



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA

**Ecologia química de insetos parasitóides de ovos
(Hymenoptera: Scelionidae) e sua aplicação no
controle biológico de pragas**

CECÍLIA RODRIGUES VIEIRA

Brasília – DF

2010

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA

**Ecologia química de insetos parasitóides de ovos
(Hymenoptera: Scelionidae) e sua aplicação no
controle biológico de pragas**

Cecília Rodrigues Vieira

Orientador: Dr. Edison Ryoiti Sujii

Co-orientador: Dr. Raúl Alberto Laumann

Dissertação apresentada ao Instituto de
Ciências Biológicas da Universidade de
Brasília como parte dos requisitos
necessários para a obtenção do Título de
Mestre em Ecologia

Brasília – DF

2010

CECÍLIA RODRIGUES VIEIRA

**Ecologia química de insetos parasitóides de ovos (Hymenoptera:
Scelionidae) e sua aplicação no controle biológico de pragas**

Dissertação realizada com o apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e aprovada junto ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia da Universidade de Brasília como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ecologia.

Banca Examinadora:

Dr. Edison Ryoiti Sujii
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, CENARGEN
(Orientador, Presidente da Banca Examinadora)

Dr. Miguel Michereff Filho
Embrapa Hortaliças, CNPH
(Membro Titular da Banca Examinadora)

Dra. Ivone Rezende Diniz
Departamento de Zoologia, UnB
(Membro Titular da Banca Examinadora)

Dra. Carmen Sílvia Soares Pires
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, CENARGEN
(Membro Suplente da Banca Examinadora)

Brasília, agosto de 2010

“Uma jornada de mil quilômetros começa com um único passo”

Lao Tsu

Aos meus Pais,
À minha família,
À minha sanidade...

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus orientadores: Raúl Laumann pela paciência, pelos ensinamentos, por sempre estar presente, pela solicitude e amizade (é raro encontrar um argentino como esse!); e Edison Sujii, por toda a sua sabedoria oriental e calma, pelas contribuições para a melhoria do trabalho e por aceitar me orientar.

Ao Guarino Colli que caiu de pára-quadras no meio dessa “soja”, mas sempre com toda a paciência me ensinou e ensina muito, principalmente a me virar com as análises estatísticas.

Agradeço à mamásita e ao meu pai por todo o apoio nesses tempos, pela compreensão quanto à minha ausência e pelos ensinamentos sobre a vida. À minha gigantesca família (todos os irmãos, tios, primos e sobrinhos - não cabe o nome de todos aqui) e aos meus amigos da vida normal e da pós (Let's, Wev's, David, Rubens, Víctor, Camila, Marina, Emília, Fred e Angelita, Samuel, Ray, Xexa, Babi, Ísis), que também já não vêem a hora dessa etapa acabar.

Aos meus colegas do Laboratório de Semioquímicos da Embrapa: Ana Paula, Michely, Jonatas (que me ajudou um tanto no campo), Helinho (sem a sua ajuda seria impossível), Mírian, Aline e Samantha, Luciane, Isabela e quem mais eu estiver esquecendo agora (!!). Ah! À D. Diva, que cuidou dos percevejos da colônia. Aos pesquisadores Maria Carolina B. Moraes e Miguel Borges pelas sugestões. À banca pelas contribuições.

Às Organizações Tatájara pela ajuda com os mapas. Ao pessoal da prefeitura da UnB que confeccionou as gaiolas. Aos proprietários e administradores das fazendas por permitirem o acesso às áreas de cultivo e ajudarem no que fosse necessário.

Ao CNPq pela bolsa concedida. À Embrapa pelo apoio logístico e financeiro e à FAP-DF por financiar parte do projeto e algumas participações em eventos para apresentar os resultados do presente trabalho.

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	ix
RESUMO GERAL	xi
GENERAL ABSTRACT	xii
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	5
 CAPÍTULO 1: AÇÃO DO SEMIOQUÍMICO (<i>E</i>)-2-HEXENAL SOBRE PARASITÓIDES DE OVOS (HYMENOPTERA: SCELIONIDAE) E SUA APLICABILIDADE NO CONTROLE BIOLÓGICO DE PERCEVEJOS-PRAGA (HETEROPTERA: PENTATOMIDAE) DA SOJA	
RESUMO.....	10
ABSTRACT	11
INTRODUÇÃO	12
MATERIAL E MÉTODOS.....	14
<i>Área de estudo - Experimento em parcelas de maior escala</i>	14
<i>Área de estudo - Experimento em parcelas de menor escala</i>	15
<i>Desenho Experimental - Experimento em parcelas de maior escala</i>	20
<i>Desenho Experimental - Experimento em parcelas de menor escala</i>	20
<i>Avaliação da volatilização de (<i>E</i>)-2-hexenal em septos de borracha pré-campo</i>	21
<i>Impregnação de (<i>E</i>)-2-hexenal em septos de borracha</i>	23
<i>Amostragem de parasitóides de ovos e percevejos-praga</i>	24
<i>Análises Estatísticas</i>	27
RESULTADOS	28
<i>Avaliação da volatilização de (<i>E</i>)-2-hexenal em septos de borracha pré-campo</i>	28

<i>Experimento em parcelas de maior escala</i>	29
<i>Experimento em parcelas de menor escala</i>	36
DISCUSSÃO	39
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
 CAPÍTULO 2: AÇÃO DO FITORMÔNIO CIS-JASMONE SOBRE PARASITÓIDES DE OVOS (HYMENOPTERA: SCELIONIDAE) E SUA APLICABILIDADE NO CONTROLE BIOLÓGICO DE PERCEVEJOS-PRAGA (HETEROPTERA: PENTATOMIDAE) DA SOJA	
RESUMO.....	47
ABSTRACT	48
INTRODUÇÃO	49
MATERIAL E MÉTODOS.....	51
<i>Área de estudo</i>	51
<i>Desenho Experimental</i>	51
<i>Amostragem de parasitóides de ovos e percevejos-praga</i>	54
<i>Análises Estatísticas</i>	57
RESULTADOS	59
DISCUSSÃO	65
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO 1: AÇÃO DO SEMIOQUÍMICO (*E*)-2-HEXENAL SOBRE PARASITÓIDES DE OVOS (HYMENOPTERA: SCELIONIDAE) E SUA APLICABILIDADE NO CONTROLE BIOLÓGICO DE PERCEVEJOS-PRAGA (HETEROPTERA: PENTATOMIDAE) DA SOJA

- FIGURA 1.** LOCALIZAÇÃO DAS PARCELAS (EM VERMELHO) DO EXPERIMENTO COM (*E*)-2-HEXENAL NA ÁREA FAZENDA SEU CARLOS (CAR), COLÔNIA AGRÍCOLA LAMARÃO, PAD/DF, BRASÍLIA 16
- FIGURA 2.** LOCALIZAÇÃO DAS PARCELAS (EM VERMELHO) DO EXPERIMENTO COM (*E*)-2-HEXENAL NA ÁREA EMBRAPA CERRADOS (CPAC), PLANALTINA, BRASÍLIA..... 17
- FIGURA 3.** LOCALIZAÇÃO DAS PARCELAS (EM VERMELHO) DO EXPERIMENTO COM (*E*)-2-HEXENAL NA ÁREA FAZENDA MALUNGA (MAL), COLÔNIA AGRÍCOLA LAMARÃO, PAD/DF, BRASÍLIA 18
- FIGURA 4.** LOCALIZAÇÃO DAS GAIOLAS (EM VERMELHO) DO EXPERIMENTO COM (*E*)-2-HEXENAL, EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA - BRASÍLIA 19
- FIGURA 5.** ILUSTRAÇÃO DA GAIOLA UTILIZADA NO EXPERIMENTO EM PARCELAS DE MENOR ESCALA COM (*E*)-2-HEXENAL 5 MG..... 21
- FIGURA 6.** SEPTOS DE BORRACHA UTILIZADOS PARA A IMPREGNAÇÃO DO COMPOSTO (*E*)-2-HEXENAL NO TESTE DE VOLATILIZAÇÃO. A E B - SEPTOS LIVRES, C - SEPTOS PROTEGIDOS COM SACO DE PVC, D - SEPTO PROTEGIDO POR MEMBRANA DE PARAFILM E E- TUBO DE PVC COM TAMPA 22
- FIGURA 7.** ESQUEMA DA DISTRIBUIÇÃO DAS ARMADILHAS ADESIVAS NAS PARCELAS E MÉTODOS DE AMOSTRAGEM DE INSETOS. A - DISTRIBUIÇÃO DAS ARMADILHAS ADESIVAS FORMANDO UM TRIÂNGULO EM EXPERIMENTOS DE MAIOR ESCALA E DISTRIBUIÇÃO DAS ARMADILHAS ADESIVAS DIAGONALMENTE EM EXPERIMENTOS DE MENOR ESCALA, B - ARMADILHA ADESIVA AMARELA,

C - OVOS SENTINELA, D - PANO DE BATIDA, E - *TELENOMUS PODISI* PARASITANDO OVOS SENTINELA DE *EUSCHISTUS HEROS*, F - OVOS SENTINELA DE *EUSCHISTUS HEROS* PARASITADOS POR *TELENOMUS PODISI*..... 26

FIGURA 8. PROPORÇÃO DE VOLATILIZAÇÃO AO LONGO DO TEMPO (DIA) DE (*E*)-2-HEXENAL 50 MG EM SEPTOS DE BORRACHA LIVRES OU PROTEGIDOS POR MEMBRANA DE PARAFILM, SACOS DE PVC OU TUBOS DE PVC COM TAMPAS, MANTIDOS EM ESTUFA A $31 \pm 1^\circ\text{C}$ 29

FIGURA 9. CURVAS DE RESPOSTAS PRINCIPAIS DA VARIAÇÃO TEMPORAL NA ABUNDÂNCIA DE PARASITÓIDES ADULTOS EM FUNÇÃO DOS TRATAMENTOS COM (*E*)-2-HEXENAL (H1= 4 MG, H2= 10 MG) NA UNIDADE EXPERIMENTAL MAL-FAZENDA MALUNGA, CPAC E CAR-FAZENDA SEU CARLOS. ACIMA: SOMENTE SCELIONIDAE (*TRISSOLCUS* spp. e *TELENOMUS* spp.); ABAIXO: SCELIONIDAE EM CONJUNTO COM OUTROS PARASITÓIDES 31

FIGURA 10. VARIAÇÃO TEMPORAL DO NÚMERO MÉDIO (\pm EP) DE SCELIONIDAE CAPTURADOS SEMANALMENTE COM ARMADILHA ADESIVA AMARELA EM CULTURA DE SOJA, DE ACORDO COM O TIPO DE TRATAMENTO (H1- LINHA TRACEJADA: 4 MG DE (*E*)-2-HEXENAL, H2- LINHA CONTÍNUA: 10 MG DE (*E*)-2-HEXENAL, CONTROLE - LINHA PONTILHADA: N-PENTANO), NA UNIDADE EXPERIMENTAL CAR-FAZENDA SEU CARLOS, CPAC E MAL-FAZENDA MALUNGA 33

FIGURA 11. VARIAÇÃO TEMPORAL DO NÚMERO MÉDIO (\pm EP) DE PENTATOMIDAE REGISTRADOS POR SEMANA COM PANO DE BATIDA EM CULTURA DE SOJA, DE ACORDO COM O TIPO DE TRATAMENTO (H1- LINHA TRACEJADA: 4 MG DE (*E*)-2-HEXENAL, H2- LINHA CONTÍNUA: 10 MG DE (*E*)-2-HEXENAL, CONTROLE - LINHA PONTILHADA: N-PENTANO), NA UNIDADE EXPERIMENTAL CAR-FAZENDA SEU CARLOS, CPAC E MAL-FAZENDA MALUNGA 34

FIGURA 12. ABUNDÂNCIA TOTAL DE PENTATOMIDAE REGISTRADOS COM O PANO DE BATIDA AO LONGO DE \cong NOVE SEMANAS, DE ACORDO COM O SEXO, NA UNIDADE EXPERIMENTAL CAR-FAZENDA SEU CARLOS, CPAC E MAL-FAZENDA MALUNGA. LEGENDA: E.H.= *EUSCHISTUS HEROS*, P.G.= *PIEZODORUS GUILDINII*, C.I.= *CHINAVIA IMPICTICORNIS*, C.U.= *CHINAVIA UBICA*,

E.M.= *EDESSA MEDITABUNDA*, D.M.= *DICHELOPS MELACANTHUS*, P.A.= *PROXYLS ALBOPUNCTULATUS*, T.P.= *THYANTA PERDITOR*, N.V.= *NEZARA VIRIDULA* 35

FIGURA 13. CURVA DE RESPOSTAS PRINCIPAIS DA VARIAÇÃO TEMPORAL DA ABUNDÂNCIA DE PARASITÓIDES ADULTOS ENTRE TRATAMENTO (5 MG DE (*E*)-2-HEXENAL) EM FUNÇÃO DE CONTROLE (N-PENTANO) NA UNIDADE EXPERIMENTAL DE MENOR ESCALA (SCELIONIDAE E OUTROS PARASITÓIDES)..... 36

FIGURA 14. VARIAÇÃO TEMPORAL DO NÚMERO MÉDIO (\pm EP) DE SCELIONIDAE CAPTURADOS COM ARMADILHA ADESIVA AMARELA EM CULTURA DE SOJA, DE ACORDO COM O TRATAMENTO (TRATAMENTO - 5 MG DE (*E*)-2-HEXENAL, CONTROLE - LINHA PONTILHADA: N-PENTANO), NO EXPERIMENTO DE MENOR ESCALA COM INFESTAÇÃO INICIAL DE PERCEVEJOS CONTROLADA.... 37

FIGURA 15. VARIAÇÃO TEMPORAL DO NÚMERO MÉDIO (\pm EP) DE PENTATOMIDAE REGISTRADOS POR SEMANA COM PANO DE BATIDA EM CULTURA DE SOJA, DE ACORDO COM O TRATAMENTO (TRATAMENTO - 5 MG DE (*E*)-2-HEXENAL, CONTROLE - LINHA PONTILHADA: N-PENTANO), NO EXPERIMENTO DE MENOR ESCALA COM INFESTAÇÃO INICIAL DE PERCEVEJOS CONTROLADA.... 38

CAPÍTULO 2: AÇÃO DO FITORMÔNIO *CIS*-JASMONE SOBRE PARASITÓIDES DE OVOS (HYMENOPTERA: SCELIONIDAE) E SUA APLICABILIDADE NO CONTROLE BIOLÓGICO DE PERCEVEJOS-PRAGA (HETEROPTERA: PENTATOMIDAE) DA SOJA

FIGURA 1. LOCALIZAÇÃO DAS PARCELAS (EM VERMELHO) DO EXPERIMENTO COM *CIS*-JASMONE NAS ÁREAS PCB (ACIMA) E VITRINE (ABAIXO), EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA - BRASÍLIA..... 53

FIGURA 2. ESQUEMA DA DISTRIBUIÇÃO DAS ARMADILHAS ADESIVAS NAS PARCELAS E MÉTODOS DE AMOSTRAGEM DE INSETOS. A - DISTRIBUIÇÃO DAS ARMADILHAS ADESIVAS DIAGONALMENTE, B - ARMADILHA ADESIVA AMARELA, C - OVOS SENTINELA, D - PANO DE

BATIDA, E - *TELENOMUS PODISI* PARASITANDO OVOS SENTINELA DE *EUSCHISTUS HEROS*, F - OVOS SENTINELA DE *EUSCHISTUS HEROS* PARASITADOS POR *TELENOMUS PODISI* 56

FIGURA 3. CURVAS DE RESPOSTAS PRINCIPAIS DA VARIAÇÃO TEMPORAL NA ABUNDÂNCIA DE PARASITÓIDES ADULTOS EM FUNÇÃO DO TRATAMENTO COM *CIS*-JASMONE NAS ÁREAS VITRINE E PCB. ACIMA: 8 SUPER FAMÍLIAS E 1 FAMÍLIA; 9 SUPER FAMÍLIAS E 1 FAMÍLIA, RESPECTIVAMENTE; ABAIXO: SOMENTE SCELIONIDAE 62

FIGURA 4. ABUNDÂNCIA DE PARASITÓIDES ADULTOS CAPTURADOS COM ARMADILHAS ADESIVAS DURANTE NOVE SEMANAS EM PARCELAS TRATAMENTO (*CIS*-JASMONE) E CONTROLE NAS ÁREAS PCB E VITRINE. LEGENDA: AUS=AUSTROCYNIPIDAE, BET=BETHYLIDAE, BRA=BRACONIDAE, CER=CERAPHRONIDAE, CHR=CHRYSIDIDAE, DIA=DIAPRIIDAE, DRY=DRYINIDAE, EUC=EUCOILIDAE, EVA=EVANIIDAE, FIG=FIGITIDAE, ICH=ICHNEUMONIDAE, MEG=MEGASPILIDAE, PLA=PLATYGASTRIDAE, PRO=PROCTRUPIDAE, SCE=SCELIONIDAE. * INDICAM DIFERENÇA SIGNIFICATIVA ($P \leq 0,05$) 63

