento sensitivo (detector biológico), passou a ser amplamente utilizado para realização de ensaios biológicos.

Moorhouse et al. (1969) descreveram o acoplamento do sistema EAD a um cromatógrafo gasoso utilizando-se uma divisão de fluxo da coluna. Tal técnica fez surgir um método extremamente eficaz na detecção de substâncias que exerciam atividade biológica sobre o inseto, uma vez que estariam sendo associados à especificidade e sensibilidade do EAD à enorme capacidade analítica e de separação do cromatógrafo gasoso.

2.7.2.5 Química Orgânica Sintética na Identificação de semioquímicos

A Química Orgânica Sintética é um dos princípios fundamentais na Química dos produtos Naturais e tem sido usado com muita frequência na confirmação de estruturas de produtos naturais de plantas e insetos desde o século passado. E no contexto de compostos que mediam a interação entre plantas e insetos, a síntese química ainda continua sendo útil pois fornece compostos sintéticos para a confirmação de estruturas e intermedia a produção em larga escala compostos para testes em campo (BIRKETT, 2010).

2.7.3 Bioensaios comportamentais

Os insetos respondem a diferentes estímulos químicos provenientes de plantas (por exemplo, insetos polívoros), odores de hospedeiros e feromônios para o acasalamento e agregação (RANJITH, 2007). Olfatômetros e túneis de ventos são geralmente usados para monitorar as respostas de insetos a odores. Vários olfatômetros com braços como olfatômetro em Y, Olfatômetro em U, olfatômetro com quatro braços ou seis braços são geralmente usados para detectar e medir a resposta dos insetos em relação a fonte de odores. Respostas comportamentais específicas como movimentos antenais e outros são monitorados em túnel de vento (NOLDUS; VAN LENTEREN, 1985). Eles são também utilizados em bioensaios para detectar a capacidade de localização de plantas hospedeiras (MENSAH et al., 2005).

Diversos bioensaios comportamentais têm sido referenciados para testar os semioquímicos de afídeos como: olfatômetro com quatro braços desenhado por Petterson (1970), olfatômetro de linear-pista (ISAACS et al., 1993) e o compensador de locomoção (VISSER; TAANMAN, 1987).

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Condução das plantas do feijão caupi

As sementes das cultivares TVU 408-resistente, Vita7-suscetível e Gurguéia-comercial de feijão caupi, *V. unguiculata*, utilizadas neste trabalho foram obtidas na Universidade Federal de Ceará. As plantas foram cultivadas em casa de vegetação do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas e sob condições de temperatura de $27 \pm 2^\circ \text{C}$, umidade $65 \pm 2\%$ e fotoperíodo de 12 horas. Em copos descartáveis com 500mL de capacidade, preenchidos com substrato formado por : solo (50%), húmus de minhoca (30%) e substrato comercial (20%), foram semeados duas sementes por copo. Após sete dias da germinação, efetuou-se o desbaste de uma plântula, permanecendo somente uma por recipiente. Quando as plantas estavam com três trifoliólos definitivas, em torno de três semanas, foram utilizadas para os experimentos (Figura 21).

Figura 21 - Plantas de feijão caupi em vasos plásticos.



Fonte: Autor, 2013.

3.2 Obtenção e criação do pulgão em laboratório

Os pulgões foram oriundos da Universidade Federal Ceará. A criação dos pulgões foi realizada na sala de criação de insetos do Instituto de Química e Biotecnologia e sob condições de temperatura de $25 \pm 2^\circ \text{C}$ e umidade relativa de 60%.

Os pulgões foram criados em plantas de feijão caupi (Gurguéia e Vita 7), com 15 dias após o plantio, protegidos com tela antiafídica (1,0m x 1,0m x 0,5m), onde fêmeas adultas ápteras foram colocadas, com o auxílio de um pincel, nas plantas. Em cada 4 dias as plantas eram trocadas e os insetos transferidos com auxílio de um pincel para as plantas novas. Este procedimento foi realizado várias vezes de modo a manter o inseto.

Os insetos criados foram usados para infestação dos pulgões para posterior coleta de voláteis, para os testes de antibiose e também para os ensaios comportamentais com os extratos de compostos voláteis. Contudo, para os ensaios comportamentais foram usados os pulgões alados.

3.3 Avaliação da susceptibilidade das cultivares do feijão caupi

Neste experimento foi realizado o ensaio sem chance de escolha, com as três cultivares (TVU 408, Gurguéia e Vita 7). Foram 10 repetições por cada variedade e foram infestadas 5 fêmeas adultas. Após 48h foram contados os pulgões adultos mortos e vivos, como também quantas ninfas existiam em cada tratamento, e foram retirados os pulgões adultos que foram infestados no primeiro dia. Após 48h depois dessa primeira avaliação, ou 96h após a infestação, quantificou-se o número de adultos vivos e mortos e o número de ninfas.

3.4 Aplicação da *cis*-jasmona

Cada planta foi alocada aleatoriamente em um dos seguintes tratamentos: tratada e não-tratada com *cis*-jasmona. Plantas tratadas com *cis*-jasmona foram pulverizadas com um pulverizador manual e uma dosagem de 50 g.ha⁻¹ de *cis*-jasmona em uma emulsão com Tween 20 (125 µL de *cis*-jasmona em 0,5 L de água destilada e 0,5 µL de Tween 20). Apenas foram tratadas as variedades Vita 7 e Gurguéia. Após 72 horas os compostos voláteis foram extraídos. As plantas não tratadas foram pulverizadas com água destilada.

3.5 Coletas de compostos voláteis das plantas de feijão caupi

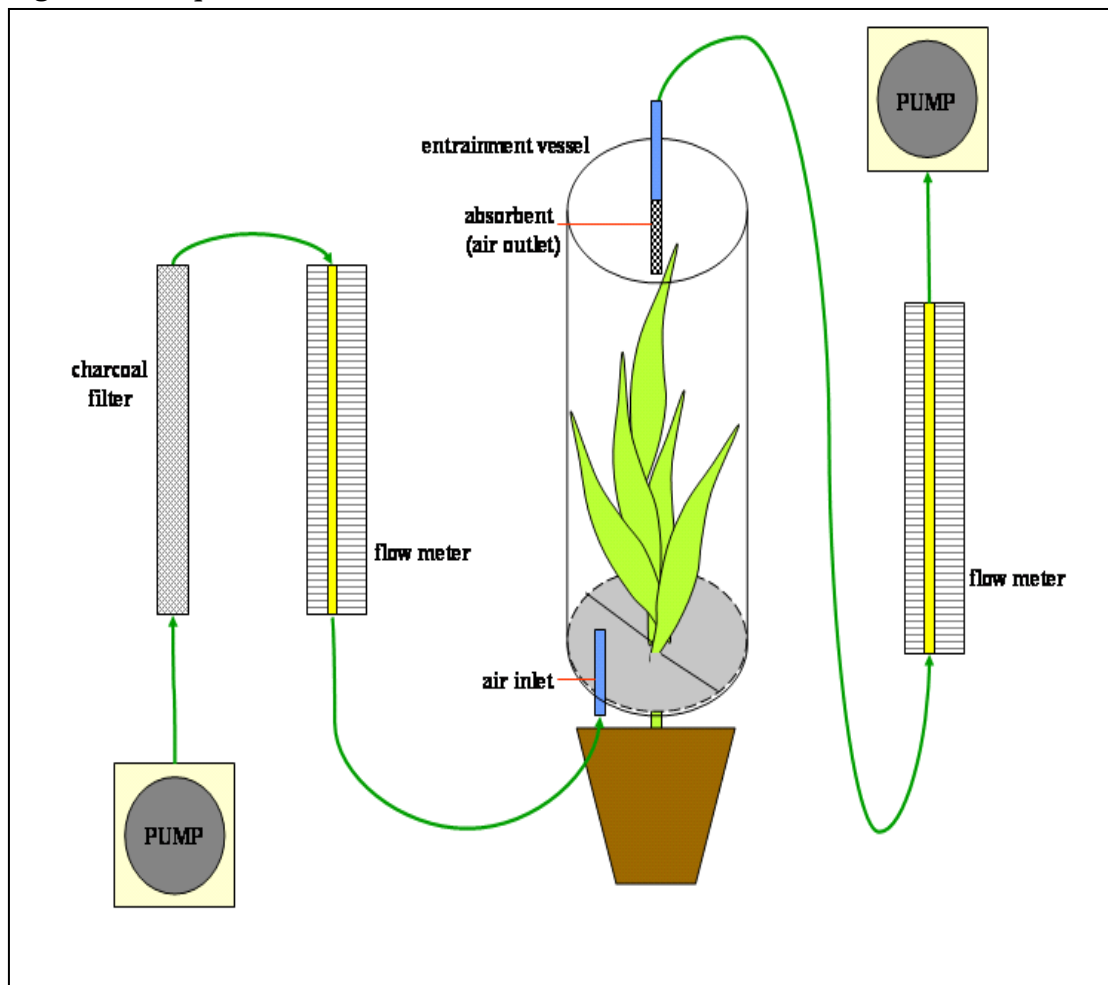
Filtros de carvão foram condicionados antes do uso, colocando-os num forno a uma temperatura de 100 ° C por um período mínimo de 2 horas. Após duas horas foram retirados do forno e deixados envolvidos com papel alumínio até a temperatura baixar o suficiente para serem usados no procedimento de aeração.

Os tubos contendo 60mg do adsorvente Porapak Q, etil-vinilbenzeno-divinilbenzeno foram condicionados antes do uso, passando 4 ml de hexano destilado e aquecido a 132 ° C por 2 h sob um fluxo constante de nitrogênio.

Os compostos voláteis foram coletados das plantas pulverizadas e não pulverizadas com *cis*-jasmona. Neste experimento plantas com três folhas definitivas em torno de mais ou menos três semanas foram infestados com o pulgão preto. Este procedimento consistiu em colocar 5 pulgões ápteros com o auxílio do pincel na folha e aprisionado com uma gaiola para eles não fugirem. Após 24 horas foram removidos os pulgões para coleta dos compostos voláteis, este procedimento foi realizado para 48 horas e 72 horas de infestação.

As plantas foram colocadas dentro de sacos de poliéster utilizado para microondas e freezer como descrito por Stewart_Jones e Poppy (2006), isolando o vaso e o solo com papel alumínio. Ar foi injetado no saco plástico passando antes por um filtro de carvão ativado a um fluxo de 400 mL/min por planta. Tubos com o Porapak Q foram utilizados no topo do saco e o ar coletado a uma vazão de 400 mL/min para cada planta. As plantas foram aeradas por 24 horas. Ao término das aerações a dessorção dos compostos foi realizada passando-se 700 µL de hexano nos tubos contendo o Porapak Q com os voláteis adsorvidos e recolhidos em tubos de vidro Borossilicato com tampa com liner de Politetrafluoroetileno (Teflon) (Figuras 22, 23 e 24). Os tubos de vidro de Borossilicato após a dessorção foram armazenados no Freezer a -20° C e os adsorventes foram ativados e colocados dentro de um recipiente de vidro e envolvidos com papel alumínio para evitar a sua fotodegradação.

Figura 22 - Esquema ilustrativo de coleta de voláteis



Fonte: Chemical Ecology Training Manual, Rothamsted Institute

Figura 23 - Coleta de compostos voláteis por aeração.



Fonte: Autor, 2013.

Figura 24 - Dessorção por solvente de compostos voláteis.



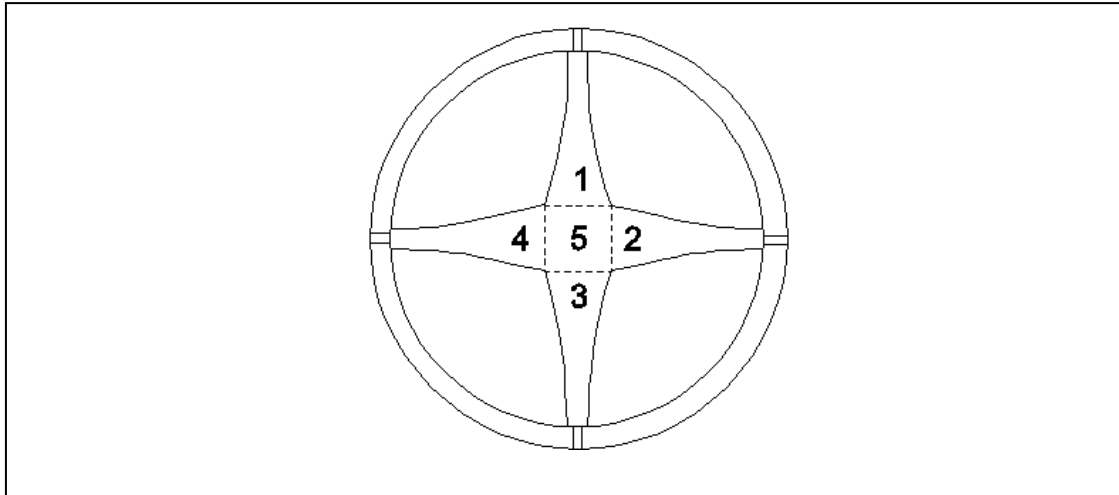
Fonte: Autor, 2013.