FIGURA 5. VARIAÇÃO TEMPORAL DO NÚMERO MÉDIO (\pm EP) DE SCELIONIDAE CAPTURADOS SEMANALMENTE COM ARMADILHA ADESIVA AMARELA EM CULTURA DE SOJA, DE ACORDO COM O TIPO DE TRATAMENTO (CONTROLE - LINHA PONTILHADA: TWEEN 20 + ÁGUA; TRATAMENTO - LINHA CONTÍNUA: *CIS*-JASMONE), NAS ÁREAS PCB E VITRINE 64

FIGURA 6. VARIAÇÃO TEMPORAL DO NÚMERO MÉDIO (\pm EP) DE PENTATOMIDAE REGISTRADOS POR SEMANA COM PANO DE BATIDA EM CULTURA DE SOJA, DE ACORDO COM O TIPO DE TRATAMENTO (CONTROLE - LINHA PONTILHADA: TWEEN 20 + ÁGUA; TRATAMENTO - LINHA CONTÍNUA: *CIS*-JASMONE), NAS ÁREAS PCB E VITRINE 65

RESUMO GERAL

A manipulação da abundância e distribuição de inimigos naturais por semioquímicos tem potencial para melhorar as estratégias de controle biológico. Entretanto, estudos em ambientes complexos (campo), voltados para estabelecer a ação cairomonal de semioquímicos e sua influência na distribuição e abundância de parasitóides ainda são escassos. Esses conhecimentos são fundamentais para estabelecer bases científicas sólidas que permitam a aplicação dos semioquímicos no manejo integrado de pragas. Nesse trabalho foram avaliadas duas estratégias de uso de semioquímicos para manejo comportamental de parasitóides de ovos de percevejos, visando estabelecer o efeito da sua aplicação na abundância e distribuição dos parasitóides e o impacto nas populações de percevejos através do parasitismo de ovos. Uma das estratégias testadas foi o uso de (*E*)-2-hexenal, componente do feromônio de alarme de percevejos, que também é um constituinte dos voláteis verdes de plantas. Esse composto tem ação cairomonal em parasitóides de ovos comprovada previamente em laboratório. A liberação por septos de borracha com diferentes doses (4 mg, 10 mg e 5 mg) de (*E*)-2-hexenal em áreas de cultivo de soja, mostrou que a abundância de parasitóides foi maior em parcelas com aplicação do composto na concentração de 4 mg e esse efeito ocorreu principalmente nos estágios de enchimento dos grãos de soja até a maturidade fisiológica da planta. No entanto, em parcelas tratadas com (*E*)-2-hexenal a intensidade e a ocorrência de parasitismo em ovos e o nível populacional de percevejos fitófagos não diferiu de parcelas controle. Uma segunda estratégia testada foi a utilização de *cis*-jasmone, um fitormônio que atua como indutor de voláteis componentes da defesa indireta da soja. Experimentos em campo foram realizados pulverizando 6 ml de solução de *cis*-jasmone (250 mg *cis*-jasmone + 100 mg de tween 20, em 1 l de água) sobre plantas de soja no início do estágio reprodutivo. A estrutura da comunidade (riqueza e equidade) foi similar, em geral, entre parcelas tratamento e controle. Entretanto, o número total de Scelionidae, parasitóides de ovos de percevejos, principalmente *Telenomus podisi* e *Trissolcus basal* foi significativamente maior em parcelas tratadas durante as três semanas posteriores a aplicação do composto. Essa atração não gerou resposta de aumento na ocorrência e intensidade de parasitismo em ovos e o nível populacional de percevejos-praga não foi diferente entre parcelas tratamento e controle. O controle de percevejos em culturas de soja pode ser incrementado pelo adensamento de parasitóides Scelionidae em áreas tratadas, aumentando assim a probabilidade de localização de ovos do hospedeiro.

GENERAL ABSTRACT

The manipulation of the abundance and distribution of natural enemies by semiochemicals can improve strategies for biological control. However, studies in complex environments (field), aimed to establish the kairomonal action of semiochemicals and their influence on the distribution and abundance of parasitoids are scarce. Such knowledge is fundamental to establish a solid scientific basis for applying the semiochemicals in integrated pest management. In this study we evaluated two strategies for use of semiochemicals for management of behavioral egg parasitoids of stink bugs, to establish the effect of its application in the abundance and distribution of parasitoids and the impact on populations of stink bugs through the egg parasitism. One strategy was tested using (*E*)-2-hexenal, an alarm pheromone component of stink bugs, which is also a green leaf volatile produced by plants. This compound showed a kairomonal effect on egg parasitoids in laboratory. The release by rubber septa of different doses (4 mg, 10 mg and 5 mg) of (*E*)-2-hexenal in soybean crops indicated that the abundance of parasitoids was higher in plots treated with a concentration of 4 mg of (*E*)-2-hexenal and this effect occurred mainly in the grain filling stages of soybeans to physiological maturity of plants. However, in plots treated with (*E*)-2-hexenal intensity and occurrence of egg parasitism and population level of phytophagous bugs did not differ from control. We also investigated the use of *cis*-jasmone, a plant phytohormone that induces indirect defenses in soybean. Field experiments were performed by spraying 6 ml of *cis*-jasmone (250 mg *cis*-jasmone + 100 mg of tween 20 in 1 l of water) on soybean plants, during the early reproductive stage. The community structure (richness and equity) was similar, in general, between treatment and control plots. However, the total number of Scelionidae, stink bug's egg parasitoids, mainly *Telenomus podisi* and *Trissolcus basal*, was significantly higher in treated plots during the three weeks after the application of the compound. This attraction did not increase the occurrence and intensity of egg parasitism and the abundance of stink bugs did not differ between treatment and control plots. The stink bug control in soybean can be increased by the high density of parasitoid Scelionidae in treated areas, thereby increasing the probability of location of host eggs.

INTRODUÇÃO GERAL

As interações entre os insetos herbívoros, suas plantas hospedeiras e seus inimigos naturais estão implícitas num contexto tri-trófico intimamente relacionadas ao comportamento de busca por hospedeiros ou presas dos inimigos naturais (PRICE et al 1980). À longa distância, os voláteis liberados pela planta (primeiro nível trófico) atacada pelo herbívoro (segundo nível trófico), têm função essencial para a orientação do inimigo natural (terceiro nível trófico) na sua estratégia de forrageamento (VET e DICKE 1992).

Os parasitóides são insetos que vivem durante sua etapa de desenvolvimento larval como parasitas de artrópodes (geralmente outros insetos), ocasionando a morte de seus hospedeiros (GODFRAY 1994). Estes insetos são importantes componentes dos ecossistemas terrestres e cumprem função fundamental como inimigos naturais, sendo indispensáveis agentes de mortalidade e reguladores de populações de insetos herbívoros (GODFRAY e HASSEL 1994, CORNELL e HAWKINS 1995), influenciando, também, na dinâmica e na estrutura de suas comunidades (MORRIS et al 2004).

Durante seu ciclo vital, os parasitóides passam por uma etapa crucial, que é o momento no qual as fêmeas precisam procurar um novo hospedeiro para parasitar (busca) e, uma vez localizado, decidir se realizam a oviposição ou não (seleção). Para isto, o parasitóide realiza uma série de passos comportamentais seqüenciais, que incluem: a localização do hábitat do hospedeiro, a localização do próprio hospedeiro, o reconhecimento do hospedeiro, a aceitação e a adequação do mesmo (VINSON 1998). Nesses passos, os parasitóides utilizam estímulos de natureza física (visuais ou mecânicos), química (semioquímicos) ou bioquímica, sendo os semioquímicos os mais freqüentemente utilizados por vespas (Hymenoptera) parasitóides (VINSON 1985, GODFRAY 1994).

Os semioquímicos, compostos que conduzem informação naturalmente entre dois indivíduos despertando no receptor uma resposta fisiológica, podem ser classificados como

feromônios ou aleloquímicos (VET e DICKE 1992). Os feromônios têm atuação intraespecífica podendo ser favoráveis ou não a ambos os indivíduos envolvidos. Aleloquímicos geram respostas interespecíficas que se distinguem em relação à vantagem seletiva do(s) organismo(s) envolvido(s): alomônio, quando somente o emissor adquire vantagem seletiva; cairomônio, com vantagem seletiva para o receptor, emitido por um nível trófico inferior, mas utilizado por um nível trófico superior geralmente para encontrar recursos; e sinomônio, com vantagem seletiva para os dois organismos - receptor e emissor (PRICE 1997, VET e DICKE 1992). Os sinais recebidos pelo inseto durante as etapas de localização do habitat e do hospedeiro modificam seus padrões de movimentação, podendo gerar respostas de orientação ou de deslocamento. Durante as etapas de reconhecimento e aceitação os sinais contribuem para identificar e selecionar o hospedeiro (VINSON 1985).

A cultura de soja é atacada por diversos herbívoros e dentre os mais prejudiciais encontram-se espécies de percevejos (Hemiptera: Pentatomidae), causadores de sérios danos (PANIZZI 1997). Esses insetos também são registrados abundantemente em outros cultivos de importância para a agricultura brasileira como milho, feijão, girassol (PANIZZI e MACHADO NETO 1992, ÁVILA e PANIZZI 1995, MALAGUIDO e PANIZZI 1999). Os percevejos atacam a soja desde o florescimento até a maturidade fisiológica (PANIZZI 1997) e neste período se alimentam preferencialmente sugando vagens e grãos, causando danos diretos e indiretos através da transmissão de doenças (fungos) e alterações fisiológicas (VILLAS-BÔAS 1990, SOSA-GOMES e MOSCARDI 1995, BOETHEL et al 2000). Os percevejos ocorrem em uma guilda cuja composição de espécies e abundância relativa varia entre as regiões produtoras de soja do Brasil (SUJII et al 2002). Na região central do país, sete espécies de percevejos estão associadas à cultura de soja (SUJII et al 2002). Neste complexo, o percevejo marrom, *Euschistus heros* (Fabricius, 1798), é considerado a praga

chave pela sua abundância e nível de dano nos cultivos (PANIZZI e SLANSKY 1985, MEDEIROS et al 1997).

O controle biológico é um processo pelo qual populações de hospedeiros existentes nos ecossistemas são reguladas - mantidas dentro de limites máximos e mínimos - devido à ação de seus inimigos naturais (SUJII et al 2001). Uma alternativa viável à aplicação de agrotóxicos é o uso de insetos parasitóides de ovos de percevejos da Família Scelionidae como agentes de controle biológico, especialmente os dos gêneros *Trissolcus* e *Telenomus*, que ocorrem naturalmente em diversas regiões do Brasil, inclusive no Distrito Federal (CORRÊA-FERREIRA e MOSCARDI 1995, MEDEIROS et al 1997). Pelas suas características biológicas, os parasitóides da família Scelionidae são agentes reguladores eficientes e têm sido utilizados efetivamente no controle biológico de percevejos em vários países do mundo, como Austrália, Nova Zelândia, Havaí e Brasil (CALTAGIRONE 1981, CLARKE 1990, CORRÊA-FERREIRA e MOSCARDI 1996, CORRÊA-FERREIRA 2002).

O controle de percevejos baseia-se na aplicação de inseticidas sintéticos, sendo utilizados mais de quatro milhões de litros de inseticidas químicos por safra para o controle dessas pragas (CORRÊA-FERREIRA e MOSCARDI 1996). Esse fato acarreta em aumento dos custos de produção, além da resistência da praga aos inseticidas utilizados, ressurgência de pragas e redução do número de inimigos naturais. O desenvolvimento de uma metodologia eficaz e amplamente adotável pelos produtores pode contribuir para a diminuição do uso de inseticidas para o controle dos percevejos e para o manejo da cultura e seus insetos-praga com bases ecológicas. Uma nova estratégia pode melhorar a qualidade do produto agrícola, reduzir a contaminação ambiental e contribuir para a preservação dos recursos naturais, mostrando-se uma ferramenta importante para a sustentabilidade da agricultura.

Assim, a utilização de semioquímicos para manipular o comportamento de parasitóides oferece grandes perspectivas e pode ser uma ferramenta aliada ao controle

biológico (LEWIS e MARTIN 1990, POWELL e PICKETT 2003). Os semioquímicos podem ser utilizados no manejo em campo, onde os compostos têm potencial para atrair ou reter os parasitóides em uma área particular ou aumentar os índices de parasitismo, alterando assim a dinâmica das relações hospedeiro/parasitóide. No laboratório, podem ser utilizados para manipular a aceitação de hospedeiros não preferenciais ou ainda serem utilizados, através do aprendizado associativo, para a produção de insetos com maior poder de resposta a semioquímicos (VET e DICKE 1992).

Nesse contexto, a presente dissertação, dividida em dois capítulos, propõe avaliar em culturas de soja a influência de tratamentos com o componente de feromônio de percevejos (*E*)-2-hexenal e com o fitormônio indutor de liberação de voláteis *cis*-jasmone, na dinâmica das relações hospedeiro (ovos de percevejo)/ parasitóides (Scelionidae). O objetivo principal é compreender como as aplicações destes compostos influenciam na atração dos parasitóides e quais são as consequências para as populações de seus hospedeiros. Esses conhecimentos auxiliam no estabelecimento de bases científicas para o manejo de populações de insetos parasitóides, geram informações aplicadas para incrementar a eficiência do controle biológico de percevejos e são essenciais, pois os efeitos de semioquímicos nas relações inseto herbívoro/ parasitóide em campo são pouco conhecidos e ainda são escassos os estudos do uso de semioquímicos para manejo de inimigos naturais de pragas da soja.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ÁVILA, C. J.; PANIZZI, A. R. 1995. Occurrence and damage by *Dichelops* (Neodichelops) *melacanthus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) on corn. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**. 24: 193-194.
- BOETHEL D. J.; RUSSIN, J. S.; WIER, A. T.; LAYTON, M. B.; MINK, J. S.; BOYD, M. L. 2000. Delayed maturity associated with southern green stink bug (Heteroptera: Pentatomidae) injury at various soybean phenological stages. **Journal of Economic Entomology**. 93: 707-712.
- CALTAGIRONE, L. E. 1981. Landmark examples in classical biological control. **Annual Review of Entomology**. 26: 213-232.
- CLARKE, A. R. 1990. The control of *Nezara viridula* L. with introduced egg parasitoids in Australia: a review of a landmark example of classical biological control. **Australian Journal of Agricultural Research**. 41: 1127-1146.
- CORNELL, H. V.; HAWKINS, B. A. 1995. Survival patterns and mortality sources of herbivorous insects: some demographic trends. **The American Naturalist**. 145: 563-593.
- CORRÊA FERREIRA, B. S. 2002. *Trissolcus basalus* para o controle de percevejos da soja, In: PARRA, J. R. P. **Controle Biológico no Brasil, Parasitóides e Predadores**. Ed. Manole Ltda., São Paulo. 449-476.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. 1995. Seasonal occurrence and host spectrum of egg parasitoids associated with soybean stink bugs. **Biological Control**. 5: 196-202.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. 1996. Biological control of soybean stink bugs by inoculative releases of *Trissolcus basalus*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**. 79: 1-7.

- GODFRAY, H. C. J. 1994. **Parasitoids, Behavioural and Evolutionary Ecology**. Princeton University Press, Princeton, New Jersey. 473 pp.
- GODFRAY, H. C. J.; HASSEL, M. P. 1994. How can parasitoids regulate the population densities of their host? **Norwegian Journal of Agricultural Sciences**.16: 41-57.
- LEWIS, W. J., MARTIN, W. R. 1990. Semiochemicals for use with parasitoids: status and future. **Journal of Chemical Ecology**. 16: 306-309.
- MALAGUIDO A. B.; PANIZZI, A. R. 1999. Nymph and adult biology of *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae) and its abundance related to planting date and phenological stages of sunflower. **Annals of the Entomological Society of America**. 92: 424-429.
- MEDEIROS, M. A.; SCHMIDT, F. V. G.; LOIÁCONO, M. S.; CARVALHO, V.; BORGES, M. 1997. Parasitismo e predação em ovos de *Euschistus heros* (Fab.) (Heteroptera: Pentatomidae) no Distrito Federal, Brasil. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**. 26:397-401.
- MORRIS, R. J.; LEWIS, O. T.; GODFRAY, H. C. J. 2004. Experimental evidence for apparent competition in a tropical forest food web. **Nature**. 428: 310-312.
- PANIZZI, A. R. 1997. Wild hosts of pentatomids: ecological significance and role in their pest status crops. **Annual Review of Entomology**. 42: 99-122.
- PANIZZI, A. R.; MACHADO-NETO, E. 1992. Development of nymphs and feeding habits of nymphal and adult *Edessa meditabunda* (Heteroptera: Pentatomidae) on soybean and sunflower. **Annals of the Entomological Society of America**. 85: 477-481.
- PANIZZI, A. R.; SLANSKY JUNIOR, F. 1985. Review of phytophagous pentatomids (Hemiptera: Pentatomidae) associated with soybean in the Americas. **Florida Entomologist**. 68: 184-203.