3.6 Bioensaios com olfatômetro

Os bioensaios comportamentais em olfatômetro com o pulgão *A. craccivora* foram realizados com os extratos com compostos voláteis das variedades TVU 408 considerada resistente e das variedades Gurguéia e vita 7 consideradas susceptíveis ao *Aphis craccivora*. Foram realizados experimentos com voláteis resultantes do tratamento das plantas com *cis*-jasmona, da infestação. Testes comportamentais foram realizados utilizando olfatômetro de quatro braços (PETTERSSON, 1970; COSTA, 2010) (Figuras 25, 26 e 27) iluminado com uma lâmpada difusa uniforme em temperatura de 25 ± 2 °C. A parte inferior do aparelho foi forrada com papel filtro (Whatman N° 1), e o ar foi sugado a uma razão de 400 mL/min dos quatro braços em direção ao centro do aparelho. Os insetos foram introduzidos na câmara pelo orifício central, e o tempo gasto e o número de entradas em cada braço foram registrados usando o software OLFA durante um período de 16 min. O aparelho foi girado a cada 4 minutos para eliminar o viés direcional. Aliquotas (10 µL) das amostras foram aplicadas a uma tira de papel filtro, e o solvente era deixado evaporar-se durante 30 s. A tira de papel foi então colocada no final do braço do lado tratado. Os três braços controle foram igualmente tratados com 10 µL de hexano em papel de filtro. Cada experimento foi repetido 20 vezes

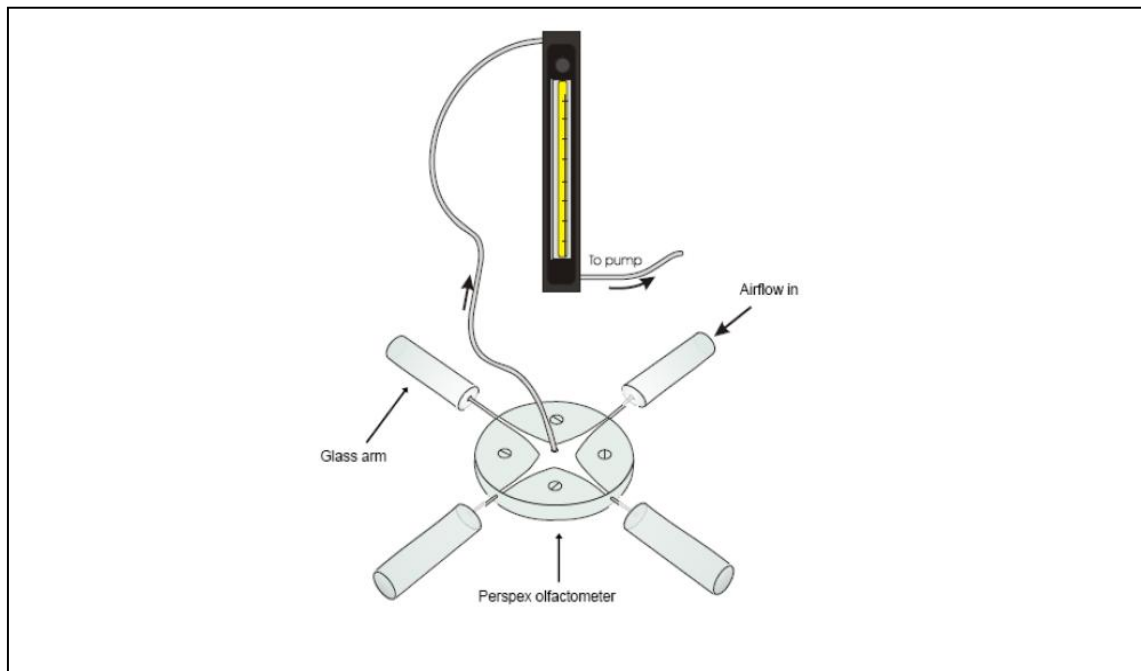
com insetos diferentes e os resultados analisados por estatística paramétrica (Análise de Variância). A média de tempo gasto nos braços do tratamento foi comparada com a média de tempo gasto nos braços dos controles.

Figura 25 - Diagrama ilustrando as cinco áreas do olfatômetro de 4 braços.



Fonte: Chemical Ecology Training Manual, Rothamsted Institute

Figura 26 - Esquema ilustrando o olfactômetro de quatro braços.



Fonte: COSTA, 2010.

Figura 27 - Detalhe do bioensio com olfactômetro de 4 braços



Fonte: Autor, 2013

3.7 Análise de compostos voláteis

Os compostos voláteis dessorvidos do adsorvente foram analisados em Cromatógrafo Gasoso (GC-2010, SHIMADZU) com detector por ionização por chama, equipado com coluna RTx-1 (30mx0,25mm). A temperatura do forno foi mantida a 50°C durante 5 minutos, programada para subir 6°C por minuto, até atingir 270°C e permaneceu por 5 minutos. As temperaturas de injetor foram 250 e 280 °C e o tempo total da corrida foi de 46,67 minutos. O modo de injeção foi *Splitless*. Os compostos foram identificados de forma tentativa calculando-se o índice de Kovats e posterior consulta na base de dados Pherobase. Para o cálculo uma série de alcanos C7-C40, foi injetada no cromatógrafo.

Os extratos também foram analisados no Cromatografo Gasoso acoplado ao Espectrômetro de Massas (GC/MS-QP 2010 Ultra; SHIMADZU) equipado com a coluna DB-5 column (30m x 0 25 mm id x 0.25 µm); J&W Scientific e hélio como gás de arraste. As temperaturas da Fonte de Iões e da Interface foram 200°C e 290°C respectivamente. O modo de injeção da amostra foi *Splitless*. Os compostos foram identificados por comparação automática usando o banco de dados Wiley MS (Wiley Class 5000, sexta edição) usando o GCMSolution software. E ainda pelo cálculo do índice de retenção, usando um padrão de alcanos de C7-C40.

3.8 Ensaio de antibiose em casa de vegetação

Utilizaram-se as concentrações 50g/ha, 75g/ha e 100g/ha para o tratamento e para a testemunha foi utilizada 500 μ L de Tween 20 + 1 L de água . Todos os tratamentos apresentaram cinco repetições, sendo a unidade experimental constituída de uma planta por copo.

Aos quinze dias após o plantio, as plantas foram devidamente distribuídas sobre as bancadas de maneira a não se tocarem, para que fosse possível realizar a infestação, sendo que a pulverização com a *cis*-jasmona foi realizada três dias antes para ocorrer a sua translocação na planta. Em seguida, foi colocada em uma gaiola protegida com tela antiafídeos para aprisionar os cinco pulgões ápteros que foram cuidadosamente selecionadas e retiradas, com o auxílio de um pincel, de plantas de feijão caupi da criação estoque (Figura 28). Três dias após a infestação, foi quantificado o número de insetos adultos presentes em cada cultivar, retirando-os da planta. Passados cinco dias, foi avaliado, por planta, o número total de ninfas, sem separá-las por ínstar.

Figura 28 - Detalhe da gaiola utilizada para o estudo de antibiose do pulgão preto em feijão caupi.



Fonte: TRINDADE, 2013.

3.9 Análises estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey. O efeito da dosagem foi usada uma regressão.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliação da suscetibilidade das variedades do feijão caupi

Os ensaios realizados nesta pesquisa sem chance de escolha do pulgão preto, *A. craccivora*, mostraram que a variedade TVU 408 apresentou menor número de adultos vivos e menor número de ninfas, comparação com as outras variedades Vita7 e Gurguéia, conforme a tabela abaixo (Tabela 1).

Tabela 1 - Número médio de adultos, ninfas e ninfas por adulto do pulgão preto, *A. craccivora*, em 3 cultivares de feijão caupi, *V. unguiculata*. (ANOVA, a 5% de probabilidade).

Cultivar ¹	AV1	AM1	AV2	AM2	NF1	NF2
Gurguéia	5,00 ± 0,00A	0,00 ± 0,00B	11,40± 3,26 A	0,00 ± 0,00A	15,80± 5,24 A	17,40±2,86 A
Vita 7	4,20 ± 0,13 ^a	0,80± 0,13 B	9,20± 1,66 A	0,00 ± 0,00A	24,70± 6,40 A	12,00± 1,24 A
TVU	1,00 ± 0,49B	4,00± 0,49 A	0,30± 0,15 B	0,60± 0,40 A	0,80± 0,49 B	0,90± 0,48 B

Fonte: Autor, 2013.

Neste ensaio sem chance de escolha, observou-se uma diferença estatística, entre os materiais testados, quando considerado o número de ninfas e a relação ninfas por adulto vivo de *Aphis craccivora*. É importante referenciar que ao se avaliar o número de adultos vivos a análise de variância detectou a existência de diferenças significativas entre os tratamentos a 5% de probabilidade. Entretanto as variedades Vita7 e Gurguéia não apresentaram diferença significativa entre elas, mas ambas diferiram significativamente em relação a variedade TVU 408. Ainda no mesmo ensaio, na avaliação do número de ninfas vivas e da relação ninfas e adultos os genótipos Vita 7 e Gurguéia mostraram melhores condições para a sobrevivência e reprodução e desenvolvimento dos pulgões.

A cultivar TVU 408 apresentou menor número de adultos vivos e também menor número de ninfas em relação as outras duas cultivares Vita 7 e Gurguéia. Silva & Blecher (2010) estudaram a resistência de vários genótipos de *V. unguiculata* e constataram que o

¹ As médias na coluna não seguidas da mesma letra diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade de erro; Av1=Adultos vivos primeira avaliação; Av2=Adultos vivos segunda avaliação; AM1=Adultos mortos primeira avaliação; AM2=Adultos mortos segunda avaliação; NF1=Número de ninfas primeira avaliação; NF2=Número de ninfas segunda.

genótipo TVU 408 é resistente a *A. craccivora*, e a resistência poderia ser tanto do tipo antibiose como antixenose. Ainda de acordo com os mesmos autores, dentre as variedades consideradas susceptíveis, a cultivar Vita 7 foi suscetível em ensaios realizados. Ofuya (1988) classificou em seus estudos a cultivar TVU408 como resistente e o mecanismo de resistência seria do tipo antibiose em casa de vegetação. Silva e Bleicher (2012), trabalhando com vários genótipos de caupi constataram que os genótipos BRS Guariba, TVu 410, BRS Paraguaçu, TVu 36, Sempre Verde, TVu 408 P₂, Setentão e Epace 10 apresentaram resistência ao pulgão sendo a resistência dos genótipos TVu 408 P₂, TVu 410 e TVu 36 por antibiose (SILVA; BLEICHER 2010).

Adicionalmente, Laamari et al (2008), avaliaram a resistência de 7 cultivares de feijão *Vicia faba* L em relação a *A. craccivora*, tendo constatado que todas as variedades são atrativas a *A. craccivora* sendo a maior atratividade verificada nas variedades V23 e V24 enquanto que a variedade V51 mostrou um alto nível de resistência por antibiose afetando significativamente vários parâmetros da biologia do pulgão. Qiu et al (2011) avaliaram a resistência de 12 variedades de arroz em relação a *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae) Stål (1854), resultados desta pesquisa apontaram que as variedades Swarnalata e B5 apresentaram altos níveis de antibiose e tolerância em relação a *N. lugens*, enquanto que, as variedades Mudgo e T12 mostraram uma moderada antibiose e tolerância a BHP e as demais variedades foram classificadas como susceptíveis.

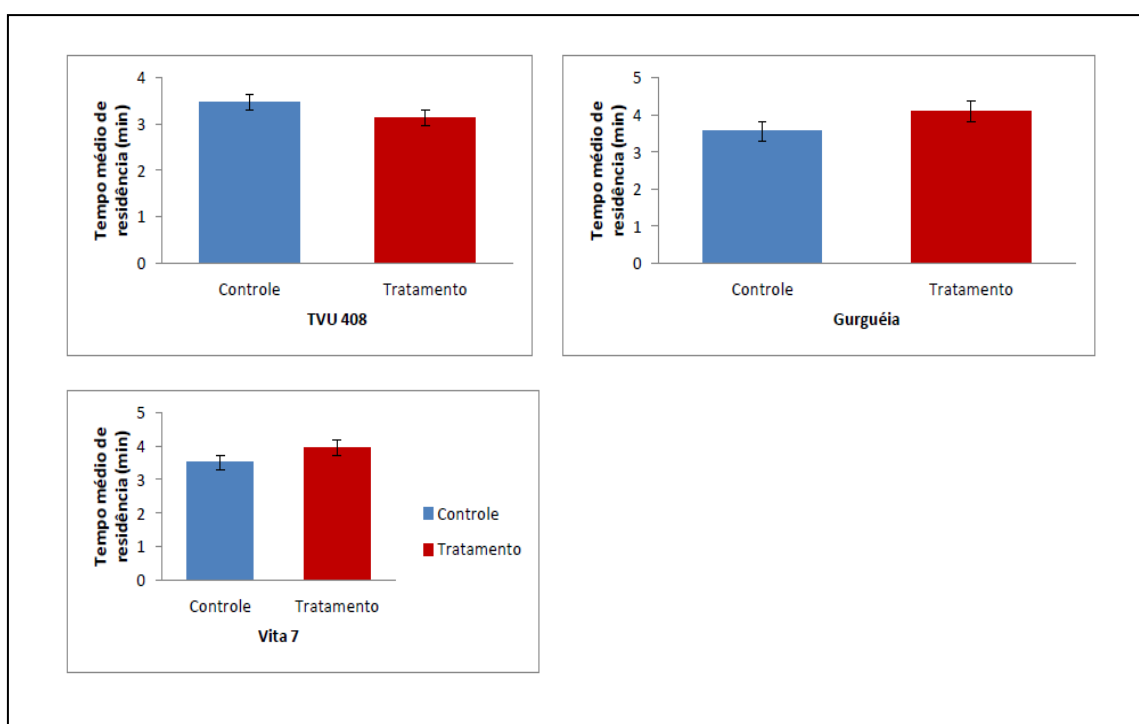
A resistência do feijão caupi a *A. craccivora* é dependente do fenômeno genótipo/ambiente (SILVA; BLEICHER, 2010), pois alguns genótipos podem ser resistentes em outros países e susceptíveis em outros. Por exemplo, os mesmos autores constaram que o genótipo TVU310 é susceptível de acordo com a análise estatística feita, mas resistente de acordo com os experimentos realizados por Singh (1977) na Nigéria. Outro fator relevante é a existência de vários biótipos de *A. craccivora*, o que pode ainda ser causa da diferença nos resultados em vários locais de estudo. De acordo com Moraes e Bleicher (2007), existem pelo menos 5 biotipos do pulgão do feijão.

4.2 Ação dos compostos voláteis obtidos de plantas de feijão caupi testemunhas

Os ensaios comportamentais realizados com *A. craccivora* usando os extratos dos voláteis de feijão caupi, sem nenhum tratamento, das três variedades, mostraram não haver diferença significativa entre o controle e a amostra sob análise, em relação ao tempo de

residência em cada braço do olfactometro (Figura 29). Comparando os tempos de residência das três variedades usando ANOVA a 5% de probabilidade, não houve diferença significativa entre as três variedades. O teste de Tukey também mostrou não existir diferença significativa entre as médias dos tempos de residência do pulgão no olfatômetro, TVU 408 (3,1425), Vita 7(3,9755) e Gurguéia (4,1175).

Figura 29 - Resposta comportamental do pulgão preto *A. craccivora* aos compostos orgânicos voláteis emitidos pelas plantas testemunhas (COVs –RPT) das cultivares TVu 408, Gurguéia e Vita 7 e em relação ao hexano (controle). O *A. craccivora* foi observado por 16 minutos (N=20). A altura no gráfico de barras corresponde ao tempo médio gasto pelo inseto em cada braço do olfatômetro. As respostas comportamentais do inseto foram analisadas por ANOVA e seguida pelo Teste de Tukey ($P<0.05$).



Fonte: Autor, 2013

Os compostos orgânicos orgânicos voláteis liberados pelas três cultivares foram diferentes conforme pode ser visto na Tabela 2.

Tabela 2 - Compostos orgânicos voláteis emitidos pelas três cultivares de feijão caupi sem nenhum tratamento.

Nome do composto	RI	Cultivares		
		TVU408	Vita 7	Gurguéia
(α)- Terpineol	1190	-	X	-
2-fenil-1,3-dioxolano	1416	X	-	-
2-metilpentanol	925	x	-	-
1(<i>R</i>)-(α)-pineno	937	-	x	-
2,4-dietil-6-metil-1,3,5-trioxano	1340	-	x	-
2- α -pineno	982	-	x	-
2-metil-2-hepten-6-ona	989	x	x	-
6,11-dimetil-2,6,10-dodecatrien-1-ol	2240	x	-	-
Acetato de 2-propenila	915	x	-	-
Acetilcedreno	2142	x	-	-
2-metil-1-butenilabenzeno	1237	x	-	-
Óxido de cariofileno	1674	-	-	x
Cis-ocimene	930	-	-	x
Dihidrofarnesol	972	-	-	x
2,6,10 –trimetildodecano (farnesano)	1398	-	-	x
Endo-fenchol	1162	x	-	-
p-etilacetofenona	918	x	-	-
Geranil acetona	1646	x	x	-
L-(α)-terpineol	1269	x	-	-
Limoneno	1049	-	x	-
L-limoneno	1024	-	-	x
Acetato de Mentilo	1134	x	-	-
Nerol	945	x	-	-
Hidrato de <i>trans</i> sabineno	1251	-	-	x

Índice de retenção (RI); (x) presença; (-) ausência; Fase estacionária: DB5.

Fonte: Autor, 2013

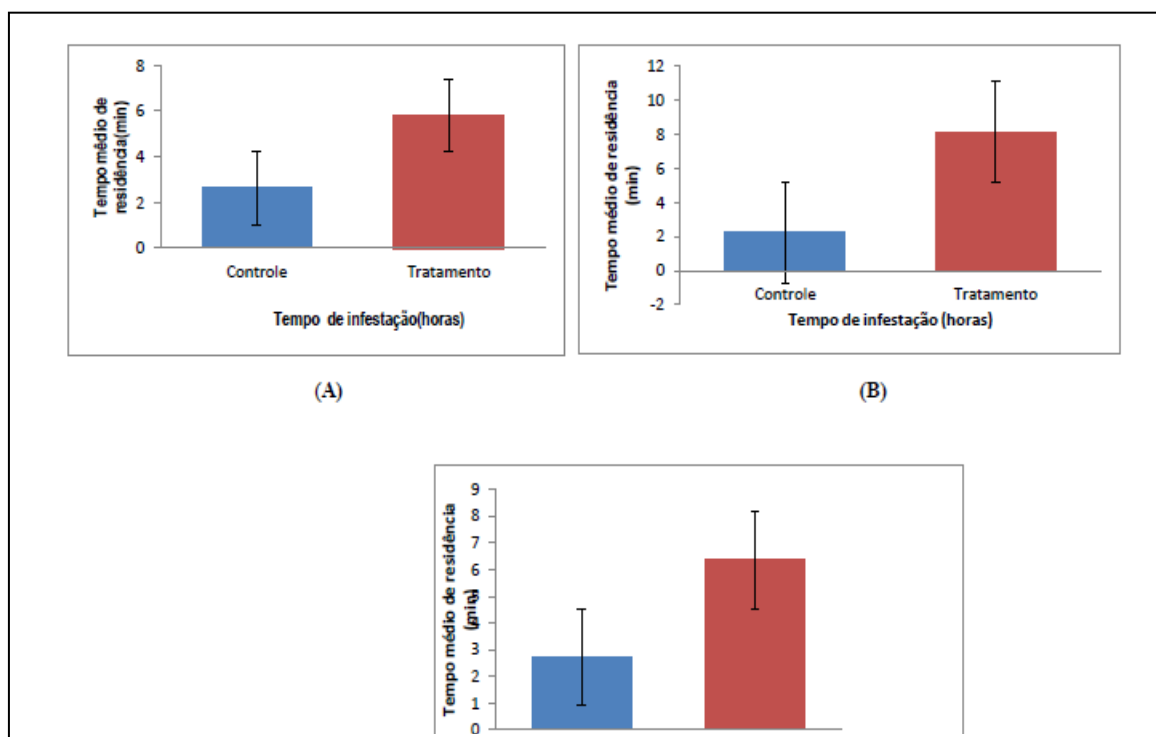
Por outro lado, os compostos voláteis produzidos pelas três cultivares não tiveram um efeito comportamental significativo. Bolter et al (1997), observou que o besouro da batata inglesa, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae) Say, 1824 não foi atraído por compostos voláteis liberados por plantas jovens. Porém a atração do inseto foi verificada após o ataque. Costa et al (2010), observaram que na cultivar suscetível de pimentão, Sweet Pepper All Big produziu voláteis que não foram atrativos ao pulgão *A. gossipy*. Porém a cultivar resistente produziu compostos voláteis que foram repelentes a praga. Contudo, a cultivar TVu 408, pelo fato de ter uma resistência por antibiose (MORAES; BLEICHER, 2007), provavelmente os seus compostos voláteis não tiveram uma ação comportamental significativa ao pulgão preto.

Os compostos voláteis liberados pelas três cultivares foram diferentes entre si. Contudo algumas substâncias como limoneno, 2- α -pineno liberadas pela cultivar Vita 7 foram encontrados na cultivar Vita 1 (WANDE et al., 1989).

4.3 Ação dos voláteis obtidos após a infestação do feijão caupi sobre o comportamento do pulgão preto.

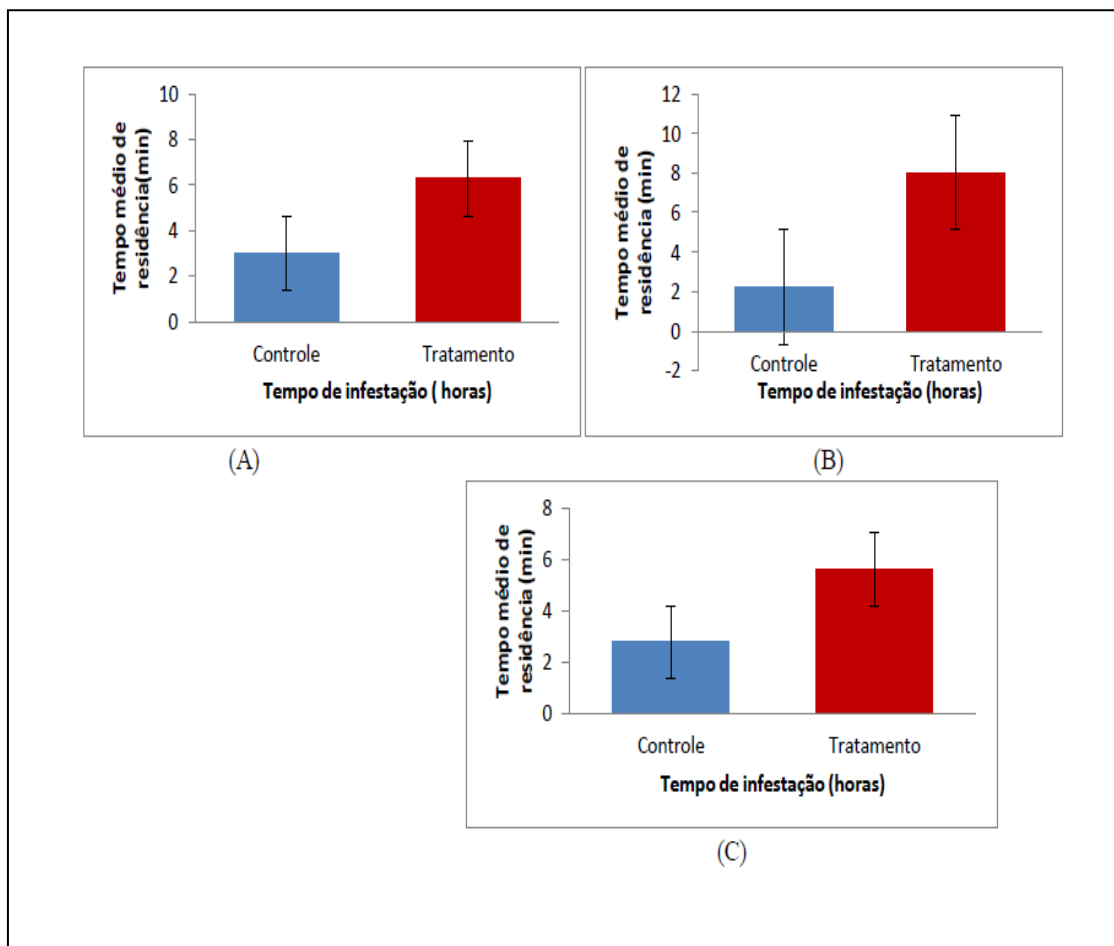
Os resultados obtidos em ensaios de olfatométrica com os compostos orgânicos voláteis obtidos pelas variedades Vita 7 e Guruguéia após a infestação atraíram significativamente o afídeo *A. craccivora* (Teste de Tukey) (Vide Figuras 30 e 31).

Figura 30 - Resposta comportamental do pulgão preto *A. craccivora* aos voláteis emitidos pela cultivar Guruguéia após infestação (COVs-PAI) em relação ao hexano (controle), no olfatômetro de quatro braços em olfatômetro. O *A. craccivora* foi observado por 16 minutos (N=20). (A)-24horas; (B)-48horas e (C)-72horas A altura no gráfico de barras corresponde ao tempo médio gasto pelo inseto em cada braço do olfatômetro. As respostas comportamentais do inseto foram analisadas por ANOVA e seguida pelo Teste de Tukey ($P<0.05$).



Fonte: Autor, 2013

Figura 31 - Resposta do pulgão preto *Aphis craccivora* aos voláteis emitidos pela cultivar Vita 7 após infestação (COVs-PAI) em relação ao hexano, no olfatômetro de quatro braços. O *A. craccivora* foi observado por 16 minutos (N=20). (A)-24horas; (B)-48horas e (C)-72horas A altura no gráfico de barras corresponde ao tempo médio gasto pelo inseto em cada braço do olfatômetro. As respostas comportamentais do inseto foram analisadas por ANOVA e seguida pelo Teste de Tukey ($P<0.05$).



Fonte: Autor, 2013

A infestação do feijão caupi, cultivar Gurguéia pelo pulgão preto alterou a composição dos compostos orgânicos voláteis. Alguns compostos produzidos antes da infestação não foram produzidos após a infestação e ainda foram produzidos novos compostos que não foram liberados antes da infestação conforme pode ser visto na Tabela 3.

Tabela 3 - Compostos voláteis liberados pelo feijão caupi, cultivar Gurguéia após a infestação pelo pulgão preto, *A. craccivora*, a infestação foi realizada durante 24horas, 48horas e 72horas;

Nome do composto	RI	Gurguéia			
		Test	24horas	48horas	72horas
2-metóxi- 1,4-benzenodiol,	*	-	-	-	X
Diacetato de 1,4-butanodiol	947	-	-	X	-
13-metil-(Z)-14-nonacoseno	*	-	X	-	-
17-pentatriaconteno	*	-	-	X	-
2,4-dimetildeceno-1	1119	-	-	X	-
2-metil-2-hepten-6-ona	1001	-	-	-	X
Acetato de 4-metil-2-pentila	959	-	-	X	-
Acetato de 4-tert-butilciclohexila	1414	-	-	-	X
6-metil-5-hepten-2-ona	959	-	-	X	-
(R)-1-metil-5-(1-metiletienila) ciclohexano	1055	-	-	-	X
Geranil acetona	1647	-	-	-	X
4-metilhexadecano	1954	-	-	X	-
Isozonarol	1975	-	-	-	X
L- α -terpineol	1269	-	-	-	X
2-metil-5-metil-(1-metietil) fenol	1359	-	X	-	-
Fitol	1158	-	-	-	X
Tiogermaniol	*	-	X	-	-
<i>Trans</i> -(β .)-cariofileno	1603	-	-	-	X

*Não foi possível calcular o índice de retenção (RI); (x) presença; (-) ausência; Fase estacionária: DB5.