- POWELL, W. A.; PICKETT, J. A. 2003. Manipulation of parasitoids for aphid pest management: progress and prospects. **Pest Management Science**. 59: 149-155.
- PRICE, P. W.; BOUTON, C. E.; GROSS, P.; MCPHERON, B. A.; THOMPSON, J. N.; WEIS, A. E. 1980. Interactions among three trophic levels: influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies. **Annual Review of Ecology and Systematics**. 11: 41-65.
- PRICE, P. W. 1997. **Insect Ecology**. John Wiley & Sons, Inc., New York. 874 pp.
- SOSA-GÓMEZ, D. R.; MOSCARDI, F. 1995. Retenção foliar diferencial em soja provocada por percevejos (Heteroptera: Pentatomidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**. 24: 401-404.
- SUJII, E. R.; COSTA, M. L. M.; PIRES, C. S.; COLAZZA, S.; BORGES, M. 2002. Inter and intra-guild interactions in egg parasitoid species of the soybean stink bug complex. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 37: 1541-1549.
- SUJII, E. R.; PIRES, C. S. S.; SCHIMDT, F. G. V.; ARMANDO, M. S.; PAES, J. S. O.; SANTOS, H. M.; BORGES, M.; CARNEIRO, R. G.; VALLE, J. C. V. 2001. Recomendações para o controle biológico de insetos-praga na soja orgânica no Distrito Federal. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**. 19: 299-312.
- VET, L. E. M.; DICKE, M. 1992. Ecology of infochemical use by natural enemies in a tri-trophic context. **Annual Review of Entomology**. 47: 141-172.
- VILLAS-BÔAS, G. L.; GAZZONI, D. L.; OLIVEIRA, M. C. N.; PEREIRA, N. P.; ROESSING, A. C.; FRANÇA NETO, J. B.; HENNING, A. 1990. **Efeito de diferentes populações de percevejos sobre o rendimento e seus componentes, características agronômicas e qualidade de sementes de soja**. Londrina: Embrapa-CNPSO, Boletim Pesquisa, n. 1. 43pp.

- VINSON, S. B. 1985. The Behaviour of Parasitoids. In: KERTUT, G. A.; GILBERT, L. I. **Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology**. Ed. Pergamon Press, New York. 417-469.
- VINSON, S. B. 1998. The general host selection behaviour of parasitoid Hymenoptera and a comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. **Biological Control**. 11: 79-96.

CAPÍTULO 1

AÇÃO DO SEMIOQUÍMICO (*E*)-2-HEXENAL SOBRE PARASITÓIDES DE OVOS (HYMENOPTERA: SCELIONIDAE) E SUA APLICABILIDADE NO CONTROLE BIOLÓGICO DE PERCEVEJOS-PRAGA (HETEROPTERA: PENTATOMIDAE) DA SOJA

RESUMO

O (*E*)-2-hexenal, componente de feromônio dos percevejos, é também um volátil produzido por plantas, podendo ser utilizado como caimônio por parasitóides de ovos. O objetivo desse trabalho foi estudar, em monocultura de soja das principais regiões de produção agrícola do Distrito Federal, a influência de tratamentos com (*E*)-2-hexenal nas relações entre hospedeiros (ovos de Pentatomidae) e parasitóides (Scelionidae), para entender como as concentrações aplicadas desse composto afetam a flutuação populacional de parasitóides e qual é o impacto na população de hospedeiros. Durante o estágio reprodutivo da planta, foram realizados experimentos de maior escala em três áreas de cultivo de soja (convencional, convencional sem regime de pulverização e orgânico), em conjuntos de nove parcelas (20 m x 20 m) distribuídas em cada uma das três unidades experimentais. Em outra área, foram realizados experimentos de menor escala, com infestação controlada de percevejos em seis gaiolas (2,40 m x 1,80 m x 1,20 m) forradas com tela. As parcelas foram distribuídas ao acaso em três grupos: controle (n-pentano), (*E*)-2-hexenal 4 mg (H1) e 10 mg (H2). As gaiolas foram dispostas aleatoriamente em campo com tratamento de (*E*)-2-hexenal 5 mg diluído em n-pentano ou somente n-pentano (controle). Os parasitóides foram amostrados semanalmente com armadilhas adesivas amarelas (n= 3/parcela ou gaiola) e os índices de parasitismo monitorados através de ovos sentinela de *Euschistus heros* (n= 150/parcela ou gaiola) criados em laboratório. As populações de percevejos foram monitoradas pela utilização semanal de pano de batida em cada parcela (n= 10/semana) ou gaiola (n= 4/semana). As análises estatísticas incluíram PRC, GLM, χ^2 e ANOVA de medidas repetidas. Foi observado efeito caimomonal dos tratamentos com (*E*)-2-hexenal sobre os parasitóides, principalmente na concentração de 4 mg e nos estágios finais da cultura, mas o incremento na abundância de parasitóides não esteve relacionado à ocorrência e intensidade de parasitismo. A incidência populacional do complexo percevejos-praga mostrou-se reduzida durante todo o experimento e também não foi alterada pela liberação do volátil. Outras variáveis como temperatura e precipitação devem ser consideradas para estabelecer claramente os efeitos do (*E*)-2-hexenal.

ABSTRACT

The (*E*)-2-hexenal, a stinkbug's pheromone component is also a volatile produced by plants, and can be used as kairomone by egg parasitoids. We studied the influence of (*E*)-2-hexenal on the relationships of host (stink bug eggs) - parasitoid (Scelionidae), to understand how applications of this compound act on the population fluctuation of parasitoids and what is the impact on the population of their hosts. During the reproductive stage of the plant, large scale experiments were performed in three areas of soybean cultivation (conventional, conventional without pulverization regimen and organic) in sets of nine plots (20 m x 20 m) distributed in each of three experimental units. A small-scale experiment was conducted with controlled infestation of stinkbugs in six cages (2,40 m x 1,80 m x 1,20 m) covered with canvas. Plots were distributed randomly into three groups: control (n-pentane), (*E*)-2-hexenal 4 mg (H1) and 10 mg (H2). Cages were placed randomly in the field with treatment (*E*)-2-hexenal 5 mg diluted in n-pentane or only n-pentane (control). Parasitoids were sampled weekly using yellow sticky traps (n=3/plot or cage) and the parasitism indexes monitored through sentinel eggs of *Euschistus heros* (n=150/plot or cage) reared in the laboratory. Stinkbugs were monitored weekly with shake-cloth in each plot (n=10/week) or cage (n=4/week). Statistical analyses included PRC, GLM, χ^2 and repeated measures ANOVA. The effect was observed in plots treated with the semiochemical (*E*)-2-hexenal on parasitoids abundance, especially at a concentration of 4 mg in the final stages of culture, but the increase in parasitoid abundance wasn't associated with the occurrence and intensity of parasitism. The population incidence of stinkbugs pest complex was reduced throughout the experiment and was not altered by the release of the volatile. Other variables such as temperature and precipitation should be considered to establish the field effects of (*E*)-2-hexenal clearly.

INTRODUÇÃO

Os voláteis sintetizados e emitidos por hospedeiros são fundamentais no comportamento de forrageamento de parasitóides e podem modificar o direcionamento de sua busca por esse recurso (VET e DICKE 1992). A utilização desses sinais na manipulação da abundância e distribuição de inimigos naturais oferece importantes perspectivas ao controle biológico e manejo integrado de pragas (LEWIS e MARTIN 1990, VET e DICKE 1992, POWELL e PICKETT 2003), onde os compostos têm potencial para atrair ou reter os parasitóides em uma área particular ou aumentar os índices de mortalidade, alterando assim a relações entre os hospedeiros e seus inimigos naturais.

A cultura da soja é atacada por vários herbívoros e os percevejos (Hemiptera: Pentatomidae) estão entre os mais prejudiciais (PANIZZI 1997). O controle biológico dessas pragas com parasitóides de ovos da família Scelionidae (Hymenoptera) é uma alternativa que reduz o uso de inseticidas sintéticos e contribui para a preservação dos recursos naturais, sendo uma importante ferramenta para a agricultura sustentável (CORRÊA-FERREIRA e MOSCARDI 1996). A família Scelionidae possui 3.308 espécies descritas, todas consideradas endoparasitóides. Parasitam principalmente ovos de Heteroptera, mas também utilizam ovos de aranhas e de insetos das Ordens Lepidoptera, Diptera, Orthoptera e Coleoptera, como hospedeiros (AUSTIN et al 2005). No Brasil, as espécies dos gêneros *Telenomus* e *Trissolcus* (Hymenoptera: Scelionidae) são as principais reguladoras da natalidade de percevejos pentatomídeos da soja, através do parasitismo de ovos (CORRÊA-FERREIRA e MOSCARDI 1995, MEDEIROS 1998).

Estes parasitóides utilizam sinais químicos de diferentes fontes como caïromônios durante a sua busca de hospedeiros. Em estudos de laboratório, foi demonstrado que *Trissolcus basalís* responde a voláteis produzidos por machos virgens e fêmeas em estágio de pré-oviposição do percevejo *Nezara viridula* (COLAZZA et al 1999, 2004), e resultados

similares foram obtidos para *Trissolcus brochymenae* ao ser estimulado por voláteis de machos, fêmeas e ninfas do percevejo *Murgantia histrionica* (CONTI et al 2003). Foi constatado que compostos presentes nas glândulas de alarme dos percevejos podem atuar como atrativos para *Telenomus podisi* e, entre os compostos avaliados, o (*E*)-2-hexenal, um dos componentes majoritários de secreções glandulares de percevejos (ALDRICH 1995) e também um volátil constitutivo comumente produzido por plantas, apresentou poder de atração para o parasitóides *T. podisi* e *T. basalis* em laboratório (PIRES et al 2001, LAUMANN et al 2009). Em estudos de campo, este mesmo composto apresentou potencial para o manejo de parasitóides Scelionidae durante o segundo estágio reprodutivo (R2) da soja (PERES 2004). Compostos não voláteis, provenientes da secreção adesiva utilizada pelas fêmeas de percevejos para formar a massa de ovos, são responsáveis pelo reconhecimento dos hospedeiros pelos parasitóides scelionídeos (BIN et al 1993, ALDRICH 1995, BORGES et al 1999).

A ação cairomonal do composto (*E*)-2-hexenal, já reconhecida em laboratório, precisa ser confirmada em experimentos de campo, com condições mais complexas, para mostrar seu impacto real nas populações naturais de parasitóides ao longo de todo o estágio reprodutivo da soja. Compreender a atuação em campo desse composto sobre os parasitóides de ovos é importante, visto que esses inimigos naturais são agentes de controle biológico que atuam na mortalidade de percevejos em seus estágios iniciais de desenvolvimento (ovos), contribuindo para a redução dos níveis populacionais de seu hospedeiro em plantas de importância agrícola.

O objetivo deste trabalho foi avaliar, em condições de campo, a influência cairomonal de duas concentrações de (*E*)-2-hexenal nas relações entre hospedeiro (Pentatomidae) e parasitóides (Scelionidae), para entender como as aplicações deste composto influenciam na abundância e distribuição dos parasitóides e determinar seu impacto sobre a população de

percevejos hospedeiros em culturas de soja. Espera-se que ocorra aumento na densidade de parasitóides Scelionidae em parcelas tratadas e, conseqüentemente, que o parasitismo de ovos de percevejos seja maior nessas parcelas, controlando o nível de percevejos hospedeiros devido ao efeito de atração de parasitóides, agentes de controle biológico.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de Estudo - Experimento em parcelas de maior escala

Para estudar o efeito cairomonal das aplicações do composto (*E*)-2-hexenal sobre parasitóides da família Scelionidae, foram realizados experimentos de campo em monoculturas de soja convencional, semiconvencional e orgânica, durante o estágio reprodutivo da planta. As três áreas experimentais do estudo localizam-se nas principais regiões de produção agrícola do Distrito Federal: Plano de Assentamento Dirigido do Distrito Federal (PAD/DF) e Planaltina.

A unidade experimental convencional denominada Fazenda “Seu” Carlos (CAR), situa-se em uma propriedade particular da Colônia Agrícola Lamarão (Fig. 1), no PAD/DF (15°57’59” S e 47°30’32” W). A fazenda possui um histórico de plantio agrícola e é frequentemente utilizada para experimentos de pesquisa, contando com a permissão de acesso e apoio do proprietário. O campo de monocultivo de soja (cultivar MSOY 6101) possuía uma área total de 15 ha, com 4,5 ha utilizados no presente estudo e estava delimitado por uma área de vegetação natural (mata de galeria), uma área de restos de cultura de entressafra (sorgo) e uma área de pastagem. O ciclo do cultivo teve início em novembro de 2008 e término em abril de 2009.

Outra unidade experimental, na Embrapa Cerrados (CPAC), em Planaltina (15°35’34” S e 47°43’32” W), com área de 4 ha (Fig. 2), continha dois cultivares: BRS Valiosa RR e BRS Baliza RR, ambas tolerantes ao glifosato. A aplicação do herbicida foi realizada no

início do ciclo da cultura. Não houve outra aplicação de agrotóxicos pelo restante do ciclo, por isso o cultivo foi considerado convencional sem regime de pulverização. Nas imediações da área experimental havia outras plantações (soja, milho e trigo) intercaladas por faixas de gramíneas. O ciclo do cultivo teve início em dezembro de 2008 e término em abril de 2009.

A unidade experimental orgânica, denominada Fazenda Malunga (MAL), também estava localizada em uma propriedade particular da Colônia Agrícola Lamarão (Fig. 3), integrante do PAD/DF (15°57'57" S e 47°29'20" W). Seu histórico de plantio de soja é recente e o uso mais comum da terra é para o cultivo de hortaliças. O administrador da fazenda permitiu o acesso e apoiou a condução da pesquisa. O espaço de realização do experimento possuía 4,3 ha de plantio de soja variedade MSOY 8001, com aplicações quinzenais intercaladas de inseticidas biológicos e fungicidas inorgânicos de contato por todo o ciclo da planta, que durou de dezembro de 2008 a abril de 2009. O monocultivo localizava-se nas adjacências de uma mata de galeria e de uma plantação de sorgo.

Área de Estudo - Experimento em parcelas de menor escala

O experimento com aplicações do composto (*E*)-2-hexenal em parcelas de menor escala foi conduzido no campo experimental da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Fig. 4), Distrito Federal (15°43'50" S e 47°53'59" W). A soja (MSOY 6101) foi cultivada em uma área de 0,55 ha entre novembro de 2008 e março de 2009, onde seis parcelas foram aleatoriamente distribuídas no início do período reprodutivo da planta. Nas imediações da área cultivada havia uma mata ripária e pequenas parcelas utilizadas em outros experimentos com cultivo de mamão, mamona, girassol e algodão. Devido a presença de plantas invasoras, foram realizadas aplicações esporádicas de herbicida para folhas estreitas antes do plantio da soja.

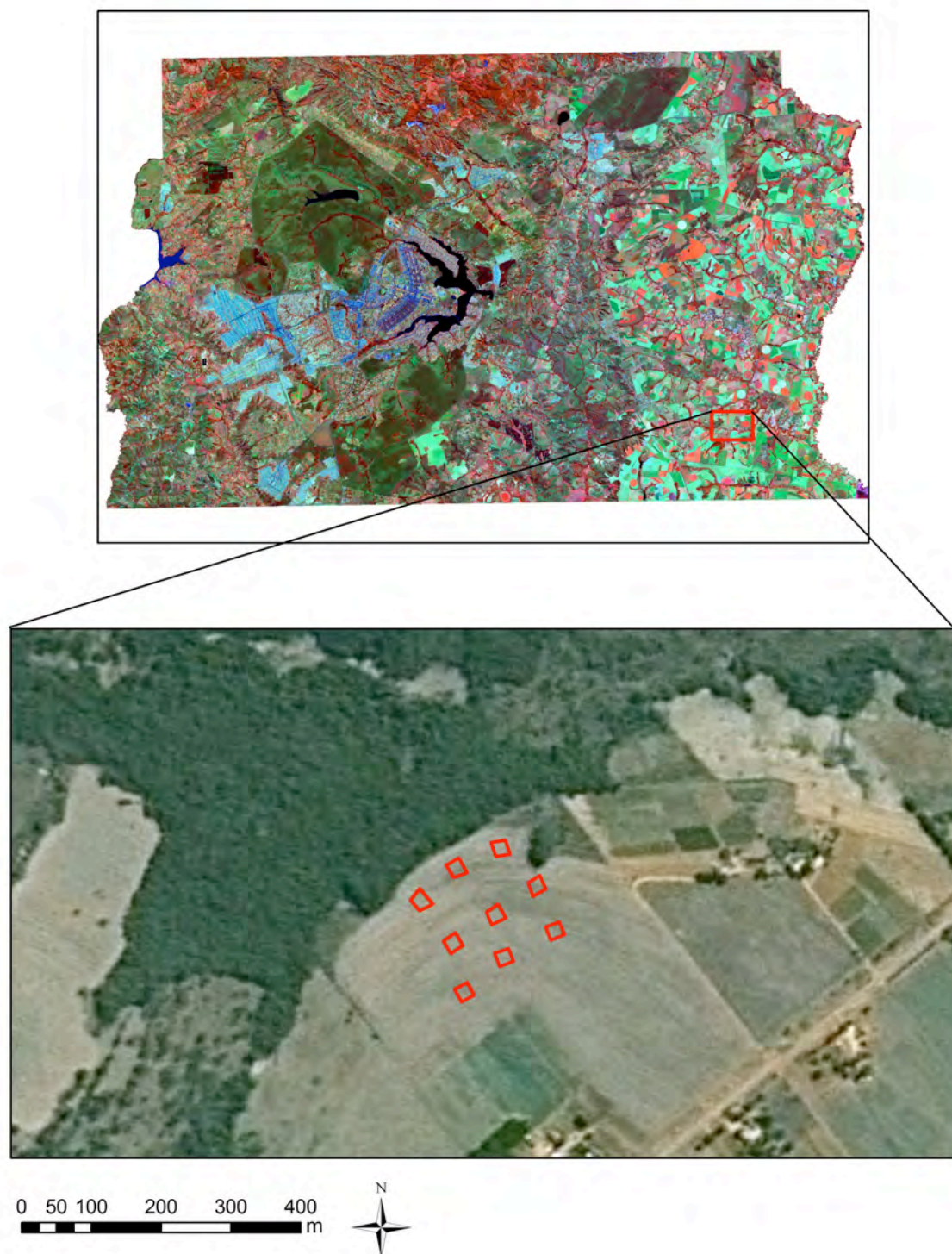


Figura 1. Localização das parcelas (em vermelho) do experimento com (*E*)-2-hexenal na área Fazenda Seu Carlos (CAR), Colônia Agrícola Lamarão, PAD/DF, Brasília.

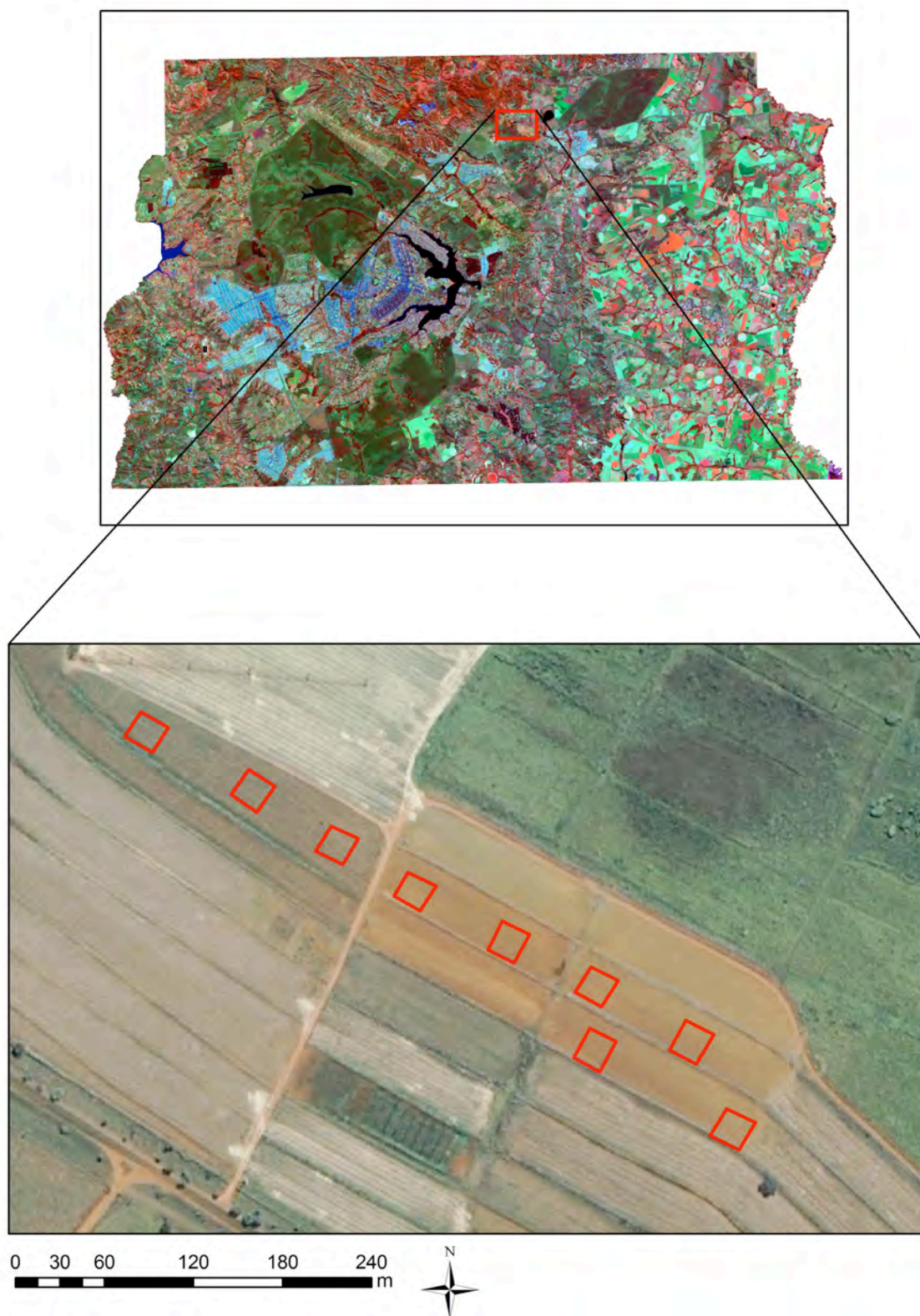


Figura 2. Localização das parcelas (em vermelho) do experimento com (*E*)-2-hexenal na área Embrapa Cerrados (CPAC), Planaltina, Brasília.

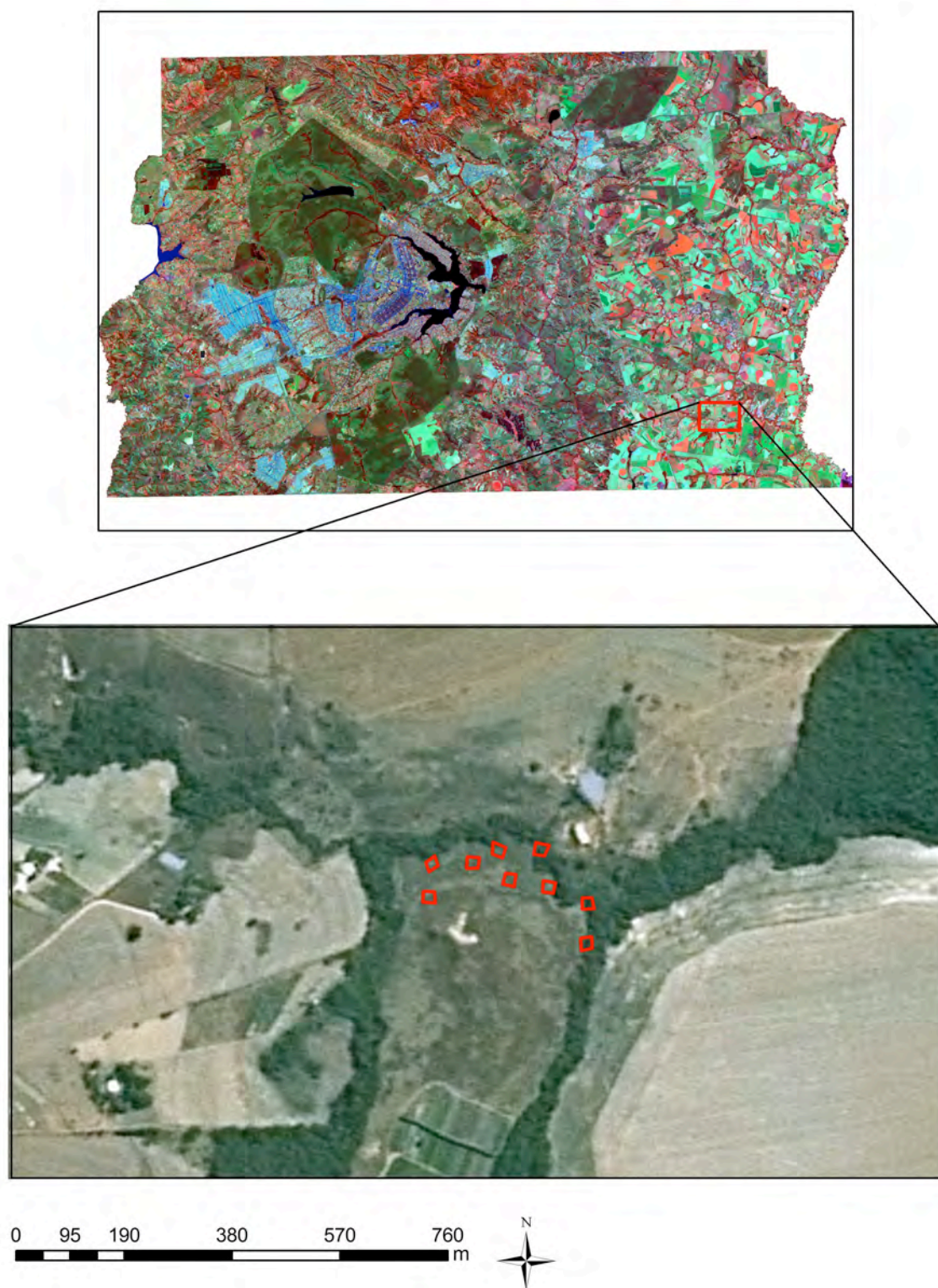


Figura 3. Localização das parcelas (em vermelho) do experimento com (*E*)-2-hexenal na área Fazenda Malunga (MAL), Colônia Agrícola Lamarão, PAD/DF, Brasília.

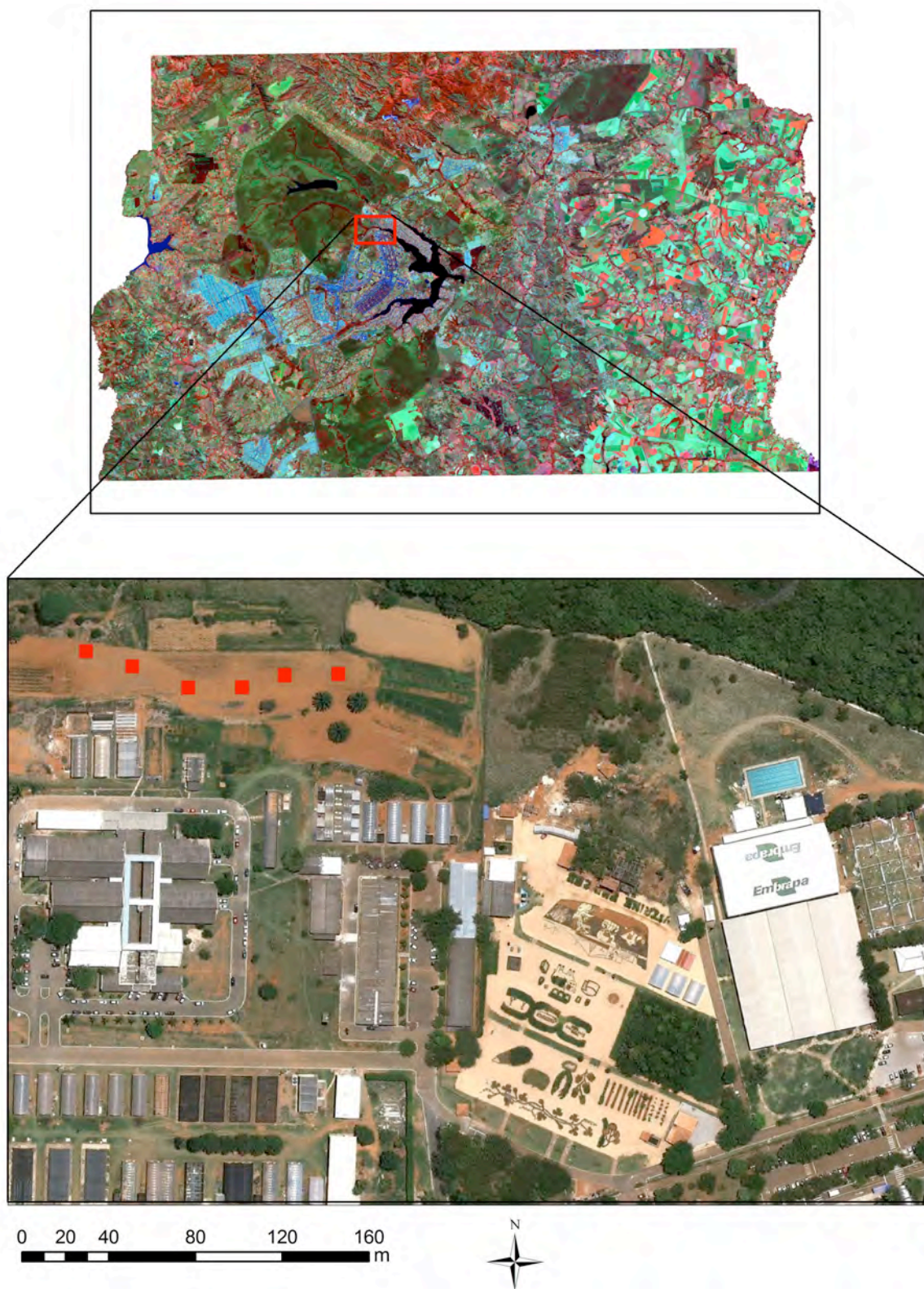


Figura 4. Localização das gaiolas (em vermelho) do experimento com (*E*)-2-hexenal, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia - Brasília.

Desenho experimental - Experimento em parcelas de maior escala

Em cada unidade experimental foram instaladas nove parcelas de 20 m x 20 m, distanciadas entre si por pelo menos 15 m e delimitadas por quatro estacas de madeira enterradas nos vértices. As parcelas foram instaladas no início do período reprodutivo, quando a cultura é colonizada por percevejos (PANIZZI 1997), e mantidas até o final do ciclo da soja (maturidade fisiológica). Cada estaca serviu de suporte para um septo de borracha (ISCA Technologies), preso com arame, contendo (*E*)-2-hexenal diluído em n-pentano ou apenas n-pentano (controle). As parcelas foram distribuídas ao acaso em três grupos, com três parcelas representando um grupo em cada área: grupo controle, grupo (*E*)-2-hexenal 4 mg (doravante chamado H1) e grupo (*E*)-2-hexenal 10 mg (doravante chamado H2). No grupo controle, cada septo continha n-pentano; no grupo H1, 1 mg de (*E*)-2-hexenal; e no grupo H2, 2,5 mg de (*E*)-2-hexenal.

Desenho experimental - Experimento em parcelas de menor escala

Para o experimento em parcelas de menor escala, o nível populacional inicial de percevejos foi controlado através da infestação de cada parcela com *Euschistus heros*, provenientes de uma colônia de laboratório mantida na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Na área de plantio de soja, a partir do início do estágio reprodutivo, foram distribuídas ao acaso seis gaiolas com estrutura de metalon de 2,4 m x 1,8 m x 1,2 m (Fig. 5). As gaiolas foram cobertas com tela resistente, de malha de 4 mm, capaz de reter os percevejos dentro da mesma e permitir a livre movimentação dos parasitóides. Cada gaiola representava uma parcela experimental e foi infestada com 15 fêmeas do percevejo *Euschistus heros*, para atingir a densidade de insetos similar ao nível de controle, de dois percevejos por metro linear (EMBRAPA 2008). Um septo preso com arame e apoiado em estaca de ferro foi colocado no centro de cada gaiola com os tratamentos distribuídos

aleatoriamente em três gaiolas com (*E*)-2-hexenal (5,0 mg/septo) e em três gaiolas controle (n-hexano).

A montagem das gaiolas foi realizada em campo a partir do início do período reprodutivo e mantida até o final do ciclo da soja (maturidade fisiológica), período relativo ao deslocamento dos percevejos para áreas de refúgio ou áreas com plantas hospedeiras alternativas.

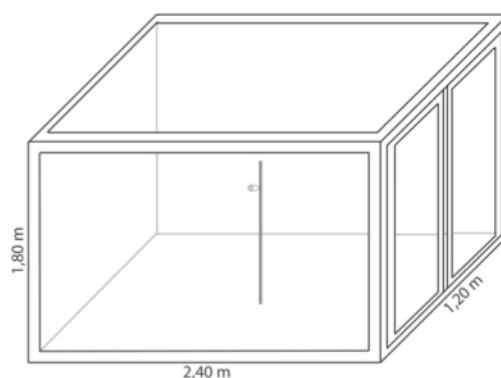


Figura 5. Ilustração da gaiola utilizada no experimento em parcelas de menor escala com (*E*)-2-hexenal 5 mg.

*Avaliação da volatilização de (*E*)-2-hexenal em septos de borracha (pré-campo)*

Septos de borracha são amplamente utilizados para impregnação de formulações de compostos feromoniais e de outros semioquímicos, muitas vezes sem avaliação precisa das taxas de liberação e vida útil em condições de campo, podendo isto afetar sua eficiência ao longo de um estudo. Numa etapa anterior ao experimento de campo, foi verificado o tempo de permanência e o comportamento de volatilização do composto (*E*)-2-hexenal em septos livres ou envolvidos por membrana de parafilm, sacos de PVC ou tubos de PVC com tampa (Fig.6). Vinte septos de cada um dos tratamentos ou 20 tubos de PVC receberam 200 μ l da diluição de 250 mg/ml de (*E*)-2-hexenal em n-pentano (50 mg/recipiente). Os septos e tubos de PVC foram mantidos em estufa a $31 \pm 1^\circ\text{C}$ e seus pesos foram registrados diariamente em balança de precisão durante um intervalo de seis dias, tempo em que a maioria retornou ao seu peso inicial (anterior ao tratamento com a diluição de (*E*)-2-hexenal).