Fonte: Autor, 2013

A infestação do feijão caupi, cultivar Vita 7 pelo pulgão preto alterou a composição dos compostos orgânicos voláteis. Alguns compostos produzidos antes da infestação não foram produzidos após a infestação e ainda foram produzidos novos compostos que não foram liberados antes da infestação conforme pode ser visto na Tabela 4.

Tabela 4 - Compostos voláteis liberados pelo feijão caupi, cultivar Vita 7 após a infestação pelo pulgão preto, *A. craccivora*, a infestação foi realizada durante 24horas, 48horas e 72horas.

Nome do composto	RI	Vita 7			
		Test	24horas	48horas	72horas
1-octen-3-ol	993	-	x	x	x
1-propanone, 1-(2,4-dimetilfenil)-1-propanona	1508	-	-	x	-
3-metil-2-butanona	914	-	-	-	x
2-isopropil-5-metil-1-heptanol	1574	-	x	-	-
2-metil-2-hepten-6-one	989	x	x	x	x
2-nonadecanona	1106	-	-	-	x
(E)-2-nonenal	1137	-	-	-	x
2-metil-6-metileno-2-octanol	1107	-	x	-	-
2-propenoato de 3-(4-metóxfenil)-2-etilhexila	*	-	-	x	-
(Z)-3-hexen-1-ol	858	-	-	x	x
4,9,13,17-tetrametil-4,8,12,16-octadecatetraenal	*	-	-	x	-
4-etilbenzoato de 2-etilhexila	*	-	-	x	-
4-terpineol	1250	-	x	-	-
4-(1-metiletil)benzaldeído	*	-	-	x	-
4-etilbenzaldeído	1228	-	-	x	-
Trans-Cinnamaldeído	1254	-	-	x	-
D-limoneno	1054	-	-	x	-
Geranil acetone	1646	x	x	x	x
Hexadecanal	2042	-	-	-	x
Hexil octil éter	1794	-	-	-	x
Limoneno	1049	x	x	-	-
Metóxiacetato de pentadecila	*	-	-	x	-
m-etilacetofenona	1370	-	-	x	x
n-pentadecanol	2303	-	-	x	-
Nitrito Sec-butila	963	-	-	x	-
Thunbergol	2349	-	x	-	-
Trans-(β)-cariofileno	1602	-	-	-	x

*Não foi possível calcular o índice de retenção; (-) ausência; (x) presença.; test- planta testemunha; Fase estacionária: DB5.

Fonte: Autor, 2013.

O pulgão preto, *A. craccivora*, preferiu compostos voláteis induzidos pela herbivoria. Resultados similares têm sido referenciados na literatura (HARARI; BEN-YAKIR; ROSEN, 1994; BOLTER et al., 1996; LOUGHRIN, 1997; PETERSON et al., 1998; CARROLL et al., 2006; CARROLL et al., 2008), observaram que as larvas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera:Noctuidae) Walker foram atraídos por voláteis de milho produzidos após o ataque. De acordo com os mesmos autores, os voláteis obtidos após o ataque e os voláteis obtidos de plantas sadias diferem quantitativamente. Contudo, o linalol e o (3E)-4,8-dimetil-

1,3,7 nonatrieno (DMNT) foram os que mais variaram. Da mesma forma, Carroll et al (2008) constataram que os voláteis do feijão caupi induzidos por adultos de *S. fungiperda* atraíram significativamente os recém-eclodidos de *S. fungiperda*. Os bioensaios mostraram que os insetos recém-eclodidos de *S. fungiperda* não responderam significativamente aos voláteis do feijão-caupi de plantas testemunhas, enquanto que após o ataque os voláteis produzidos foram significativamente atrativos aos insetos recém-nascidos. Provavelmente essa mudança deve-se a mudança no perfil de compostos orgânicos voláteis obtidos depois a injúria, pois os autores observaram que após a injúria houve aumento na produção de DMNT.

Petterson et al (1998), constataram que o pulgão preto, *A. craccivora*, foi significativamente atraído por voláteis produzidos após o ataque do feijão caupi, *V. unguiculata*. Os mesmos autores observaram que esta atração aumentava na medida em que a infestação era prolongada, contudo após 48 horas a atratividade começava a declinar e quando comparada as plantas não injuriadas já não havia diferença significativa de atratividade. Bolter et al (1997), analisando a interação entre *L. decemlineata* e batata inglesa constataram que os voláteis emitidos por plantas jovens não atraíram significativamente o *Leptinotarsa decemlineata*, não obstante, quando estas foram infestados por *L. decemlineata* os voláteis produzidos tornaram-se atrativos ao inseto-praga. De acordo com os mesmos autores, a infestação das plantas jovens por larvas *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) Hübner, 1808 também produziu voláteis que foram atrativos a *L. decemlineata*.

Os insetos usam compostos voláteis para localizar os seus hospedeiros (plantas), por isso a medida que a planta é atacada há um incremento na produção dos mesmos em alguns casos facilitando a localização dos hospedeiros. Entretanto é difícil predizer o comportamento dos insetos pragas apenas com o perfil de substâncias induzidas, isto é, se os compostos orgânicos voláteis serão atrativos ou repelentes. Por exemplo, o algodão quando atacado com *A. gossypii* é estimulada a produção do DMNT e este composto volátil em laboratório mostrou-se repelente ao pulgão e ainda atrativo ao inimigo natural (HEGDE et al., 2012). Contudo a mesma substância é aumentada após o ataque do feijão caupi *V. unguiculata* por *Spodoptera fungiperda* e esta por sua vez aumenta a atratividade dos insetos recém-eclodidos de *S. fungiperda*. Por isso o tipo comportamento que os voláteis podem proporcionar pode depender, da biologia do inseto, e sua adaptação na busca do hospedeiro (BIRCH, 1984; PASTEELS; ROWELL-RAHIE; RAUPP, 1988) ou ainda no tipo de cultivar estudada (COSTA, 2010).

Por outro lado, verificou-se que os compostos voláteis induzidos por herbivoria atraíram o pulgão preto e ainda foi observado que os voláteis produzidos após 48 horas de infestação foram os mais atrativos. Petterson et al. (1998), verificaram que quando feijão caupi (cultivar Bushitavo) é infestado com *A. craccivora* a atratividade aumentava em função da duração desta, entretanto, o pico máximo foi verificado após 48 horas, e após este tempo começou a decrescer e se aproximando a das plantas não injuriadas. Contudo, o mesmo autor sugere que este decréscimo no índice de atratividade deve-se basicamente a perda de qualidade do alimento ao longo do tempo. Porém, este comportamento do pulgão pode estar relacionado com mudança no perfil dos voláteis produzidos em cada intervalo de tempo de infestação, pois em ambas variedades o perfil de voláteis variou com o tempo de infestação. A composição de compostos orgânicos voláteis pode variar com o tempo de infestação ou dano e a indução de certos compostos pode ocorrer em diferentes velocidades (TURLINGS et al., 1998).

Adicionalmente, a cultivar Vita 7 após 48 horas de infestação produziu exclusivamente compostos voláteis, que podem ser responsáveis pela maior atração do pulgão preto, por exemplo: Z-3-hexenol, 4-etilbenzaldeído, 4-(1-metiletil)-Benzaldeído, D-limoneno, *sec*-butil nitrila. Alguns destes compostos como: Z-3-hexenol, 4-etilbenzaldeído, 4-(1-metiletil)-Benzaldeído foram encontrados no trigo e foram responsáveis pela atração de *Rhopalosiphum padi* (Hemiptera: Aphididae) Koch, 1854 (QUIROZ; NIEMEYER, 1998). Han; Zhang; Byers (2012), constataram que os compostos voláteis de folhas verdes (GLV) como (Z)-hexenol foram atrativos ao pulgão, *Toxoptera aurantii* (Hemiptera: Aphididae) Boyer principal praga de *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze (Theaceae). Visser; Piron; Hardie (1996), constataram que vários afídeos têm uma resposta electrofisiológica para vários compostos orgânicos como voláteis de folhas verdes (GLV), benzaldeídos, nitrilas e monoterpenos e alguns isotiocinatos, porém a resposta comportamental varia da espécie para outra. Por outro lado a cultivar Gurguéia após 48 horas de infestação, também produziu compostos distintos incluindo o 6-metil-5-hepten-2-ona. Karlsson et al. (2009), constataram que mistura de voláteis produzidos por batata incluindo 6-metil-5-hepten-2-ona foram atrativos a *Tecia solanivora* (Lepidoptera: Gelechiidae). A mesma substância foi repelente a *Cephus cinctus* (Hymenoptera: Cephidae) Norton, praga do trigo na América do Norte (PIESIK et al., 2008) e ainda foi atrativo ao parasitoide de pulgões *Aphidius ervi* (DU et al., 1998).

Não obstante, vale destacar que as cultivares Vita 7 e Gurguéia após 72 horas de infestação liberaram o composto orgânico *trans*-(β)-cariofileno, que é referenciado na literatura como uma substância de defesa que pode atrair inimigos naturais de pragas de milho (KOLLNER et al., 2008) e está ligada a maior vulnerabilidade de cultivares de milho que não produzem este componente volátil (RASMANN 2005; RASMANN e TURLINGS, 2007). Ainda foi observado que o *trans*-(β)-cariofileno inibe a ação do *E*-(β)-farneseno feromônio de alarme de maior parte de pulgões, facilitando desta forma a ação de inimigos naturais (MULLER, 1958; DAWSON et al., 1986).

Neste âmbito, é importante salientar que o perfil de compostos voláteis induzidos por herbivoria sempre diferem consideravelmente do perfil de voláteis de plantas não injuriadas e muda rapidamente a todo tempo (TURLINGS et al., 1998). Devem-se considerar ambos papéis destes na localização dos hospedeiros (plantas) por parte de herbívoros e na localização de herbívoros por parte de inimigos naturais. Portanto, estudos com parasitoides mostraram mais uma vez o quanto é complexa a atribuição individual de uma função biológica a certo componente proveniente de uma mistura de voláteis atrativos ao parasitóide, pois testes individuais de componentes alguns foram atrativos outros repelentes e ainda alguns não tiveram papel comportamental significativo e outros mascararam a atividade dos outros (D'ALESSANDRO et al., 2006; HEDGE et al., 2012).

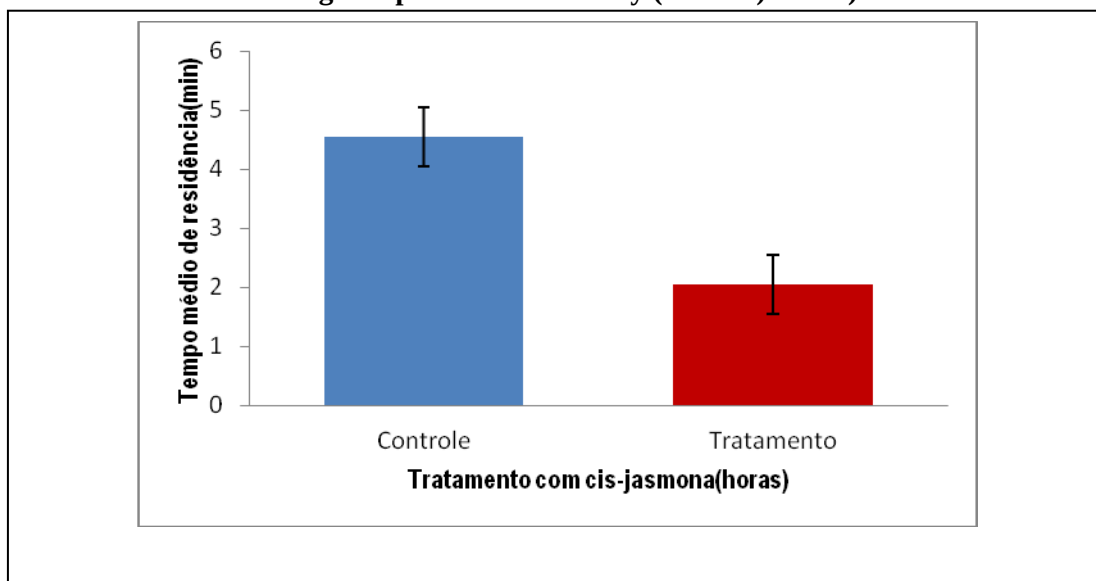
4.4 Ação dos voláteis produzidos após a aplicação da *cis*-jasmona sobre o pulgão preto

O pulgão preto, *A. craccivora*, preferiu o controle (hexano) em relação aos compostos orgânicos voláteis emitidos pelas plantas (Vita 7 e Gurguéia) após a aplicação da *cis*-jasmona, conforme pode ser vistos nas (Figuras 32 e 33).