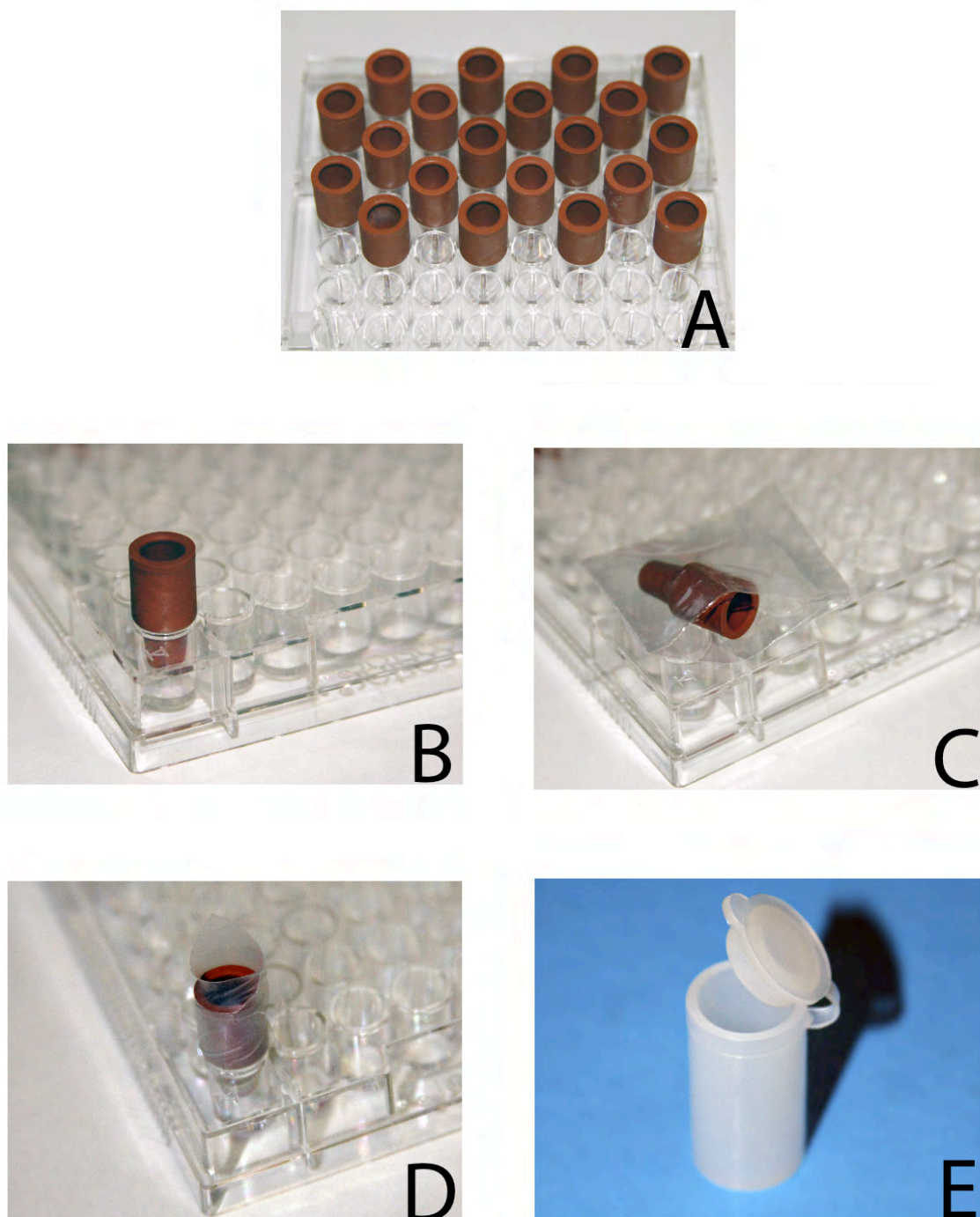


Figura 6. Septos de borracha utilizados para a impregnação do composto (*E*)-2-hexenal no teste de volatilização. A e B - septos livres, C - septo protegido com saco de PVC, D - septo protegido por membrana de parafilm e E- tubo de PVC com tampa.

Impregnação de (E)-2-hexenal em septos de borracha

A impregnação do composto nos septos de borracha foi realizada em laboratório no dia anterior à ida ao campo. Inicialmente, o composto (*E*)-2-hexenal puro (padrão Sigma Aldrich®) mantido em freezer por ser muito volátil, foi diluído em n-pentano para alcançar as concentrações de aplicação em campo (1 mg, 2,5 mg e 5 mg). Os septos referentes às parcelas H1 (1 mg/septo) foram tratados com 270 µl da diluição de 3,7 mg/ml de (*E*)-2-hexenal em n-pentano. Os septos referentes às parcelas H2 (2,5 mg/septo) foram tratados com 312 µl da diluição de 8 mg/ml de (*E*)-2-hexenal em n-pentano. Cada septo referente às parcelas tratamento do experimento com gaiolas (5 mg/septo) recebeu 250 µl da diluição de 20 mg/ml de (*E*)-2-hexenal em n-pentano. Para as parcelas controle, foi aplicado 200 µl de n-pentano puro com micropipeta em cada septo.

Para o preparo de todas as soluções, o (*E*)-2-hexenal foi pesado em balança de precisão nas quantidades necessárias e as diluições sempre foram aplicadas nos septos com o auxílio de micropipeta. As sobras de solução foram acondicionadas em recipiente de vidro estéril com tampa, envolvido em parafilm e mantido em freezer. Como a quantidade de solução não foi suficiente para o uso por todo o experimento, novas soluções foram preparadas quando necessário, para evitar desperdício.

As taxas de liberação do (*E*)-2-hexenal foram avaliadas para estabelecer qual recipiente acondicionaria o composto ou se alguma vedação seria empregada no recipiente para o experimento em campo. Optou-se por colocar septos embalados com parafilm para assegurar a permanência do composto e protegê-los de ressecamento ou excesso de umidade em condições de campo. Logo após a aplicação da solução nas concentrações desejadas dentro dos septos de borracha, cada um foi embalado em parafilm, após a evaporação do solvente. Os grupos de septos por tratamento e por área foram embalados em papel alumínio e mantidos em freezer, empacotados separadamente em sacos *zip lock*, para uso no dia

seguinte. Para manter os septos em temperatura baixa durante o transporte dos mesmos ao campo, foi utilizada uma caixa de isopor com gelo reciclável.

Amostragem de parasitóides de ovos e percevejos-praga

Parasitóides de ovos de percevejos foram amostrados através de armadilhas adesivas Biotrap® (BioControle Métodos de Controle de Pragas Ltda.), de 15,0 x 24,5 cm, para o experimento de maior escala e 15 x 12,5 cm para o experimento de menor escala (Fig. 7). No experimento de maior escala, as armadilhas foram distribuídas dentro de cada parcela em três pontos equidistantes entre si (formando um triângulo dentro das parcelas, com a junção dos pontos) por aproximadamente 5 m, e, no experimento de menor escala, as armadilhas foram distribuídas em três pontos dispostos ao longo de uma das diagonais de cada gaiola, sendo um no centro e um em cada extremidade (Fig. 7). As armadilhas foram colocadas a aproximadamente 1,20 m de altura em relação ao solo em estacas de madeira e presas por arame. A superfície adesiva foi exposta no campo e se manteve em atividade por um período de três dias, após o qual as armadilhas foram removidas, envolvidas em filme de PVC e armazenadas em geladeira para posterior identificação dos insetos. A substituição foi realizada quatro dias após a remoção e ocorreu semanalmente, coincidindo com a reposição dos septos, até o fim do ciclo da cultura. Os parasitóides da família Scelionidae foram identificados até o menor nível taxonômico possível e quantificados; parasitóides de outras famílias não foram identificados, apenas quantificados.

A ocorrência (ausência ou presença) e a intensidade (n° ovos parasitados/ n° ovos remanescentes nas cartelas) de parasitismo foram registradas semanalmente em cada parcela ou gaiola, pela distribuição aleatória de três pedaços de 3 cm x 3 cm de cartolina, contendo 50 ovos sentinela colados com goma arábica. Os ovos do percevejo marrom *Euschistus heros*, o mais abundante em culturas de soja no Distrito Federal, provenientes de uma colônia

mantida na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, foram cobertos com filó, para evitar a predação (Fig. 7). O filó, com malha de espessura milimétrica ($\cong 2$ mm), permitia a livre passagem dos parasitóides e dificultava o acesso aos ovos por outros predadores (*e.g.*, percevejos, formigas, besouros). Para proteger os ovos colados em cartolina da ação da chuva, foram empregados abrigos confeccionados com fundo de garrafa tipo PET (Fig. 7). Os ovos foram expostos no campo por três dias e depois transportados ao laboratório, acondicionados em potes de plástico com tampa e mantidos em sala climatizada. O parasitismo foi constatado pela emergência de parasitóides ou pela dissecção dos ovos e observação da presença de pupas e estágios imaturos, quando os parasitóides não completavam seu desenvolvimento (Fig.7). Os ovos parasitados foram quantificados e os parasitóides adultos que emergiram foram identificados.

Para estimar a densidade de percevejos, cada parcela foi amostrada semanalmente com pano de batida (SHEPARD 1974), que consistiu em um retângulo de plástico flexível de cor branca, medindo 1,00 m x 0,70 m e preso nas laterais a cabos de madeira. O pano de batida é semelhante ao guarda chuva entomológico e foi utilizado para cobrir o solo entre as linhas de soja, enquanto as plantas eram sacudidas vigorosamente sobre ele (Fig. 7). Em cada parcela, foram efetuadas dez batidas, distribuídas aleatoriamente enquanto se percorria o campo em zig-zag, para o experimento de maior escala. Para o experimento de menor escala foram efetuadas quatro batidas, suficientes para uma varredura completa da gaiola. Os percevejos-praga amostrados foram identificados (espécie e estágio) no local de coleta e liberados. A abundância e riqueza de percevejos foram estimadas para cada semana de amostragem.

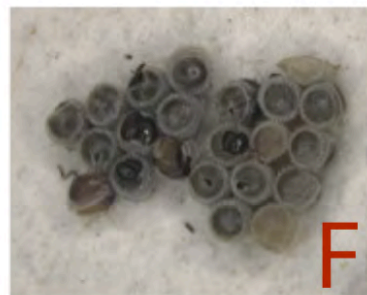
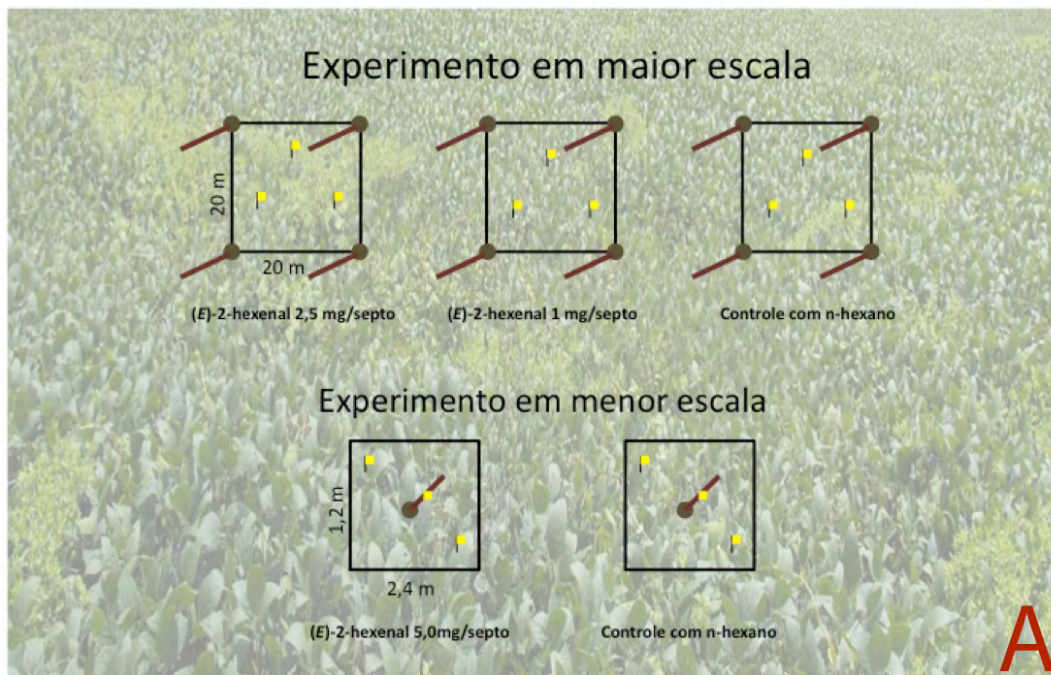


Figura 7. Esquema da distribuição das armadilhas adesivas nas parcelas e métodos de amostragem de insetos. A - Distribuição das armadilhas adesivas formando um triângulo em experimentos de maior escala e distribuição das armadilhas adesivas diagonalmente em experimentos de menor escala, B - Armadilha adesiva amarela, C - Ovos sentinela, D - Pano de batida, E - *Telenomus podisi* parasitando ovos sentinela de *Euschistus heros*, F - Ovos sentinela de *Euschistus heros* parasitados por *Telenomus podisi*.

Análises estatísticas

Para testar o efeito do tipo de recipiente (septos livres ou protegidos por membrana de parafilm, sacos de PVC ou tubos de PVC com tampa) e do tempo sobre a taxa de volatilização do composto (*E*)-2-hexenal, foi utilizada uma análise de variância de medidas repetidas (TABACHNICK e FIDELL 2001). Para satisfazer a premissa de normalidade, foi empregado nessa análise o arco seno da raiz quadrada da proporção de volatilização do composto aplicado nos septos por tipo de vedação e por dia.

Para testar o efeito dos tratamentos sobre a abundância de parasitóides adultos amostrados com armadilhas adesivas, foi empregado o método multivariado de curvas de respostas principais (*principal response curves* – PRC). O resultado fundamental desse método, que é baseado em uma análise de redundância (*redundancy analysis* – RDA) parcial, é uma curva representando a trajetória temporal da composição da comunidade para cada tratamento experimental (LEPS e SMILAUER 2003). Essa curva é complementada por um diagrama unidimensional mostrando os escores das espécies em cada eixo da RDA (normalmente um único eixo é utilizado). A significância do efeito do tratamento foi determinada através de 999 permutações de Monte Carlo. Foram feitas duas PRCs, uma apenas para os gêneros de Scelionidae amostrados e outra para todos os parasitóides encontrados (Scelionidae e outros parasitóides). Nas análises, foi empregado o logaritmo da média da abundância de parasitóides nas três armadilhas adesivas, por parcela (ou gaiola) e por semana.

O efeito dos tratamentos sobre a abundância de Scelionidae amostrados com armadilhas adesivas foi testado através de análise de variância de medidas repetidas (TABACHNICK e FIDELL 2001). Nessa análise foi empregado o total de parasitóides por tratamento e por semana. Para testar o efeito dos tratamentos com (*E*)-2-hexenal sobre o número de percevejos amostrados com o pano de batida, foi utilizada uma análise de

variância de medidas repetidas (TABACHNICK e FIDELL 2001). Nessa análise foi empregado o total de percevejos por tratamento e por semana. O efeito dos tratamentos sobre a ocorrência de parasitóides (ausência ou presença) e a intensidade média de parasitismo (n° ovos parasitados/ n° ovos remanescentes nas cartelas) em ovos sentinela por parcela foi determinado através do modelo linear generalizado (*generalized linear model* – GLM), especificando erros com distribuição binomial e de Poisson, respectivamente (ZUUR et al 2009). Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa R 2.10.1 (R DEVELOPMENT CORE TEAM 2009). O pacote *vegan* (OKSANEN 2009) foi utilizado para as PRCs. O nível de significância utilizado nos testes de hipóteses foi de 5%.

RESULTADOS

Avaliação da volatilização de (E)-2-hexenal nos septos de borracha (pré-campo)

A taxa de liberação de (E)-2-hexenal variou significativamente com o tipo de vedação e com o tempo, mas não houve interação entre o tipo de vedação e o tempo (tipo de vedação: $F_{3,360}=39,15$; $p<0,01$; tempo: $F_{4,360}=4,24$; $p<0,01$; interação: $F_{12,360}=0,87$; $p=0.57$).

A taxa de liberação de (E)-2-hexenal foi semelhante entre os septos de borracha livres e vedados com parafilm ou PVC, com volatilização de praticamente todo o composto entre o primeiro e o segundo dia, e estabilização da curva após esse período (Fig. 8). Os septos de borracha embalados com parafilm retiveram o composto durante um tempo maior, quando comparados aos outros tratamentos em septos de borracha. Isso pode ser percebido pela inclinação inicial da curva entre o primeiro e o segundo dia, com tendência de constância na volatilização a partir do terceiro dia. A volatilização do composto nos tubos de PVC com tampa se diferenciou dos demais tratamentos, mostrando uma menor taxa de liberação, principalmente nos dois primeiros dias de observação (Fig. 8), sem liberação completa do volátil durante o tempo amostrado e estabilização das taxas de liberação posterior, em

comparação aos septos de borracha.

Septos de borracha embalados com parafilm foram a opção mais apropriada para manter o composto em campo pelo tempo em que as armadilhas estiveram ativadas (\cong três dias), com taxa de volatilização máxima entre o primeiro e o segundo dia, e um restante ainda no terceiro dia. Apesar dos tubos de PVC manterem o composto ativo por um tempo maior, não foram apropriados para uso em campo no presente trabalho, pois a sua vedação (tampa) impede uma maior volatilização o que pode diminuir notoriamente a dose efetiva de (*E*)-2-hexenal aplicado em campo.

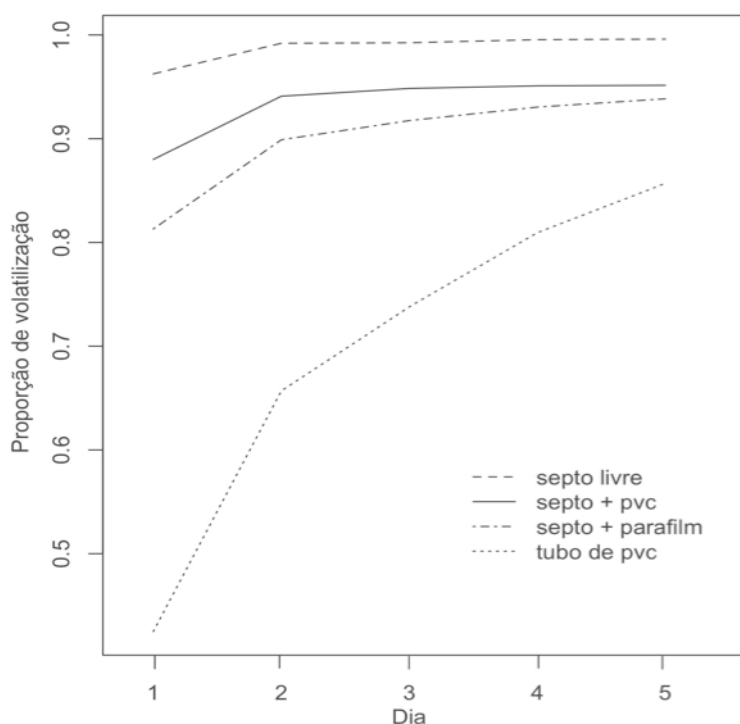


Figura 8. Proporção de volatilização ao longo do tempo (dia) de (*E*)-2-hexenal 50 mg em septos de borracha livres ou protegidos por membrana de parafilm, sacos de PVC ou tubos de PVC com tampa, mantidos em estufa a $31 \pm 1^\circ\text{C}$.

Experimento em parcelas de maior escala

As curvas de respostas principais (PRCs) indicaram ausência de efeito do tratamento com (*E*)-2-hexenal em relação ao controle, na variação temporal da abundância de Scelionidae (MAL: $F_{18,54}=1,39$; $p=0,10$, RDA1=2,5%; CPAC: $F_{16,48}=0,94$; $p=0,57$, RDA1=1,5%; CAR: $F_{16,48}=1,03$; $p=0,44$, RDA1=1,1%), ou na variação temporal da abundância de Scelionidae em

conjunto com parasitóides de outras famílias (MAL: $F_{18,54}=0,47$; $p=0,98$, RDA1=3,7%; CPAC: $F_{16,48}=0,85$; $p=0,70$, RDA1=7,1%; CAR: $F_{16,48}=0,83$; $p=0,72$, RDA1=3,1%) amostrados com as armadilhas adesivas (Fig. 9).

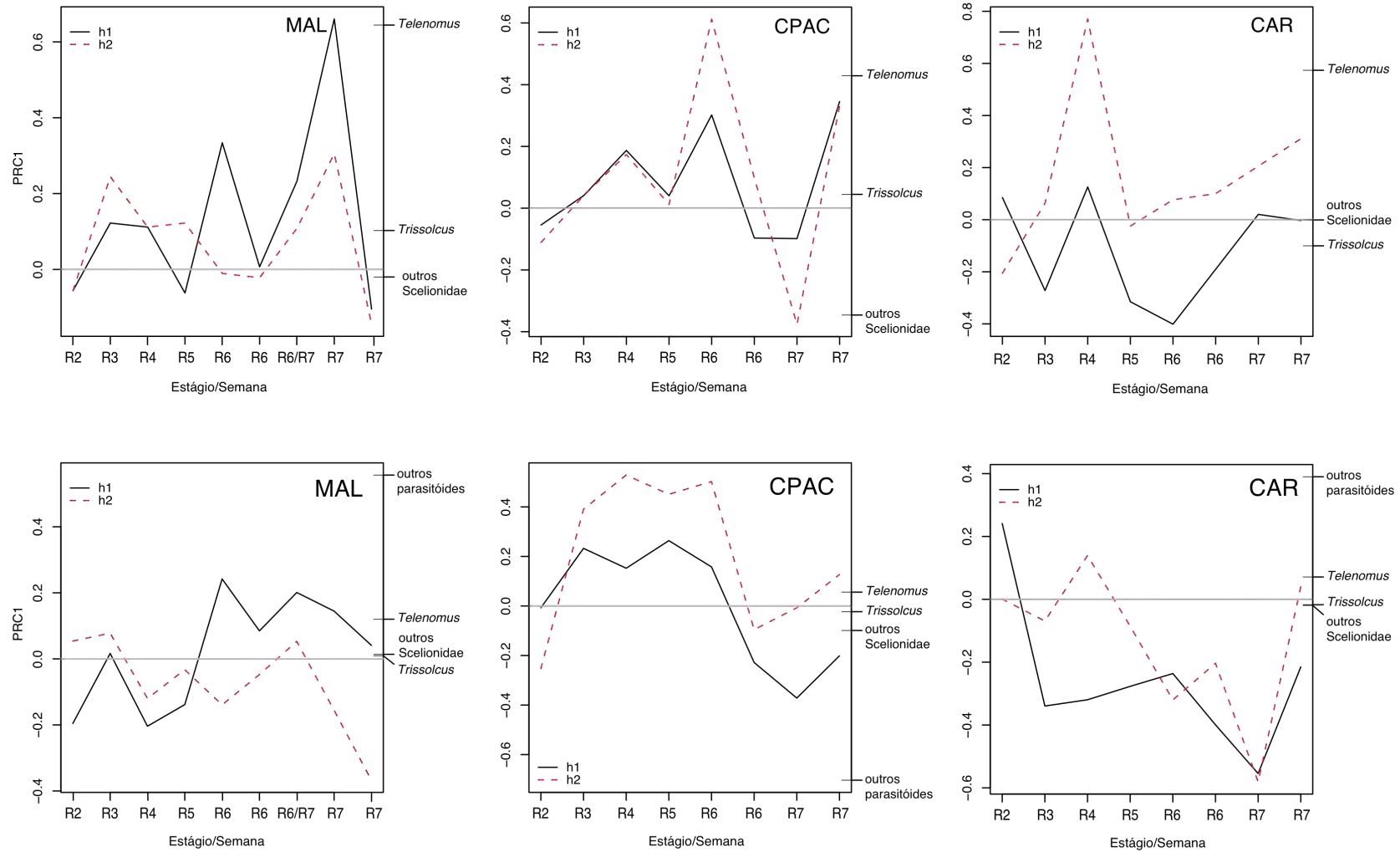


Figura 9. Curvas de Respostas Principais da variação temporal na abundância de parasitóides adultos em função dos tratamentos com (*E*)-2-hexenal (h1= 4 mg, h2= 10 mg) na unidade experimental MAL-Fazenda Malunga, CPAC e CAR-Fazenda Seu Carlos. Acima: somente Scelionidae (*Trissolcus* spp. e *Telenomus* spp.); abaixo: Scelionidae em conjunto com outros parasitóides.

Entre as três unidades experimentais de grande escala houve efeito dos tratamentos com (*E*)-2-hexenal sobre o número de parasitóides Scelionidae capturados com armadilhas adesivas (Fig. 10) em uma das áreas (MAL: $F_{2,27}=0,10$; $p=0,91$; CPAC: $F_{2,24}=4,47$; $p=0,02$; CAR: $F_{2,24}=2,74$; $p=0,08$), o efeito do tempo não foi significativo apenas para a unidade de cultivo orgânico (MAL: $F_{8,27}=1,46$; $p=0,22$; CPAC: $F_{7,24}=7,03$; $p<0,01$; CAR: $F_{7,24}=5,78$; $p<0,01$) e houve efeito da interação entre tratamento e tempo apenas na unidade de cultivo convencional (MAL: $F_{16,27}=0,34$; $p=1,00$; CPAC: $F_{14,24}=1,34$; $p=0,27$; CAR: $F_{14,24}=3,81$; $p<0,01$).

Em todas as três unidades experimentais de maior escala não houve efeito dos tratamentos com (*E*)-2-hexenal sobre o número de percevejos registrados por pano de batida (Fig. 11) (MAL: $F_{2,27}=0,31$; $p=0,74$; CPAC: $F_{2,24}=0,20$; $p=0,82$; CAR: $F_{2,24}=0,92$; $p=0,41$), o efeito do tempo foi significativo apenas para a unidade de cultivo orgânico (MAL: $F_{8,27}=3,45$; $p=0,007$; CPAC: $F_{7,24}=0,45$; $p=0,84$; CAR: $F_{7,24}=1,19$; $p=0,34$) e não houve efeito da interação entre tratamento e tempo (MAL: $F_{16,27}=1,90$; $p=0,07$; CPAC: $F_{14,24}=1,75$; $p=0,11$; CAR: $F_{14,24}=0,65$; $p=0,80$). Nas três áreas experimentais, a espécie de percevejo mais abundante foi *Euschistus heros* (Fig. 12).

Na área MAL, CPAC e CAR dentre as 243, 216 e 216 cartelas de ovos sentinela dispostas no campo, 44 (18%), 69 (32%) e 49 (23%) sofreram perda de ovos devido à ação da chuva, predação dos ovos (e.g., formigas, besouros e percevejos) ou mastigação da cartela junto ao filó (e.g., ortópteros), e não foram consideradas na análise. Os ovos sentinela recuperados foram parasitados exclusivamente por *Telenomus podisi*. Não houve influência da aplicação de (*E*)-2-hexenal em ambas as concentrações sobre a ocorrência de parasitismo (MAL: $\chi^2_{[1]}=0,06$; $p=0,80$; CPAC: $\chi^2_{[1]}=3,82$; $p=0,051$; ; CAR: $\chi^2_{[1]}=2,45$; $p=0,12$) ou sobre a intensidade de parasitismo (MAL: $F_{2,6}=0,46$; $p=0,65$; CPAC: $F_{2,6}=1,10$; $p=0,39$; ; CAR: $F_{2,6}=0,79$; $p=0,49$) nas áreas.

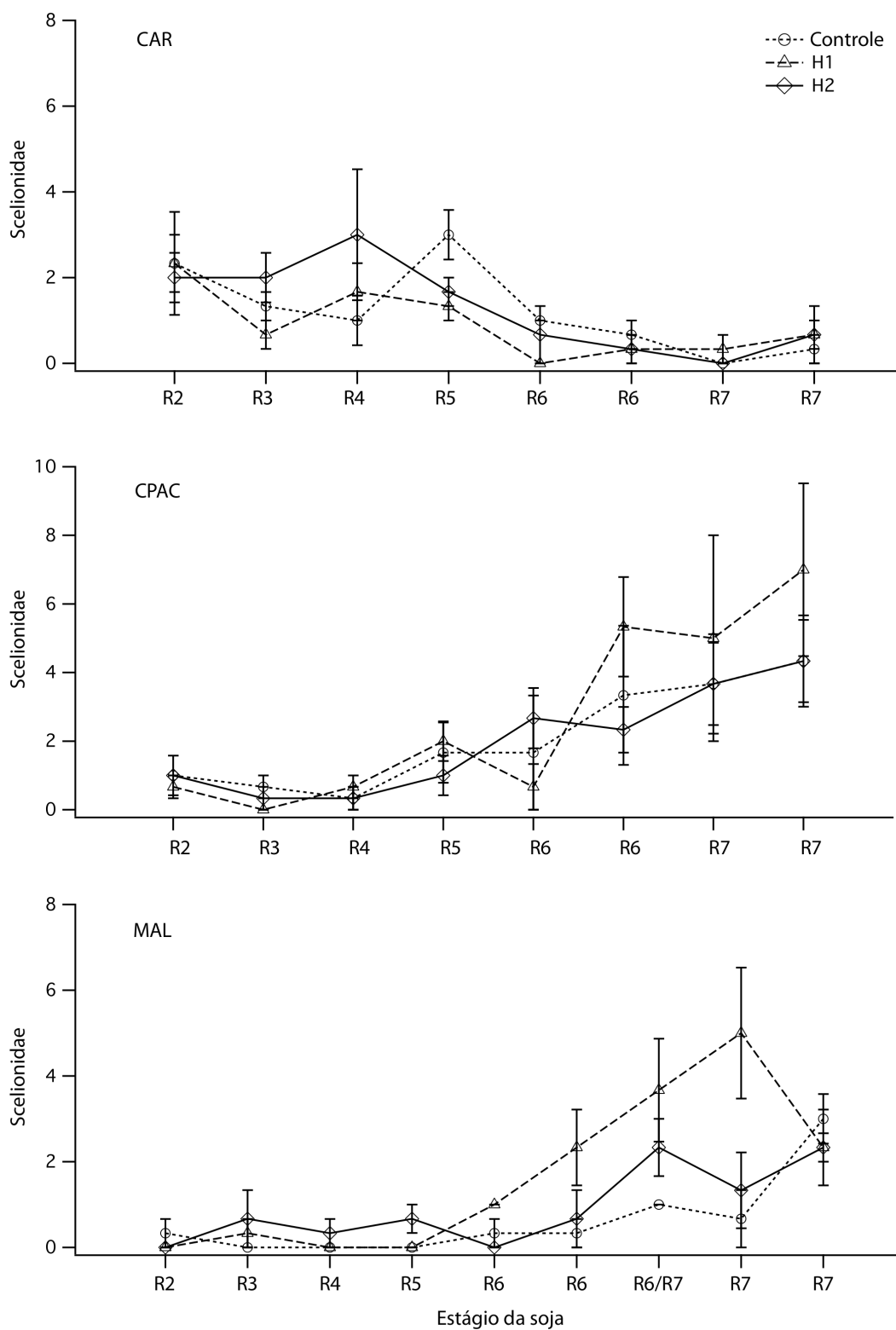


Figura 10. Variação temporal do número médio (\pm EP) de Scelionidae capturados semanalmente com armadilha adesiva amarela em cultura de soja, de acordo com o tipo de tratamento (H1- linha tracejada: 4 mg de (*E*)-2-hexenal, H2- linha contínua: 10 mg de (*E*)-2-hexenal, controle - linha pontilhada: n-pentano), na unidade experimental CAR-Fazenda Seu Carlos, CPAC e MAL-Fazenda Malunga.

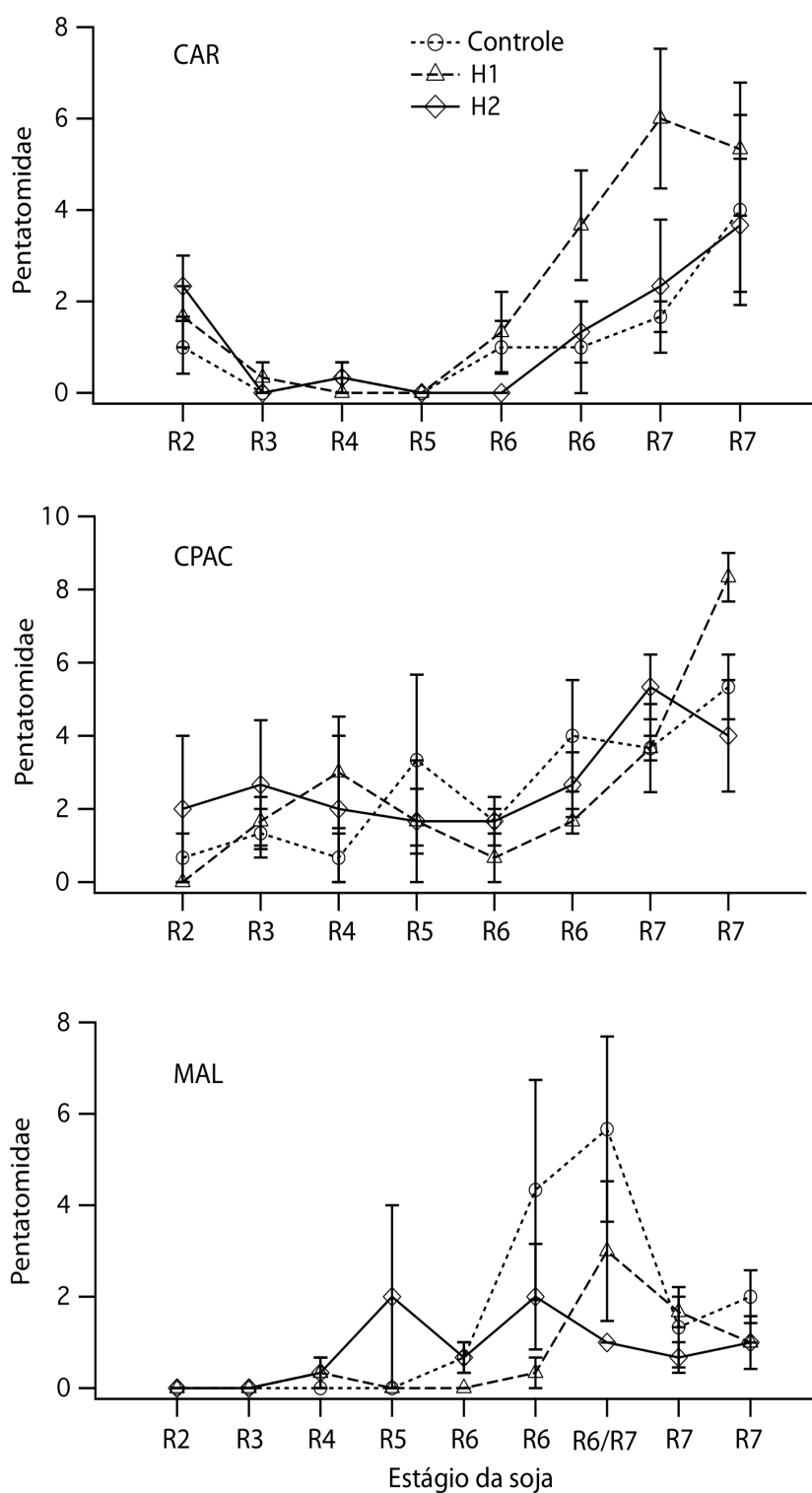


Figura 11. Variação temporal do número médio (\pm EP) de Pentatomidae registrados por semana com pano de batida em cultura de soja, de acordo com o tipo de tratamento (H1- linha tracejada: 4 mg de (*E*)-2-hexenal, H2- linha contínua: 10 mg de (*E*)-2-hexenal, controle - linha pontilhada: n-pentano), na unidade experimental CAR-Fazenda Seu Carlos, CPAC e MAL-Fazenda Malunga.