Os compostos orgânicos voláteis liberados pelas variedades Gurguéia e Vita 7 após a aplicação da *cis*-jasmona estão nas tabelas 5 e 6 respectivamente. Contudo nota-se que a variedade Vita 7 após aplicação da *cis*-jasmona liberou 6 compostos voláteis que não foram liberados pelas plantas testemunhas nomeadamente 3-butenil hexil éter, sabineno, mirceno, acetato de *Z*-3-hexenila, eucaliptol e geranil nitrila, exceto o limoneno. Por outro lado a variedade Gurguéia respondeu a pulverização da *cis*-jasmona liberando compostos orgânicos voláteis diferentes das plantas testemunhas, nomeadamente: ácido 3-hidróxi-metilvalérico,

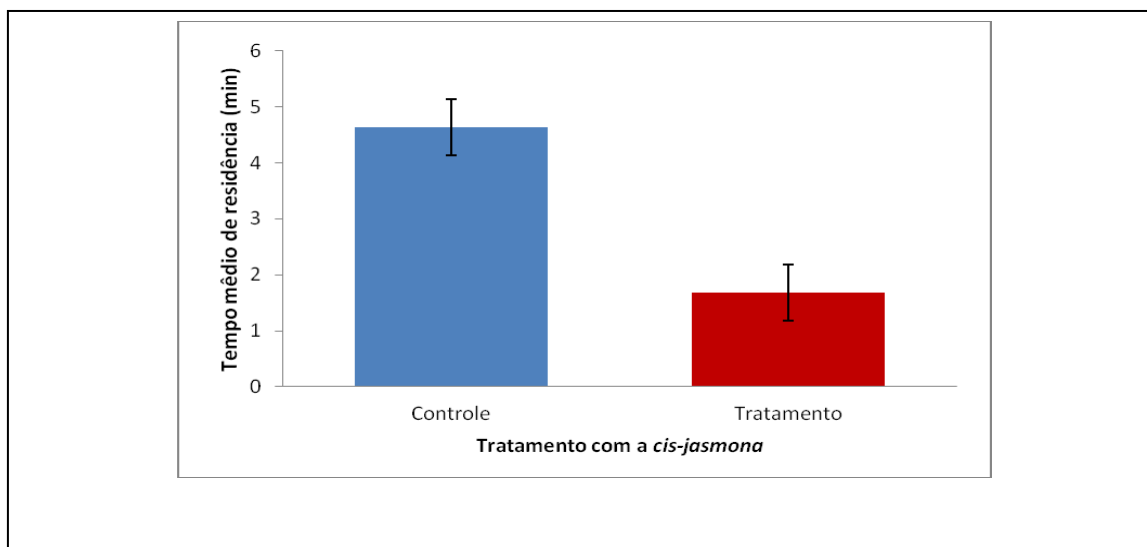
trans-nerolidol, dihidrojasmonato de metila, 4,5(α,α)-eudesmano, entre outros conforme pode ser visto na **tabela 6**.

Figura 32 - Resposta comportamental do pulgão preto *A. craccivora* aos compostos orgânicos voláteis emitidos pela cultivar Vita 7 após aplicação da *cis*-jasmona (COVs-CJ) em relação ao hexano (controle) em olfatômetro. O *A. craccivora* foi observado por 16 minutos (N=20). O asterístico indica a existência de diferenças significativas. A altura no gráfico de barras corresponde ao tempo médio gasto pelo inseto em cada braço do olfatômetro. As respostas comportamentais do inseto foram analisadas por ANOVA e seguida pelo Teste de Tukey ($P<0.05$). N=20).



Fonte: Autor, 2013

Figura 33 - Resposta comportamental do pulgão preto *A. craccivora* aos compostos orgânicos voláteis emitidos pela cultivar Gurguéia após aplicação da cis-jasmona (COVs-CJ) em relação ao hexano (controle) em olfatômetro. O *A. craccivora* foi observado por 16 minutos (N=20). O asterístico indica a existência de diferenças significativas. A altura no gráfico de barras corresponde ao tempo médio gasto pelo inseto em cada braço do olfatômetro. As respostas comportamentais do inseto foram analisadas por ANOVA e seguida pelo Teste de Tukey (P<0.05)



Fonte: Autor, 2013.

A aplicação da cis-jasmona no feijão caupi mudou o perfil de compostos voláteis (tabelas 5 e 6).

Tabela 5 - Compostos orgânicos voláteis emitidos pela cultivar Vita 7 após aplicação de cis-jasmona (dados de GC-MS)

Nome do composto	RI	Vita 7	
		Sem CJ	Com Cj
3-butenyl hexyl éter	950	-	x
Sabineno	972	-	x
Mirceno	989	-	x
Acetato de Z-3-Hexenila	1003	-	x
Limoneno	1025	X	x
Eucaliptol (1,8-cineole)	1028	-	x
Geranil nitrila	1112	-	x

(-) ausência; (x) presença.; RI-índice de retenção.; Fase estacionária : DB5

Fonte: Autor, 2013.

Tabela 6 - Compostos orgânicos voláteis emitidos pela cultivar Gurguéia após aplicação de *cis*-jasmona (Dados de GC-MS)

Nome do composto	RI	Gurguéia	
		sem CJ	Com CJ
Ácido 3-Hidróxi-3-metilvalérico	936	-	X
Nitrito de Sec-Butil	963	-	X
Nonanal	1152	X	X
4-etilbenzaldeído	1229	-	X
3-etilacetofenona	1371	-	X
Tetradecano	1569	-	X
<i>Trans</i> -3,7,11-trimetil -1,6,10-Dodecatrien-3-ol,(<i>Trans</i> -Nerolidol)	1768	-	X
Docosano	1779	-	X
Heptadecano	1868	-	X
8-metil Heptadecano	1936	-	X
2,6,10-trimetilPentadecano	1941	-	X
Dihidrojasmonato de metilo	1951	-	X
2,6,11,15-tetrametilHexadecano	1964	-	X
Heptadecano	2019	-	X
2-Metilheptadecano	2117	-	X
Octadecano	2176	-	X
Heneicosano	2334	-	X
2-hidróxiCiclopentadecanona	2401	-	X
Metóxiacetado de pentadecila	*	-	X
Cis-1,3-di(n-hexil)ciclohexano	*	-	X
4-Etilbenzoato de 4-hexadecil	*	-	X
(Z)-9-tricoseno	*	-	X
(+)-Mentilacetato	*	-	X
Hexadecanedinitrila	*	-	X
1-pentacosanol	*	-	X
(-)-Isolongifolol	*	-	X
8a-etilperihidro-1,8-Naftalenodiona	*	-	X
Oxalato de Ciclohexilmetil Octadecil	*	-	X
4,5-(α,α)-eudesmano	*	-	X
(-)-Lavandulol	*	-	X

*Não foi possível calcular o índice de retenção; (-) ausência; (x) presença; RI-índice de retenção;

Fase estacionária: DB5.

Fonte: Autor, 2013

O pulgão preto, *A. craccivora* preferiu o controle hexano em relação aos compostos voláteis prouzidos pelo feijão caupi após aplicação da *cis*-jasmona. Birkett et al.(2000), observaram em seus ensaios que os voláteis obtidos após aplicação da *cis*-jasmona repeliram significativamente o pulgão de alface, *Nasonovia ribis nigri* (Mosley) em laboratório. Hegde et al. (2012), observaram que o pulgão de algodoeiro, *A. gossypii* foi preferencialmente atraído por voláteis do controle e menos atraído por voláteis induzidos com a aplicação da *cis*-jasmona, o mesmo efeito foi constatado por Costa (2010), *A. gossypii* com o pulgão do

pimentão. Com os afídeos dos cereais a *cis*-jasmona teve o mesmo efeito, *Metopolophium dirhodum* (Walker), *Sitobion avenae* (Fabricius), *Rhopalosiphum padi* (Linnaeus) (BRUCE et al. 2003a, 2003b), *Acyrtosiphum pisum* (BIRKETT et al., 2000), *M. persicae* (BRUCE et al. 2008).

O comportamento diferenciado do *A. craccivora* em plantas intactas e as tratadas com *cis*-jasmona revela que a *cis*-jasmona tem efeito indutor de resistência indireta no feijão caupi *V. unguiculata*. Estudos têm mostrado que a resistência envolve a produção de substâncias que as plantas não tratadas não produzem ou ainda o aumento na produção de compostos que as plantas não tratadas produzem em menor quantidade. Birkett et al. (2000) constataram que, a resistência pode dever-se ao fato de que a aplicação da *cis*-jasmona em plantas aumenta os níveis de (*E,E*)- α -farneseno, β -cariofileno, (*E*)-4,8-dimetil-1,3,7-nonatrieno e (*E*)- β -ocimeno. Turlings et al. (1995) observou que (*E,E*)- α -farneseno, β -cariofileno, (*E*)-4,8-dimetil-1,3,7-nonatrieno e (*E*)- β -ocimeno são substâncias que podem ser produzidos após o ataque de plantas por insetos e tem se mostrado como repelentes.

Bruce et al. (2008), constataram que a *cis*-jasmona modificou composição dos voláteis das plantas *A. thaliana*. Ainda no mesmo estudo eles verificaram que essa alteração no perfil de compostos orgânicos voláteis, possivelmente poderia estar a alterar o comportamento dos insetos estudados. Outra evidência experimental referenciada pelos autores é de que o *Mizus persicae* foi repelido pelos compostos voláteis produzidos por *A. thaliana* após o tratamento com a *cis*-jasmona e atraído por compostos voláteis produzidos por plantas não tratadas. Contudo, *L. erysimi* mostrou uma significativa atração pelos compostos voláteis das plantas induzidas por *cis*-jasmona, sugerindo que insetos especialistas usam diferentes semioquímicos para reconhecer a planta hospedeira (BRUCE et al. 2008). Costa (2010) constatou que a *cis*-jasmona alterou o perfil de voláteis de *Capsicum spp* e apenas três substâncias foram semelhantes a das plantas não tratadas. O mesmo autor, em laboratório, verificou que esses voláteis induzidos pela *cis*-jasmona foram repelentes ao pulgão *A. gossypii* e atrativos ao parasitóide do pulgão *A. Coleman*.

As cultivares Vita 7 e Gurguéia após aplicação da *cis*-jasmona mudaram o perfil o perfil de compostos voláteis. Por exemplo, a Gurguéia, produziu *trans*-nerilodol. Park et al (2001), observaram que o *trans*-nerolidol causou a resposta eletrofisiológica ao parasitóide *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae) Cresson, 1872. Daí que esta pode ter um papel ecológico na atração de parasitoides. Um outro estudo, mostrou que esta substância é

percursor de DMNT, e esta foi a substância que variou após aplicação da *cis*-jasmona no trigo e foi repelente ao pulgão do algodão *A. gossipy* (HEGDE et al., 2012).

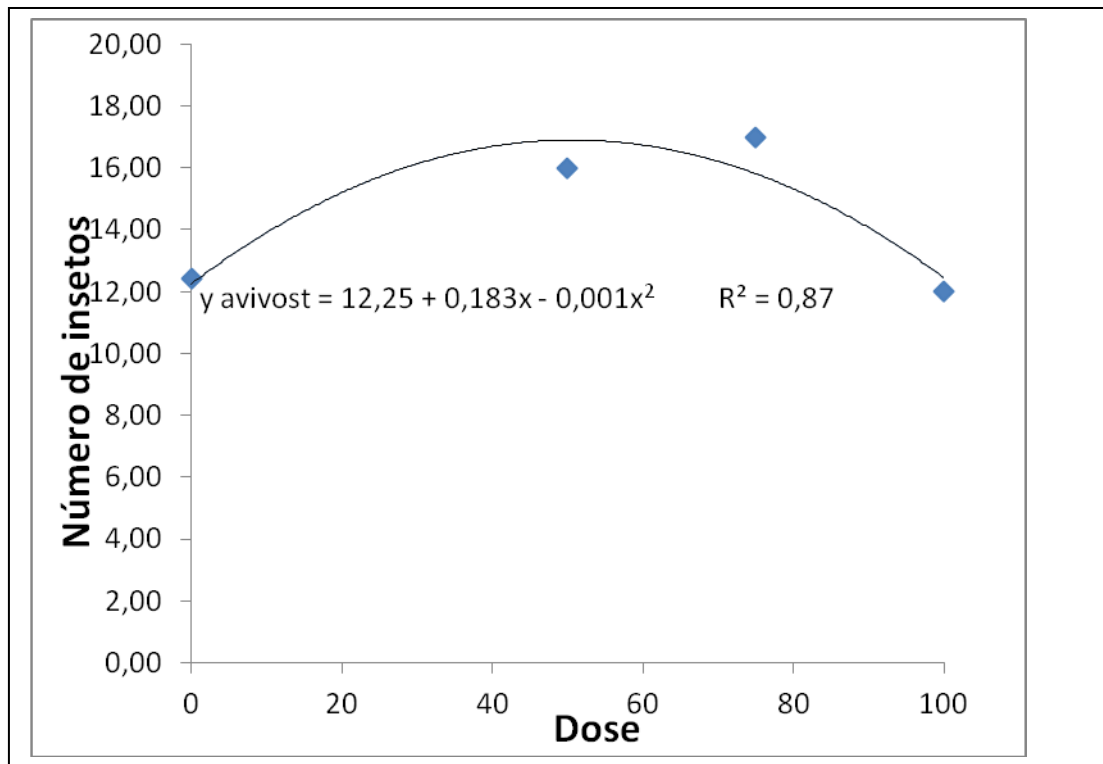
Adicionalmente, a cultivar Vita 7 produziu acetato de Z-3-hexenila (GLV). Como no estudo Hegde et al. (2012), os quais observaram que a *cis*-jasmona alterou quantitativamente no algodão algumas substâncias consideradas como de defesa a saber : acetado de Z-3-hexenila, o homoterpeno (E)-4,8- dimetil-1,3,7-nonatrieno (DMNT), o composto aromático salicilato de metila, e o homosesquiterpeno (E,E)-4,8,12-trimetiltrideca-1,3,7,11-tetraeno (TMTT). Porém quando o acetato de Z-3-hexenila foi testado individualmente ele não teve uma ação significativa sobre o pulgão *A. gossipy*. Por outro lado o acetato de Z-3-hexenila elicia produção do néctar extrafloral das plantas vizinhas (EFN) (KOST; HEIL, 2006). Este néctar extrafloral pode emitir odores que facilitam a orientação de predadores (RÖSE; LEWIS; TUMLINSON, 2006) ou ainda repelentes de insetos pragas (KESSLER; BALDWIN, 2007).