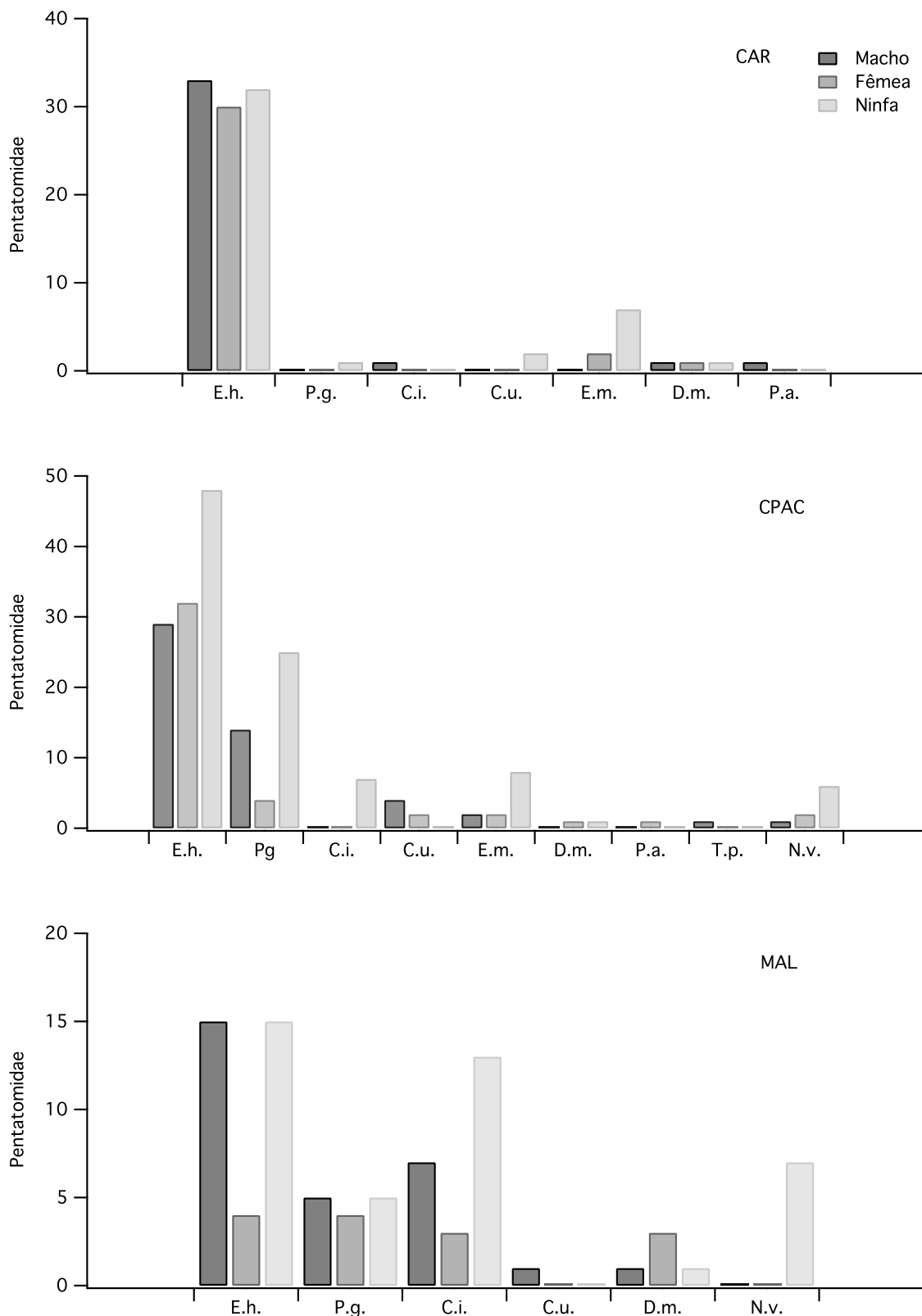


Figura 12. Abundância total de Pentatomidae registrados com o pano de batida ao longo de \cong nove semanas em cultura de soja, de acordo com o sexo e estágio de desenvolvimento, na unidade experimental CAR-Fazenda Seu Carlos, CPAC e MAL-Fazenda Malunga. Legenda: E.h.= *Euschistus heros*, P.g.= *Piezodorus guildinii*, C.i.= *Chinavia impicticornis*, C.u.= *Chinavia ubica*, E.m.= *Edessa meditabunda*, D.m.= *Dichelops melacanthus*, P.a.= *Proxys albopunctulatus*, T.p.= *Thyanta perditor*, N.v.= *Nezara viridula*.

Experimento em parcelas de menor escala

As curvas de respostas principais (PRCs) indicaram ausência de efeito do tratamento com (*E*)-2-hexenal na variação temporal da abundância de Scelionidae combinados com parasitóides de outras famílias presentes nas gaiolas ($F_{7,28}=0,88$; $p=0,62$, RDA1=1%), amostrados com armadilhas adesivas (Fig. 13). Os parasitóides mais frequentes nas gaiolas foram os scelionídeos, em detrimento de parasitóides de outras famílias que mostraram coeficientes de pouco peso.

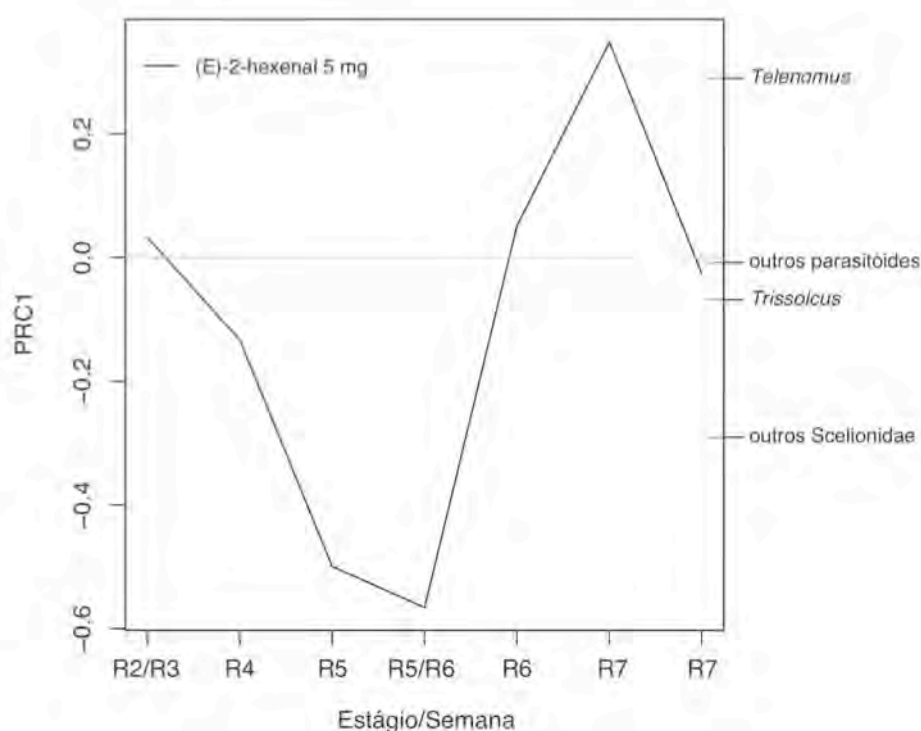


Figura 13. Curva de Respostas Principais da variação temporal da abundância de parasitóides adultos entre tratamento (5 mg de (*E*)-2-hexenal) em função de controle (n-pentano), na unidade experimental de menor escala (Scelionidae e outros parasitóides).

Não houve efeito do tratamento com (*E*)-2-hexenal sobre o número de parasitóides Scelionidae capturados com armadilha adesiva (Fig. 14) ($F_{1,14}=0,68$; $p=0,61$), o efeito do tempo foi significativo ($F_{6,14}=3,39$; $p=0,03$) e não houve efeito da interação entre tratamento e tempo ($F_{6,14}=0,37$; $p=0,89$). Não houve efeito do tratamento com (*E*)-2-hexenal sobre o número de percevejos registrados por pano de batida (Fig. 15) ($F_{1,14}=4,17$; $p=0,06$), o efeito do tempo foi

significativo ($F_{6,14}=4,13$; $p=0,01$) e não houve efeito da interação entre tratamento e tempo ($F_{6,14}=0,96$; $p=0,48$).

Dentre as 126 cartelas de ovos sentinela dispostas no campo, 53 (42%), sofreram perda de ovos devido à ação da chuva, predação dos ovos (e.g., formigas, besouros e percevejos) e predação da cartela junto ao filó (e.g., ortópteros), portanto, não foram consideradas na análise. Os ovos sentinela recuperados foram parasitados principalmente por *Telenomus podisi* e, esporadicamente, por *Trissolcus teretis*. Não houve influência da aplicação de (*E*)-2-hexenal sobre a ocorrência ($\chi^2_{[1]}=3,82$; $p=0,051$) ou intensidade de parasitismo ($F_{1,4}=3,08$; $p=0,15$) nas gaiolas.

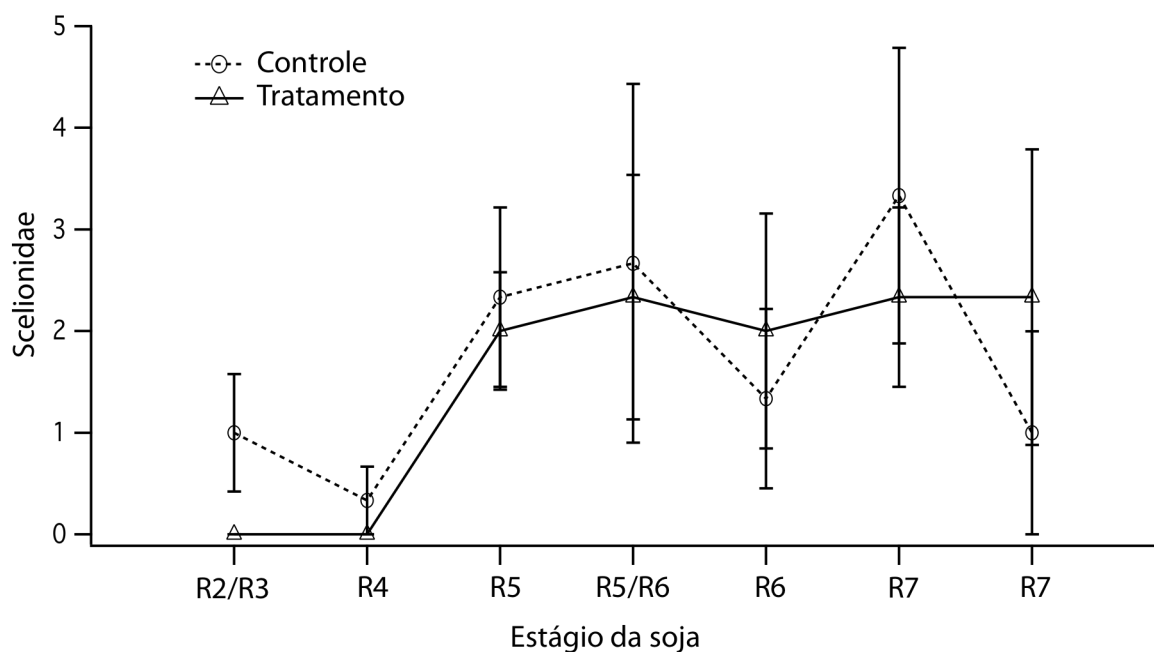


Figura 14. Variação temporal do número médio (\pm EP) de Scelionidae capturados com armadilha adesiva amarela em cultura de soja, de acordo com o tratamento (tratamento - 5 mg de (*E*)-2-hexenal, controle - linha pontilhada: n-pentano), no experimento de menor escala com infestação inicial de percevejos controlada.

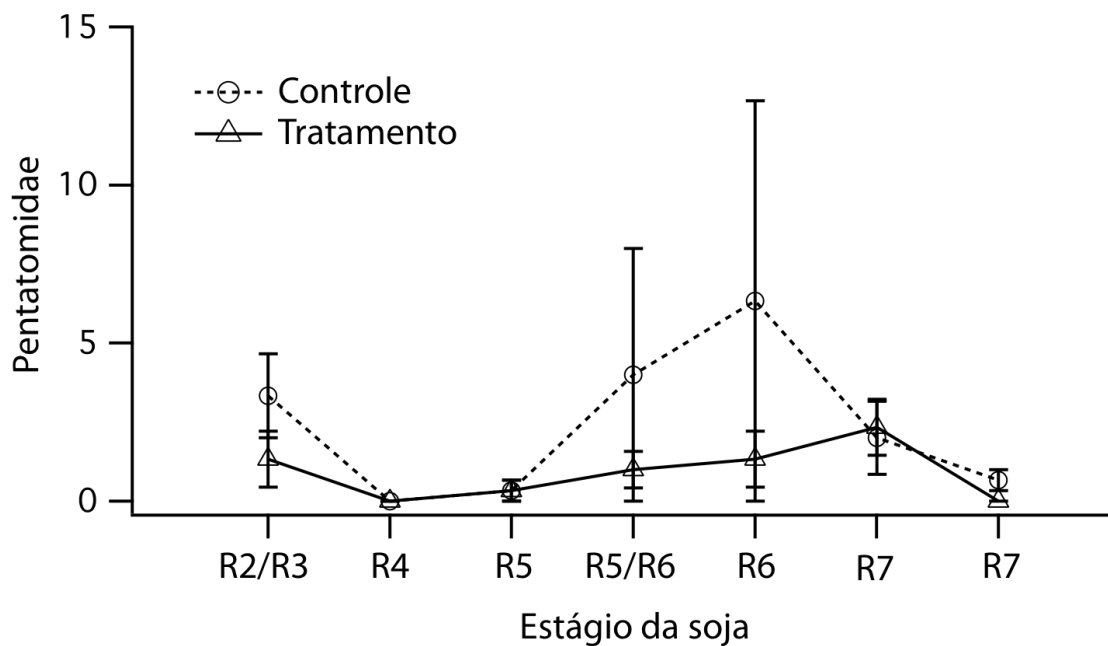


Figura 15. Variação temporal do número médio (\pm EP) de Pentatomidae registrados por semana com pano de batida em cultura de soja, de acordo com o tratamento (tratamento - 5 mg de (*E*)-2-hexenal, controle - linha pontilhada: n-pentano), no experimento de menor escala com infestação inicial de percevejos controlada.

DISCUSSÃO

A ausência de efeito dos tratamentos com (*E*)-2-hexenal sobre a trajetória temporal da comunidade de parasitóides em relação ao controle, mostrada nas PRCs dos experimentos em ambas as escalas (Figs. 9 e 13), indica a falta de padrão na variação da abundância desses insetos ao longo do tempo, tanto para scelionídeos, quanto para esses em conjunto com outros parasitóides amostrados. Isso aparentemente resultou do longo período de amostragem, onde houve variações muito amplas da abundância de parasitóides em cada tratamento e data de amostragem. As respostas das populações de parasitóides podem estar refletindo uma variação combinada da demografia e do recrutamento ao longo do tempo. Estudo prévio sobre a influência que (*E*)-2-hexenal exerce nos índices de parasitismo de ovos de percevejos, com amostragens conduzidas somente durante a primeira semana após a aplicação do composto, no estágio de florescimento da soja (R2), mostrou que os parasitóides preferem áreas tratadas, no entanto a variável tempo não foi considerada (PERES 2004). Dentre os parasitóides amostrados, os do gênero *Telenomus* tiveram sempre maior influência sobre os escores da ordenação.