Além das descritas acima vale destacar a produção de dihidrojasmonato de metila pela gurguéia, eucaliptol, sabineno e mirceno pela vita 7. O dihidrojasmonato de metila é composto análogo ao metil jasmonato, ambos são jasmonatos e estes são referenciados como sinalizadores (BERGER, 2002; TURNER, 2002). Por outro lado o eucaliptol é descrito como uma substância com propriedades repelentes e inseticida contra *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) Motschulsky (KO, JUNTARAJUMNONG; CHANDRAPATYA, 2009). E ainda foi deterente de alimentação para *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) Herbst, 1797 (TRIPATHI et al., 2001).

4.5 Avaliação do efeito da *cis*-jasmona sobre a biologia do pulgão preto- Teste de antibiose

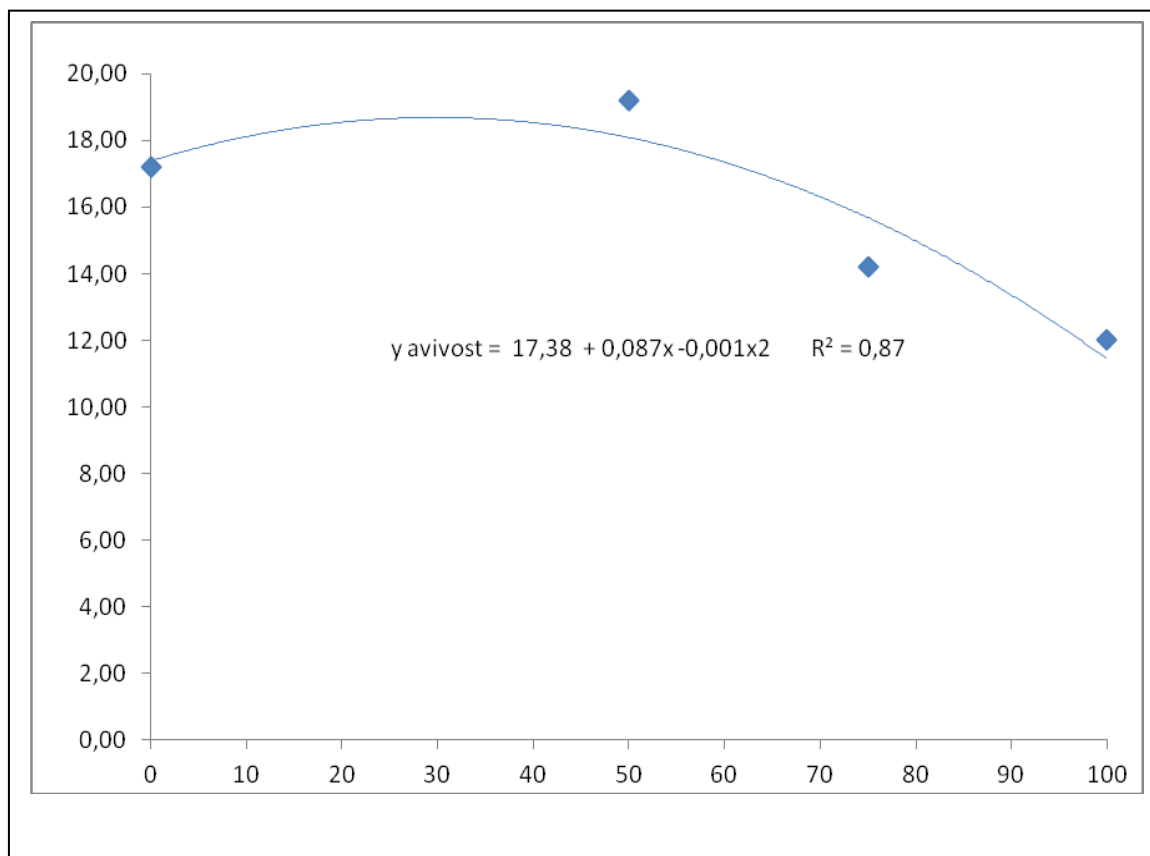
Neste ensaio foram testadas diferentes concentrações da *cis*-jasmona, 50g/ha, 75g/ha e 100g/ha nas cultivares Vita 7 e Gurguéia, foi constatado que a concentração de 50g/ha não influenciou significativamente os parâmetros biológicos do pulgão preto. Porém concentrações elevadas da *cis*-jasmona afetaram a sobrevivência dos pulgões adultos conforme ilustrado nas Figuras 34 e 35.

Figura 34 - Efeito da dose de *cis*-jasmona sobre a biologia do pulgão preto na cultivar do feijão caupi, Vita 7. (avivost- adultos vivos totais).



Fonte: Autor, 2013.

Figura 35 - Efeito da dose de *cis*-jasmona sobre a biologia do pulgão preto na cultivar do feijão caupi, Gurguéia (avivost- adultos vivos totais).



Fonte: Autor, 2013.

A *cis*-jasmona tem se mostrado uma substância capaz de induzir resistência de duas formas: promove a biossíntese de substâncias voláteis capazes de repelir o inseto-praga e atrair o inimigo natural (BIRKETT et al., 2000) ou também pode promover o acúmulo de substâncias de defesa direta não voláteis (MORAES et al., 2008). Quando as variedades de feijão caupi foram pulverizadas com *cis*-jasmona (50g.ha⁻¹), não houve uma mudança estatisticamente significativa nos parâmetros biológicos do *Aphis craccivora*.. Hedge et al (2012) verificaram que a aplicação exógena da *cis*-jasmona (50g.ha⁻¹) induziu a produção de compostos voláteis que tornaram o algodoeiro menos preferido ao pulgão *Aphis gossypii*. Por outro lado, quando a concentração da *cis*-jasmona foi alterada para concentrações elevadas (75 g/ha e 100g/ha) houve alteração na reprodução dos pulgões. Esta mudança pode estar ligada a mudança de compostos orgânicos de defesa não voláteis. Moraes et al (2008) observaram que aplicação exógena de *cis*-jasmona induz a acumulação de ácidos hidroxâmicos em trigo. Estas substâncias já foram mencionadas em referências passadas como substâncias que tem papel alelopático (PEREZ; ORMENONUNEZ, 1991; UNDERSTRUP et al., 2005).

5 CONCLUSÕES

- A cultivar Tvu 408 é resistente e o tipo de resistência é do tipo antibiose e poderia ser recomendada para programas de melhoramento genético com objetivo de obter cultivares mais resistentes a *A. Craccivora*;
- A cultivar Gurguéia apesar de ser comercial foi considerada suscetível na presente pesquisa juntamente com Vita 7;
- Os compostos voláteis produzidos pelas cultivares utilizadas no presente trabalho sem nenhum tratamento não tiveram uma ação comportamental significativa sobre o pulgão preto;
- Houve diferença na produção de compostos voláteis entre as três cultivares;
- Os compostos orgânicos voláteis produzidos pelas cultivares Vita 7 e Gurguéia após infestação exerceram efeito atrativo ao pulgão Preto, *A. Craccivora*;
- As cultivares Vita 7 e Gurguéia após 72 horas de infestação produziram o *Trans*-(β)-cariofileno, este tem sido referenciado na literatura como inibidor do feromônio de alarme de maioria de afídeos e ainda tem o poder de atrair inimigos naturais;
- Os compostos orgânicos voláteis liberados pelas variedades Vita 7 e Gurguéia após aplicação da *cis*-jasmona na dosagem de 50g/ha foram significativamente repelentes ao pulgão preto, *A. Craccivora*;
- O composto orgânico volátil nitrito de *sec*-butila foi produzido após a herbivoria e após aplicação da *cis*-jasmona;
- A *cis*-jasmona induziu resistência do tipo antibiose nas cultivares Vita 7 e Gurguéia em teste de semi campo nas concentrações 75g.ha⁻¹ e 100 g.ha⁻¹.

PERSPECTIVAS FUTURAS

- Análise de compostos não voláteis após a aplicação da *cis*-jasmona nas várias dosagens.
- Estudos eletroantenográficos os extratos de voláteis.
- Testes comportamentais com substâncias sintéticas.
- Estudo da ação da *cis*-jasmona em campo.
- Estudar a ação dos voláteis produzidos após aplicação da *cis*-jasmona nas diferentes dosagens.
- Estudar a ação dos extratos de voláteis sobre inimigos naturais.

REFERÊNCIAS

- ABEBE, G., HATTAR, B.; AL-TAWAHA, A. R. M. Nutrient availability as affected by manure application to cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) on calcareous soils. **Journal of Agriculture and Social Sciences** 1(1):1- 6, 2005.
- AGELOPOULOS, N. G. et al. A novel approach for isolation of volatile chemicals released by individual leaves of a plant *in situ*. **Journal of Chemical Ecology** 25, 1411-1425, 1999.
- ANDREI, E. (Coord.). **Compêndio de defensivos agrícolas**. 7.ed. São Paulo: Andrei, 2005.
- ARDREY, R. E., **Liquid Chromatography-Mass Spectrometry: An Introduction**. John Wiley & Sons, Chichester, UK, 2003.
- BABUSHOK, V. I.; LINSTROM, P. J. On the relationship between Kovats and Lee retention indices. *Chromatographia* 60 (11-12): 725-728, 2004.
- BENHAMOU, N. ; PICARD K. La résistance induite: une nouvelle stratégie de défense des plantes contre les agents pathogènes. **Phytoprotection**. 80: 137-168, 1999.
- BERGER, S. Jasmonate-related mutants of Arabidopsis as tools for studying stress signaling. **Planta** 214, 497–504, 2002.
- BIRCH, M. C. Aggregation in bark beetles. In: W. J. Bell & R. T. Cardé (eds) *Chemical Ecology of Insects*. Chapman and Hall, London, pp. 331–353, 1984.
- BIRKETT, M.A et al. New roles for cis-jasmone as an insect semiochemical and in plant defense. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 97, 9329-9334. 2000.
- BIRKETT, M. A. **The Chemistry of Plant Signalling**. In: BALUSKA, F.; NINKOVIC, V. *Plant Communication from an Ecological Perspective*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2010.
- BOLTER, C. J. et al. Attraction of Colorado potato beetle to herbivore-damaged plants during herbivory and after its termination. **J. Chem. Ecol** 23:1003–1023, 1997.
- BROWN, P. M. J. et al. *Harmonia axyridis* in Europe: spread and distribution of a non-native coccinellid. **BioControl**, 53(1), 5-21, 2008.
- BRUCE^A, T. J. A. et al. Cis-jasmone treatment induces resistance in wheat plants against the grain aphid, *Sitobion avenae* (Fabricius) (Homoptera: Aphididae). **Pest Management Science**, v. 59, n. 9, p. 1031-1036, 2003.
- BRUCE^B, T.J, PICKETT, J.A; SMART, L.E. Cis-jasmone switches on plant defence against insects. **Pesticide Outlook**. v.14, p.96-98. 2003.

- BRUCE, T.J. et al. *cis*-Jasmone induces Arabidopsis genes that affect the chemical ecology of multitrophic interactions with aphids and their parasitoids. **Proc. Nat. Acad. Sci. USA** 105, 4553–4558, 2008.
- CARROLL, M. J. et al. Attraction of *Spodoptera frugiperda* larvae to volatiles from herbivore-damaged maize seedlings. **J. Chem. Ecol** 32:1911–1924, 2006.
- CARROLL, M. J. et al. The Attraction of *Spodoptera frugiperda* Neonates to Cowpea Seedlings is Mediated by Volatiles Induced by Conspecific Herbivory and the Elicitor Inceptin. **J Chem Ecol.**, 34:291–300, 2008.
- CASTELLO, G.; MORETTI, P.; VEZZANI, S. Retention models for programmed gas chromatography. **J. Chromatogr. A** 1216(10), 1607-23, 2009.
- CHAMBERLAIN, K. et al. Diel periodicity in the production of green leaf volatiles by wild and cultivated host plants of stemborer moths, *Chilo partellus* and *Busseola fusca*, **Journal of Chemical Ecology**, 32, 565–577, 2006.
- COHEN, Y. The BABA story of induced resistance. **Phytoparasitica**. 29: 375-378, 2001.
- COLAZZA, S. et al. Insect oviposition induces volatile emission in herbaceous plants that attracts egg parasitoids. **J. Exp. Biol**, 207:47–53, 2004.
- COOK, S. M., KHAN, Z. R., PICKETT, J. A. ‘The use of “push–pull” strategies in integrated pest management’, **Annals Review Entomology** 52, 375–400, 2007.
- COOPER, W. R.; GOGGIN, F. L. Effects of jasmonate-induced defenses in tomato on the potato aphid, *Macrosiphum euphorbiae*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.115, p.107-115. 2005.
- COSTA, J. G. da. Caracterização química e genética da interação *Capsicum* spp. (Solanaceae), pulgão *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) e o Parasitóide *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae). Maceió, 2010.
- D’ALESSANDRO, M. et al. The role of indole and other shikimic acid derived maize volatiles in the attraction of two parasitic wasps. **J. Chem. Ecol** 32:2733–2748, 2006.
- DA COSTA et al. Differential preference of *Capsicum* spp. cultivars by *Aphis gossypii* is conferred by variation in volatile semiochemistry. **Euphytica** 177:299–307, 2011.
- DASS, C., **Fundamentals of contemporary mass spectrometry**. John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, 2007
- DAWSON, G. W. et al.. Plant compounds that synergise activity of the aphid alarm pheromone. Proc. 1986 Brit. Crop Prot. Conf. - Pests and Diseases, pp. 829-34. Thornton Heath: British Crop Prot.Council, 1986.
- DE MORAES, C.M.; MESCHER, M. C; TUMLINSON, J.H. Caterpillar-induced nocturnal plant volatiles repel conspecific females. **Nature**: 410: 577-580, 2001.

DEBACH, P. **Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas**. Editora Continental, S.A., México. 927p, 1968.

DEGENHARDT, J. et al. Attracting friends to feast on foes: Engineering terpene emission to make crop plants more attractive to herbivore enemies. **Curr. Opin. Biotechnol.** 14: 169-176, 2003.

DEWHIRST, S.Y. et al. Activation of defence in sweet pepper, *Capsicum annum*, by *cis*-jasmone, and its impact on aphid and aphid parasitoid behavior; **Pest Management Science**; V.68, p. 1419–1429, October 2012.

DICKE, M.; SABELIS, M. W. How plants obtain predatory mites as bodyguards. **Neth. J. Zool** 38:148–165, 1988.

DICKE, M.; HILKER, M. Induced plant defences: from molecular biology to evolutionary ecology. **Basic and Applied Ecology**, v.4, p.3-14, 2003.

DOERING, T.F.; CHITTKA, L. Visual ecology of aphids-a critical review on the role of colours in host finding. **Arthropod-Plant Interactions** 1(1), 3-16, 2007.

DU, Y.J. et al. Identification of semiochemicals released during aphid feeding that attract parasitoid *Aphidius ervi*. **Journal of Chemical Ecology**, 24 (8), 1355-1368, 1998.

DUDAREVA, F. N. et al. Recent Advances and Future Perspectives, **Critical Reviews in Plant Sciences**, 25:5, 417-440, 2006.

EBERHARD, W.G. Aggressive chemical mimicry by a bolas spider. **Science**, 198: 1173-1175, 1977.

EDREVA, A. novel strategy for plant protection: Induced resistance. **Journal of Cell and Molecular Biology**, 3: 61-69, 2004.

EHLERS, J. D.; HALL, A. E. Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). **Field Crops Research**, 53,187-204(18), 1997.

ELJARRAT, E.; BARCELO, D. Electron Impact and Chemical Ionization. In: Worsfold, P. J.;Townshend A.; Poole, C. F. (Eds), **Encyclopedia of Analytical Science**, 2nd Ed. Elsevier, Oxford, v. 5, p. 359-366, 2005.

FAO . In: **Anyone for cowpea?** IITA Research for Development (R4D) Review, Sept. 2010.

FARMER, E.E.; RYAN, C.A. Interplant communication: airborne methyl jasmonate induces synthesis of proteinase inhibitors in plant leaves. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA** v. 87, p. 7713-7716. 1990.

FATOUROS, N. E. et al. Herbivore-induced plant volatiles mediate in-flight host discrimination by parasitoids. **J. Chem. Ecol.**31:2033–2047, 2005.

FERREIRA, J. T., CORRÊA, A. G.; VIEIRA, P. C. **Produtos Naturais no Controle de Insetos**. Editora da UFSCar, São Carlos, 2001.

FRANCIS, F.; LOGNAY, G.; HAUBRUG, E. E. Olfactory responses to aphid and host plant volatile releases: *E*-(β)-farnesene an effective kairomone for the predator *Adalia bipunctata*, **J. Chem. Ecol.**, 30: 741–755, 2004.

FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. de A.; RIBEIRO, V. Q. (Ed.). **Feijão-caupi: avanços tecnológicos**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2005.

FREIRE FILHO, F.R.; RIBEIRO, V.Q.; BARRETO, P.D.; SANTOS, A.A. Melhoramento genético. In: FREIRE FILHO, F.R.; LIMA, J.A.A.; RIBEIRO, V.Q. (Ed.). **Feijão-caupi: avanços tecnológicos**. Brasília, DF. Embrapa Informação Tecnológica. 2005.

GALLO, D. et al. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p. (ESTE APARECE NO TEXTO)

GATEHOUSE, J. A. Plant resistance towards insect herbivores: a dynamic interaction. **New phytologist**, n.156, p.145-169, 2002.

GEBHARDT, C.; VALKONEN J. P. T. Organization of genes controlling disease resistance in the potato genome. **Annu Rev Phytopathol** 39:79–102, 2001.

GULLAN, P. J.; CRANSTON P.S. **Insects: An Outline of Entomology**, 1st edition. Chapman and Hall, London, Glasgow, New York, Tokyo, Melbourne, Madras, p. 450, 1994.

HALL, A.E. et al. Development of cowpea cultivars and germplasm by the Bean/Cowpea CRSP. **Field Crops Research**, v.82, p.103-134, 2003.

HAN, B.; ZHANG, Q.; BYERS, J.A. Attraction of the tea aphid, *Toxoptera aurantii*, to combinations of volatiles and colors related to tea plants. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, 144:258- 269, 2012.

HAN, Z.; LI, F. Ins. **Biomol and Mol. Bio.**, 34: 397-405. 2004.

HARARI, A. R.; BEN-YAKIR, D.; ROSEN, D. Mechanism of aggregation behavior in *Maladera matrida* Argaman (Coleoptera: Scarabeidae). **Journal of Chemical Ecology** 20: 361–371, 1994.

HASSANALI, A. et al. Integrated pest management: the push–pull approach for controlling insect pests and weeds of cereals, and its potential for other agricultural systems including animal husbandry, **Philosophical Transactions of the Royal Society London**. Series B 363, 611–621, 2008.

HEGDE, M. et al. Aphid antixenosis in cotton is activated by the natural plant defence elicitor *cis*-jasmone. **Phytochemistry**, Volume 78, Pages 81-88, 2012.

HEUSKIN, S. et al. The use of semiochemical slow-release devices in integrated pest management strategies. **Biotechnol. Agron. Soc. Environ.**, 15(3), 459-470, 2011.

HOFFMANN, E.; STROOBANT, V. **Mass Spectrometry: Principles and Applications**. John Wiley & Sons, Chichester, UK. Third Edition, 2007.

HUELSMAN, M. F. et al. Multicolored Asian lady beetle (*Harmonia axyridis*) as a nuisance pest in household in Ohio. In: **Proceedings of the 4th International Conference on Urban Pests**, Integrated Pest Management Program, Ohio State, 2002. Disponível em: www.icup.org.uk/reports%5CICUP226.pdf

IITA. Cowpea. **IITA in collaboration with the cowpea project for Africa (PRONAF)**, 2010.

ISAACS, R., I. et al. Behavioural responses of *Aphis fabae* to isothiocyanates in the laboratory and field. **Pesticide Science** 39: 349-355, 1993.

IUPAC. **Compendium of Chemical Terminology**, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by McNaught, A. D.; Wilkinson, A. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997). XML on-line corrected version: <http://goldbook.iupac.org> (2006) created by M. Nic, J. Jirat, B. Kosata; updates compiled by A. Jenkins. 1997

JABA, J. et al. Olfactory response of cowpea aphid, *Aphis craccivora* Koch, to host odours and population of conspecifics, **Journal of Biopesticides**, 3, (405 – 407, 2010.

JACKAI, L.E.N. ; DAOUST, R. A Insect pests of cowpeas. **Ann. Rev. Entomol.** 31, 95-119, 1986.

JANSSON, H.B.; NORDBRING-HERTZ, B. Attraction of nematodes to living mycelium of nematophagous fungi. **Journal of General Microbiology** 112: 89-93, 1979.

KAISLING, K. E.; THORSON, J. **Insect olfactory sensilla: structural, chemical and electrical aspects of the functional organization**. In: Receptors for neurotransmitters, hormones and pheromones in insects. SATTELE, D. B; HALL, L. M. e HILDEBRAND, J. G. (eds.). Elsevier/North-Holland Biomedical Press, New York. 1980.

KARUNGI, J. et al. Population dynamics of selected cowpea insect pests as influenced by stage. **Annals of Applied Biology** 123: 19-23, 1999.

KENNEDY, G.G.; BARBOUR, J.D. Resistance variation in natural and managed systems. In: Fritz, R.S., et al. (Eds.) **Plant resistance to herbivores and pathogens: ecology, evolution, and genetics**. pp. 13-41. Chicago, USA: University of Chicago Press, 1992.

KESSLER, D.; BALDWIN, I.T. Defensive function of herbivore induced plant volatile emissions in nature. **Science** 291:2141–2144, 2001.

KESSLER, D.; BALDWIN I. T. Making sense of nectar scents: the effects of nectar secondary metabolites on floral visitors of *Nicotiana attenuata*. **Plant J** 49:840–854, 2007.

KESSMAN, H. et al. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. **Ann Rev Phytopathol.** 32: 439-459, 1994.

KHAN, Z. R. et al. Intercropping increases parasitism of pests', **Nature** (London) 388, 631–632, 1997.

KHAN, Z. R. et al. On-farm evaluation of the “push-pull” technology for the control of stemborers and striga weed on maize in western Kenya, **Field Crops Research**, 106, 224–233, 2008.

KHAN, Z. et al. Push—pull technology: a conservation agriculture approach for integrated management of insect pests, weeds and soil health in Africa, **International Journal of Agricultural Sustainability**, 9:1, 162-170, 2011.

KITSON, F. G.; LARSEN, B. S.; McEWEN, C. N., **Gas Chromatography and Mass Spectrometry: A Practical Guide**. Academic Press, San Diego, CA., 1996.

KO, K.; JUNTARAJUMNONG, W. ; CHANDRAPA, A. Repellency, Fumigant and Contact Toxicities of *Litsea cubeba* (Lour.) Persoon Against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst); Kasetsart J. (**Nat. Sci.**) 43 : 56 - 63 (2009)

KOLLNER, T.G., A. maize (E)-beta-caryophyllene synthase implicated in indirect defense responses against herbivores is not expressed in most American maize varieties. **Plant Cell**, 20: p. 482-94, 2008.

KOST, C.; HEIL, M. Herbivore-induced plant volatiles induce an indirect defence in neighbouring plants. **J Ecol** 94:619–6, 2006.

KUC, J. Concepts and direction of induced systemic resistance in plants and its application. **Eur J Plant Pathol**. 107: 7-12, 2001.

LAAMARI, M. et al. Resistance source to cowpea aphid (*Aphis craccivora* Koch) in broad bean (*Vicia faba* L.) Algerian landrace Collection. **African Journal of Biotechnology**, v.7, n.14, p.2486-2490, 2008.

LARA, F. M. **Princípios de resistência de plantas a insetos**. 2. ed. São Paulo: Ícone, 1991.336p.

LEAL, W. S. In: **Topics in Current Chemistry**; Balzani, V.; Houk, K. N.; Kessler, H.; Lehn, J.-M.; Ley, S. V.; Meijere, A. de; Schreiber, S. L.; Thiem, J.; Trost, B. M.; Vogel, P.; Vögtle, F.; Yamamoto, H., eds.; Springer Berlin: Heidelberg, 2005.

LEE, M. et al. Retention indices for programmed- temperature gas chromatography of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Anal. Chem**. 51 : 768 – 773, 1979.

LIMA, J. A. A.; SITTOLIN, I. M.; LIMA, R. C. A. Diagnose e estratégias de controle de doenças ocasionadas por vírus. In: FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. de A.; RIBEIRO, V. Q. (Ed.). **Feijão-caupi: avanços tecnológicos**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Teresina: Embrapa Meio-Norte,. p. 403-459, 2005.

LYON, G. D.; REGLINSKI, T. NEWTON, A. C. Novel disease control compounds: the potential to “immunize” plants against infection. **Plant Pathol**. 44: 407-427, 1995.

MATTHES, M. et al. New chemical signals in plant protection against herbivores and weeds. In: Proceedings BCPC International Congress – Crop Science and Technology, Glasgow. Resumos... Glasgow: 2003, p. 1227-1236, 2003.

McLAFFERTY, W. Mass spectrometric analysis. Molecular rearrangements. **Anal. Chem.**, v.31, p 82-87, 1959.

MELLO, M.O.; SILVA FILHO, M. C. Plant-insect interactions: an evolutionary arms race between two distinct defense mechanisms. **Brazilian Journal of Plant Physiology** 14: 71-81, 2002.

MENSAH, K .R.; FREROT, B.; FAIZA, A. D. Effects of petroleum spray oils on oviposition behaviour and larval survival of *Helicoverpa armigera* Hubner (Lepidoptera:Noctuidae) and *Ostrinia nubilalis* Hubner (Lepidoptera: Pyralidae). **Int. J. Pest Manag.**, 51: 111–119, 2005.

MICHEREFF, M.F.F. et al. Volatiles mediating a plant-herbivore-natural enemy interaction in resistant and susceptible soybean cultivars. **Journal of Chemical Ecology**, v.37, p.273-285, 2011.

MOORHOSE, J. E et al. Method for use in studies of insect chemical communication. **Nature**, 223: 1174-1175. 1969.

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

MORAES, J. G. L. **Comportamento de genótipos de feijão-de-corda sob infestação de pragas**. 2007. 52f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

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

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

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

MULLER, H. J. 1958. The behaviour of *Aphis fabae* in selecting its host plants, especially different varieties of *Vicia faba*. **Entomol. Exp . Appl.** 1 :66-72, 1958.

MUNSON, M. S. B.; FIELD, F. H. Chemical ionization mass spectrometry. General introduction. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 88, p. 2621-2630, 1966.

NAULT, L.R., M.R. MONTGOMERY, W.S. B. Ant-aphid association: role of aphid alarm pheromone. **Science** 192:1349–1351, 1976.

NOLDUS, L.P.J.J.;VAN LENTEREN, J.C. Kairomones for the egg parasite *Trichogramma evanescens* Westwood. 1. Effect of volatile substances released by two of its hosts, *Pieris brassicae* L. and *Mamestra Brassicae* L. **J. Chem. Ecol.**, 11: 781–791, 1985.

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

OBOPILE, M. Economic threshold and injury levels for control of cowpea aphid, *Aphis craccivora* Linnaeus (Homoptera: Aphididae) on cowpea. **African Plant Protection**, v.12, p.111-115, 2006.

OBOPILE, M.; OSITILE, B. Life Table and population parameters of cowpea aphid, *Aphis craccivora* Koch (Hemiptera: Aphididae) on five cowpea *Vigna unguiculata* (L. Walp.) varieties. **Journal of Pest Science**, v.83, p.9-14, 2010.

OFUYA, T.I. Occurrence, growth and survival of *Aphis craccivora* (Homoptera: Aphididae) on some weeds in a rain forest area of Nigeria. **Ann. Appl. Biol.** 133, 229-34, 1988.

OFUYA, T.I. Effect of some plant extracts on two coccinellid predators of the cowpea aphid, *Aphis craccivora* (Hem.:Aphididae). **Entomophaga** 42, 279-84, 1997.

OFUYA, T. I. Control of the cowpea aphid, *Aphis craccivora* Koch (Homoptera: Aphididae), in cowpea, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. **Integrated Pest Management Reviews**. v.2, p.199-207, 1997.

OLDHAM, N.J.; BOLAND, W., **Naturwissenschaften**, 83: 248-254, 1996.

OMONGO, C. A. et al. Insecticide application to reduce pest infestation and damage on cowpea in Uganda. **Afri. Plant Prot.**, 4(2), 91-100, 1997.

ORAWU, M. et al. Genetic inheritance of resistance to cowpea aphid-borne mosaic virus in cowpea **Euphytica** 189:191 201, 2013.

PAINTER, R. H. **Insect resistance in crop plants**. 2.ed. Kansas: The University Press of Kansas. 1968.

PANDA, N.; KHUSH, G. S. **Host plant resistance to insects**. Wallingford: CAB International. 1995.

PARK, K. Y. E. C. et al. Electroantennogram responses of a parasitic wasp, *Microplitis croceipes*, to host-related volatile and anthropogenic compounds. **Physiological Entomology** 26, 69-77, 2001.

PASTEELS, J. M. et al. Plant derived defense in chrysomelid beetles. In: P. Barbosa; D. Letourneau (eds.). **Novel Aspects of Insect-Plant Interactions**. John Wiley & Sons, New York, pp. 235–271, 1988.

PEDLEY, K.F.; MARTIN, G.B. Molecular basis of Pto-mediated resistance maize varieties. **Plant Cell**, 20, p. 482-94. 2008.

PEREZ, F.J., ORMENONUNEZ, J. Difference in hydroxamic acid content in roots root exudates of wheat (*Triticum aestivum* L.) and rye (*Secale cereale* L.): possible role in allelopathy. **Journal of Chemical Ecology** 17, 1037–1043, 1991.

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

PETTERSON, J. et al. The cowpea aphid, *Aphis craccivora*, has plant odours pheromones. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.88, p.177-184, 1998.

PETTERSSON, J.; TJALLINGII, W.F.; Hardie, J. Host-plant Selection and Feeding. In: VanEmden, H.F., et al. (Eds.) *Aphids as Crop Pests*. pp. 87-113. Wallingford. Uk: Cabi Publishing, 2007.

PICKETT, J. A. et al. Cis-jasmone as an allelopathic agent through plant defence induction. **Pesticide Outlook**, v. 14, p. 96-98, 2005.

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

POWELL, G.; HARDIE, J. The chemical ecology of aphid host alternation: How do return migrants find the primary host plant? **Applied Entomology and Zoology** 36(3), 259-267, 2001.

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

PRICE, P. W.; BOUTON, C. E; GROSS, P.; MCPHERON, B.A.; THOMPSON, J.N.; WEIS, A. E. Interactions among three trophic levels: influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies. **Ann Rev Ecol Syst** 11, 41-66, 1980.

QIU, Y. et al. Identification of antibiosis and tolerance in rice varieties carrying brown planthopper resistance genes; **Entomologia Experimentalis et Applicata**, 141: 224–231, 2011.

QUINTELA, E. D.; NEVES, B. P. das; QUINDERÉ, M. A. W.; ROBERTS, D. W. **Principais pragas no caupi no Brasil**. Goiânia: EMBRAPA-CNPAP, documentos, 35, p. 38, 1991.

QUIROZ, A.; NIEMEYER, H. M. Olfactometer-assessed responses of aphid *Rhopalosiphum padi* to wheat and oat volatiles. **Journal of Chemical Ecology**. 24: 113-124, 1998.

RAKHSHANI, E et al. Parasitoid complex (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae) of *Aphis craccivora* Koch (Homoptera: Aphidoidea) in Iran. **Journal of Pest Science**, v.78, p.193-198, 2005.

- RANJITH, A. M. An inexpensive olfactometer and wind tunnel for *Trichogramma chilonis* Ishii (Trichogrammatidae: Hymenoptera). **Journal of Tropical Agriculture**, 45 (1-2): 63–65, 2007.
- RASMANN, S. et al. Recruitment of entomopathogenic nematodes by insect-damaged maize roots. **Nature**. 434, 732–737, 2005.
- RASMANN, S., TURLINGS, T.C.J. Simultaneous feeding by aboveground and belowground herbivores attenuates plant-mediated attraction of their respective natural enemies. **Ecology Letters** 10, 926–936, 2007.
- RÖSE U. S. R; LEWIS, J.; TUMLINSON, J. H. Extrafloral nectar from cotton (*Gossypium hirsutum*) as a food source for parasitic wasps. **Functional Ecology**, 20: 67–74, 2006.
- ROY, H.; BROWN P.; MAJERUS, M. **Harmonia axyridis**: a successful biocontrol agent or an invasive threat? In: Eilenberg J. & Hokkanen H.M.T., eds. An ecological and societal approach to biological control. Dordrecht, The Netherlands: **Springer**, 295-309, 2006.
- RYAN, C. A. Protease inhibitors in plants: genes for improving defenses against insects and pathogens. **Annual Review of Phytopathology** 28:425–449, 1990.
- SCHNEIDER, D. **Electrophysiological investigation of insects olfaction**. In: Olfaction and taste. ZOTTERMAN, I. Y. (ed.). Pergamon Press, Oxford. 1963.
- SCHREINER, I. Cowpea aphids (*Aphis craccivora* Koch). **Paper published in agricultural pests of the Pacific**. ADAP 2000-6, 2000.
- SCHRÖDER, F. Angew. **Chemie Int.** Ed, 37: 1213-1216, 1998.
- SHELTAR, D. J. Science Aphids on trees and Shrubs, HYG-2031-90. Ohio State University Extension. Department of Horticulture and Crop. Ohio State University, USA, 2001.
- SILVA, J. F. et al. Divergência genética de genótipos de feijão-de-corda quanto à resistência ao pulgão-preto. **Pesq. agropec. Brás**, vol.47, no.7, 2012.
- SILVA, J.F. da; BLEICHER, E. Resistência de genótipos de feijão-de-corda ao pulgão-preto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, p.1089-1094, 2010.
- SILVA, P. H. S. et al. Pragas. In: FREIRE FILHO FR.; LIMA JA. de A; RIBEIRO V. Q. (Eds.). **Feijão-caupi**: avanços tecnológicos. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. p. 20 368-402, 2005.
- SILVA, S. M. S.; MAIA, J. M.; ARAÚJO, Z. B.; FREIRE FILHO, F. R. **Composição química de 45 genótipos de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp)**. Teresina: Embrapa Meio Norte, 2p. (Comunicado Técnico, n. 149). 2002.
- SINGH, S.R. Cowpea cultivars resistant to insect pests in world germplasm collection. **Tropical Grain Legume Bulletin**, v.9, p.1-7, 1977.

SINGH, S.R.; JACKAI, L.E.N.; DOS SANTOS, J.H.R.; ADALIA, C.B. Insect pests of cowpea. In S.R. Singh (ed) **Insect Pests of Tropical Food Legumes** pp. 43-89. Chichester: John Wiley & Sons, 1990.

SMITH, C. M. 1989. Plant resistance to insects. John Wiley; Sons, Inc. New York. 286 pp

SMITH, C.M. **Plant Resistance to Arthropods: Molecular and Conventional Approaches**. Aa Dordrecht, Netherlands: Springer, 2005.

STEIBRECHT, R. A.; SCHNEIDER, D. **Pheromone Communication in Moths Sensory Physiology and Behavior**. In: Insect Biology in the Future. LOCK, M. e SMITH, D. S. (eds.). Academic Press, New York.1980.

STEIN, S.E. **Retention Indices in NIST Chemistry WebBook**. NIST Standard Reference Database ,N 69, 2008.

STEWART-JONES, A.; POPPY. G. Comparison of glass vessels and plastic bags for enclosing living plant parts for headspace analysis. **J. Chem. Ecol.** 32:845–864, 2006.

STONER K. Approaches to the biological control of insects. Cooperative Extension Bulletin 7144. Orono, ME, USA: University of Maine. Disponível em: www.umext.maine.edu/onlinepubs/PDFpubs/7144.pdf. 2004.

STOUT, M. J. et al. Specificity of induced resistance in the tomato, *Lycopersicon esculentum*. **Oecologia** 113:74–81, 1998.

STOWE, K. A. Experimental evolution of resistance in *Brassica rapa*: Correlated response of tolerance in lines selected for glucosinolate content. **Evolution**. 52:703-712, 1998.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed,. p.449-484, 2004.

TAN, K. H., ISHIDA, R. N; TOONG, Y. C.. Floral synomone of a wild orchid, *Bulbophyllum cheiri* lures Bactrocera fruit flies for pollination. **J. Chem. Ecol.** 28: 1161-1172, 2002.

TELANG, A. et al. Feeding damage by Diuraphis noxia results in a nutritionally enhanced phloem diet. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 91(3), 403-412, 1999.

THALER, J.S. Jasmonate-inducible plant defences cause increased parasitism of herbivores. **Nature** 399:686–688, 1999.

THOTTAPPILLY, G. et al. Vectors of virus and mycoplasma diseases: An overview. In S.R. Singh (ed) Insect Pests of Tropical Food Legumes pp. 324±42. Chichester: John Wiley & Sons, 1990.

TORKEY, H. M. et al.; Insecticidal Effect of Cucurbitacin E Glycoside Isolated from *Citrullus colocynthis* Against *Aphis craccivora*; **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, 3(4): 4060-4066, 2009.

- TRIPATHI, A.K. et al. Toxicity, feeding deterrence, and effect of activity of 1,8-cineole from *Artemisia annua* on progeny production of *Tribolium castaneum* (Coleoptera:Tenebrionidae). **J Econ Entomol**; 94:979-83; 2001.
- TURLINGS, T. C. J. et al. Timing of induced volatile emissions in maize seedlings. **Planta** 207:146–152, 1998.
- TURNER, J.G. et al. The jasmonate signal pathway. **Plant Cell** 14, S153–S164, 2002.
- VAN BRAMER, S. E. **An introduction to mass spectrometry**. Widener University, Chester PA, 1998.
- VENDRAMIM, J. D. A resistência de plantas e o manejo de pragas. In: CROCOMO, W.B. (Ed.). **Manejo de pragas**. Botucatu: FEPAF. p. 117-146, 1984.
- VIEIRA, C.R., et al. *cis*-Jasmone indirect action on egg parasitoids (Hymenoptera: Scelionidae) and its application in biological control of soybean stink bugs (Hemiptera:Pentatomidae). **Biological Control**, 2013.
- VISSER, J. H.; T AANMAN, 1. W. Odour-conditioned anemotaxis of apterous aphids (Cryptomyzus: korschelti) in response to host plants. **Physio. Entomology**. 12, 473-479, 1987.
- VISSER, J.H., PIRON, P.G.M.; HARDIE, J. The aphids' peripheral perception of plant volatiles. **Ent. Exp. Appl.**, 80,35 -38, 1996.
- VÖLK, W Aphids or their parasitoids: who actually benefits from ant attendance? **J. Anim Ecol** 61:273–281, 1992.
- WANDE, L. A. et al. Analysis of airbornes volatiles of cowpea. **Phytochemistry**, vol. 28, pp 421-423, 1989.
- WATANABE, T.; KITAGAWA, H. Photosynthesis and translocation of assimilates in rice plants following phloem feeding by the planthopper Nilaparvata lugens (Homoptera: Delphacidae). **J. Econ.**, 2000.
- WYATT, T.D. Pheromones and signature mixtures: defining species-wide signals and variable cues for individuality in both invertebrates and vertebrates. **J Comp Physiol A** 196:685–700, 2010.
- YAO, I, SHIBAO, H, AKIMOTO, S Costs and benefits of ant attendance to the drepanosiphid aphid Tuberculatus quercicola. **Oikos** 89:3–10, 2010.
- YE, Z. et al.. Pyrrole and Dihydropyrrole Fused Neonicotinoid: Design, Synthesis, and Insecticidal Evaluation, **J. Agric. Food Chem** December 20, 2012.
- YOUDEOWEI, A. **Major arthropod pests of food and industrial crops in Africa and their economic importance**. In J.S. Yaninek and H.R. Herren (eds) Biological Control: A Sustainable Solution to Crop Pest Problems in Africa pp. 31-50. Ibadan: IITA, 1989.

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

ZEWEN, L. et al. Selection for imidacloprid resistance in *Nilaparvata lugens*: cross-resistance patterns and possible mechanisms. **Pest Management Science** 59, 1355–1359, 2003.

ZHAO, Y. et al. Synthesis, Crystal Structure and Insecticidal Activities of Novel Neonicotinoid Derivatives. **CHEM. RES. CHINESE UNIVERSITIES**, 26(3), 380-383, 2010.