Considerando apenas a abundância dos parasitóides Scelionidae, o efeito cairomonal de (*E*)-2-hexenal foi constatado na área CPAC (Fig. 10), que possui um histórico antigo como área de cultivo e não recebeu aplicação de agrotóxicos durante a condução do experimento. Percebe-se um incremento na abundância de parasitóides adultos em parcelas tratadas, principalmente para a menor dosagem do composto aplicado, e essa é a tendência observada nos gráficos, apesar da ausência de diferença significativa entre as parcelas controle e tratamento nas áreas MAL e CAR (Fig. 10). De maneira geral, o efeito cairomonal foi mais evidente nos estágios finais da cultura, que representam o início do enchimento dos grãos (R5) até a maturidade fisiológica (R7), ponto em que os grãos se desligam da planta mãe e iniciam o processo de perda de água (EMBRAPA 2008). Esses estágios são os mais

propensos ao ataque de percevejos (Fig. 11) e coincidem também com as maiores densidades de sua população, devido à disponibilidade do recurso preferencial (grãos de soja) compartilhado por essa guilda de insetos. Como consequência, a abundância de scelionídeos parasitóides de ovos de percevejos também aumenta nesse período (CORRÊA-FERREIRA e MOSCARDI 1996). Durante essa etapa de desenvolvimento da cultura, o aumento na densidade de parasitóides atraídos pelos tratamentos com (*E*)-2-hexenal resulta em aumento na probabilidade de parasitismo em ovos e pode acarretar em controle da natalidade de percevejos.

O percevejo *Euschistus heros* ocorre em maiores densidades nas áreas de cultivo de soja do Distrito Federal (PIRES et al 2006) e isso também foi evidenciado no presente trabalho (Fig. 12). O parasitóide *Telenomus podisi* utiliza o feromônio sexual e outros semioquímicos de seu hospedeiro preferencial, *Euschistus heros*, como pista para localização dos ovos (SUJII et al 2002, LAUMANN et al 2009). A presença quase exclusiva de *Telenomus podisi* como representante dos Scelionidae tanto nas armadilhas adesivas, quanto nos ovos parasitados recuperados, pode ser mais uma evidência da relação de preferência desse parasitóide por seu hospedeiro.

Um ajuste da dose ideal do cairomônio (*E*)-2-hexenal, além de um mecanismo mais adequado de liberação do composto precisa ser investigado com maior clareza em experimentos que levem em consideração as diferenças nas condições do ambiente (temperatura, umidade relativa do ar, precipitação) como também o raio de ação do volátil.

A ausência de diferença na ocorrência e intensidade de parasitismo entre tratamento e controle, em contraposição ao aumento da densidade de scelionídeos em áreas tratadas, pode estar associada à dificuldade do parasitóide na localização dos ovos. Os voláteis de folhas verdes são pistas de estímulo olfativo em longas distâncias (VINSON 1998). Voláteis específicos dos ovos possivelmente são responsáveis pela orientação do parasitóide até o

hospedeiro para a efetivação do parasitismo (FATOUROS et al 2008); trabalhos posteriores em campo com a aplicação de (*E*)-2-hexenal em conjunto com semioquímicos de ovos de percevejos podem ser realizados para compreender melhor esse resultado e talvez aumentar os índices de parasitismo.

A perda de ovos de cartelas de ovos sentinela foi elevada devido às chuvas, predação e principalmente à mastigação das cartelas de papel por ortópteros. Sugere-se a troca de cartolina de papel e do filó por material equivalente confeccionado em plástico ou nylon, ou a cobertura total da cartela de ovos sentinela em sacos de nylon para experimentos posteriores. Abrigos anti-umidade confeccionados não apenas dos fundos de garrafas PET, mas mais compridos, constituído também do corpo da garrafa, podem potencializar a proteção das cartelas contra a chuva em estudos posteriores. Outras variáveis como temperatura e precipitação devem ser consideradas, pois potencialmente afetam os resultados de experimentos em campo quando comparados a experimentos em laboratório, por não serem passíveis de controle.

A concentração ligeiramente maior (5 mg) usada nas gaiolas não gerou efeito de atração sobre os parasitóides (Fig. 14). Por se tratar de um composto volátil, é possível que as gaiolas não tenham sido distribuídas a uma distância suficiente entre elas, de forma que o tratamento aplicado em uma parcela não exercesse influência sobre as demais. As dosagens mais eficientes de (*E*)-2-hexenal precisam ser estabelecidas para melhorar seu efeito nas populações de parasitóides em campo. Como a dosagem mais baixa (4 mg) se mostrou mais eficiente na atração de parasitóides, é possível que concentrações de (*E*)-2-hexenal menores sejam melhores, e as dosagens mais altas tenham algum efeito de repelência, habituação, ou confundimento sobre os parasitóides de ovos. Para experimentos posteriores, é necessário testar se concentrações menores que 4 mg podem ser mais efetivas na atração de parasitóides e verificar o raio de ação do volátil.

Os resultados obtidos sugerem que o (*E*)-2-hexenal exerceu, de maneira geral, influência sobre os parasitóides de ovos atraindo-os para áreas tratadas e isso é equivalente ao relatado na literatura (PERES 2004, LAUMANN et al 2009), no entanto, não houve aumento do parasitismo em ovos e a população de hospedeiros não diferiu entre as áreas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALDRICH, J. R.; ROSI, M. C.; BIN, F. 1995. Behavioral correlates for minor volatile compounds from stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae). **Journal of Chemical Ecology**. 21: 1907-1920
- AUSTIN, A. D.; JOHNSON, N. F.; DOWTON, M. 2005. Systematic, evolution and biology of scelionid and platygastriid wasps. **Annual Review of Entomology**. 50: 553-582.
- BIN, F.; VINSON, S. B.; STRAND, M. R.; COLAZZA, S.; JONES JR., W. A. 1993. Source of an egg kairomone for *Trissolcus basal*, a parasitoid of *Nezara viridula*. **Physiological Entomology**. 18: 7-15.
- BORGES, M.; COSTA, M. L. M.; SUJII, E. R.; CAVALCANTI, M.; REDÍGOLO, G. F.; RESCK, T. S.; VILELA, E. F. 1999. Semiochemical and physical stimuli involved in host recognition by *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae) toward *Euchistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae). **Physiological Entomology**. 24: 227-233.
- COLAZZA, S.; SALERNO, G.; WAJNBERG, E. 1999. Volatile contact chemicals released by *Nezara viridula* (Heteroptera: Pentatomidae) have a kairomonal effect on the egg parasitoid *Trissolcus basal* (Hymenoptera: Scelionidae). **Biological Control**. 16: 310-317.
- COLAZZA, S.; MCELFRISH, J. S.; MILLAR, J. G. 2004. Identification of volatile synomones, induced by *Nezara viridula* feeding and oviposition on bean spp., that

- attract the egg parasitoid *Trissolcus basalus*. **Journal of Chemical Ecology**. 30: 945-964.
- CONTI, E.; SALERNO, G.; BIN, F.; WILLIAMS, H. J.; VINSON, S. B. 2003. Chemical cues from *Murgantia histrionica* eliciting host location and recognition in the egg parasitoid *Trissolcus brochymenae*. **Journal of Chemical Ecology**. 29: 115-130.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. 1995. Seasonal occurrence and host spectrum of egg parasitoids associated with soybean stink bugs. **Biological Control**. 5: 196-202.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. 1996. Biological control of soybean stink bugs by inoculative releases of *Trissolcus basalus*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**. 79: 1-7.
- EMBRAPA. 2008. **Tecnologias de produção de soja – região central do Brasil – 2009 e 2010**. - Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados: Embrapa Agropecuária Oeste, 262 pp.
- FATOUROS, N. E.; DICKE, M.; MUMM, R.; MEINERS, T.; HILKER M. 2008. Foraging behavior of egg parasitoids exploiting chemical information. **Behavioral Ecology**. 19: 677-689.
- LAUMANN, R. A.; AQUINO, M. F. S.; MORAES, M. C. B.; PAREJA, M.; BORGES, M. 2009. Response of the egg parasitoids *Trissolcus basalus* and *Telenomus podisi* to compounds from defensive secretions of stink bugs. **Journal of Chemical Ecology**. 35: 8-19.
- LEPS, J.; SMILAUER, P. 1999. **Multivariate Analysis of Ecological Data using CANOCO**. Cambridge University Press, New York. 284 pp.
- LEWIS, W. J.; MARTIN, W. R. 1990. Semiochemicals for use with parasitoids: status and future. **Journal of Chemical Ecology**. 16: 306-309.

- MEDEIROS, M. A.; LOIÁCONO, M.; BORGES, M.; SCHIMIDT, F. G. V. 1998. Incidência natural de parasitóides em ovos de percevejos encontrados na soja (Hemiptera: Pentatomidae) no Distrito Federal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 33: 1431-1435.
- OKSANEN, J.; KINDT, R.; LEGENDRE, P.; O'HARA, B.; SIMPSON, G. L.; SOLYMOS, P.; STEVENS, M. H. H.; WAGNER, H. 2009. **vegan: Community Ecology Package**. R package version 1.15-4.
- PANIZZI, A. R. 1997. Wild hosts of pentatomids: ecological significance and role in their pest status crops. **Annual Review of Entomology**. 42: 99-122.
- PERES, W. A. A. 2004. **Aspectos bioecológicos e táticas de manejo dos percevejos *Nezara viridula* (Linnaeus), *Euschistus heros* (Fabricius) e *Piezodorus guildinii* (Westwood) (Hemiptera: Pentatomidae) em cultivo orgânico de soja**. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Paraná. 160 pp.
- PIRES, C. S. S.; SUJII, E. R.; BORGES, M.; SCHMIDT, F. G. V.; ZARBIN, P.H.G.; AZEVEDO, V. C. R.; LACERDA, A. L.; PANTALEÃO, D. 2001. **Ação cairomonal de componentes do feromônio de alarme do percevejo verde pequeno da soja, *Piezodorus guildinii*, sobre o parasitóide de ovos *Telenomus podisi***. Brasília: Embrapa Cenargen, Boletim de Pesquisa, n. 19. 22 pp.
- PIRES, C. S. S.; SUJII, E. R.; SCHMIDT, F. G. V.; ZARBIN, P. H. G.; ALMEIDA, J. R. M.; BORGES, M. 2006. Potencial de uso de armadilhas iscadas com o feromônio sexual do percevejo marrom, *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae), para o monitoramento populacional de percevejos praga da soja. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecología**. 7: 70-77.
- POWELL, W. A.; PICKETT, J. A. 2003. Manipulation of parasitoids for aphid pest management: progress and prospects. **Pest Management Science**. 59: 149-155.

- R DEVELOPMENT CORE TEAM. 2009. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. Vienna, Austria, R Foundation for Statistical Computing.
- SUJII, E. R.; COSTA, M. L. M.; PIRES, C. S. S.; COLAZZA, S.; BORGES, M. 2002. Inter and intra-guild interactions in egg parasitoid species of the soybean stink bug complex. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 37: 1541-1549.
- SHEPARD, M.; CARNER, G. R.; TURNIPSEED, S. G. 1974. A comparison of three sampling methods for arthropods in soybean. **Environmental Entomology**. 3: 227-232.
- TABACHNICK, B.G.; FIDELL, L.S. 2001. **Using Multivariate Statistics**. Allyn & Bacon, Needham Heights, New York. 966 pp.
- VET, L. E. M.; DICKE, M. 1992. Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. **Annual Review of Entomology**. 37: 141-172.
- VINSON, S. B. 1998. The general host selection behaviour of parasitoid Hymenoptera and a comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. **Biological Control**. 11: 79-96.
- ZUUR, A. F.; IENO, E. N.; WALKER, N. J.; SAVELIEV, A. A.; SMITH, G. M. 2009. **Mixed Effect Models and extensions in ecology with R**. Springer, New York. 574 pp.

CAPÍTULO 2

AÇÃO DO FITORMÔNIO *CIS*-JASMONE SOBRE PARASITÓIDES DE OVOS
(HYMENOPTERA: SCELIONIDAE) E SUA APLICABILIDADE NO
CONTROLE BIOLÓGICO DE PERCEVEJOS-PRAGA (HETEROPTERA:
PENTATOMIDAE) DA SOJA

RESUMO

O comportamento de forrageamento de parasitóides pode ser influenciado por compostos orgânicos voláteis (VOCs) liberados pelas plantas. A soja, *Glycine max* (Fabaceae), quando danificada pela herbivoria de percevejos (Hemiptera: Pentatomidae), emite uma mistura de VOCs de defesa que atrai, em condições de laboratório, os parasitóides de ovos de percevejos, *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae) para a planta. O metabólito secundário *cis*-jasmone possui ação hormonal em diferentes plantas, ativando as vias metabólicas que produzem VOCs. Estudos em laboratório demonstraram para o sistema tri-trófico soja-percevejo-parasitóide de ovos, que os danos por herbivoria ou aplicações de *cis*-jasmone induzem respostas semelhantes no perfil de voláteis liberados pelas plantas, e a mistura liberada possui poder de atração sobre os parasitóides de ovos de percevejos da família Scelionidae. No presente trabalho, foi testado em condições de campo o efeito de voláteis de planta induzidos pela aplicação de *cis*-jasmone sobre a comunidade de parasitóides, especificamente em parasitóides de ovos de percevejos da família Scelionidae. Em duas áreas de cultivo de soja foram dispostas ao acaso parcelas de 2 m², com plantas induzidas por *cis*-jasmone (tratamento, n=5) ou não induzidas (controle, n=5). Os parasitóides foram amostrados semanalmente com armadilhas adesivas amarelas (n=3/parcela) e os índices de parasitismo monitorados através de ovos sentinela de *Euschistus heros* (n=150/parcela). As populações de percevejos foram monitoradas pela contagem semanal do total de insetos em cada parcela amostrados com pano de batida. As análises estatísticas incluíram PRC, GLM, χ^2 , e ANOVA de medidas repetidas. A estrutura da comunidade em termos de riqueza foi similar, em geral, entre parcelas tratamento e controle e a equidade foi maior em parcelas tratadas. O número total de Scelionidae, principalmente *Telenomus* spp. e *Trissolcus* spp. foi significativamente maior em parcelas tratadas. Não houve diferença significativa na ocorrência e intensidade de parasitismo e no número de percevejos encontrados nas parcelas. A indução da liberação de VOCs em soja pode ser usada para atrair parasitóides scelionídeos e incrementar o controle biológico através do aumento da probabilidade de encontro de ovos devido ao aumento da densidade de parasitóides em áreas tratadas.

ABSTRACT

The foraging behavior of parasitoids may be influenced by volatile organic compounds (VOCs) released by plants. The soybean, *Glycine max* (Fabaceae), when damaged by stink bugs herbivory (Hemiptera: Pentatomidae), emits a mixture of VOCs that attract, in laboratory conditions, the egg parasitoids of stink bugs, *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae) to the plant. The secondary metabolite *cis*-jasmone has hormonal actions in different plants, activating the metabolic pathway that produces VOCs. Laboratory studies have shown for the tri-trophic system soybean-stink bug-egg parasitoids, that the damage by herbivory or application of phytohormone induce similar responses in the profile of volatiles released by plants, and the mixture has effects of attraction to stink bug's egg parasitoids of the family Scelionidae. In this work, was tested in field conditions the effect of induced plant volatiles on parasitoid community, specifically in egg parasitoids of stink bugs of the family Scelionidae. In two soybean crop areas, plots of 2 m² were distributed randomly, with plants induced by *cis*-jasmone (treatment, n = 5) or not induced (control, n = 5) and in the field. The parasitoids were sampled weekly using yellow sticky traps (n = 3/plot) and parasitism monitored through sentinel eggs of *Euschistus heros* (n = 150/plot). The populations of stink bugs were monitored weekly by counting the total number of insects in each plot sampled with shake-cloth. Statistical analysis included PRC, GLM, χ^2 , and repeated measures ANOVA. The community structure in terms of richness was similar in general between treatment and control plots and equity was higher in treated plots. The total number of Scelionidae, mainly *Telenomus* spp. and *Trissolcus* spp. was significantly higher in treated plots. No significant difference in the occurrence and intensity of parasitism and in the number of stink bugs were found between plots. The induction of the release of VOCs in soybean can be used to attract Scelionidae parasitoids and enhance biological control by increasing the chances of finding egg by increasing the parasitoid's density in treated areas.

INTRODUÇÃO

Os voláteis induzidos por herbivoria, conhecidos por mediar interações ecológicas entre plantas e insetos, são semioquímicos de defesa das plantas, sintetizados no tecido vegetal e emitidos como uma mistura de compostos em resposta ao ataque e oviposição de herbívoros (DUDAREVA et al 2006, HILKER e MEINERS 2006). Além de repelir os insetos herbívoros, os compostos voláteis têm efeito indireto sobre os inimigos naturais desses insetos, pois fornecem informações para a localização dos hospedeiros e presas, protegendo a planta de ataques subsequentes (VET e DICKE 1992, DUDAREVA et al 2006).

No decorrer do tempo evolutivo, as plantas desenvolveram inúmeros mecanismos de resposta contra condições desfavoráveis, entre eles a liberação de um grande número de metabólitos secundários de defesa contra herbívoros e patógenos, que têm potencial para recrutar o terceiro nível trófico. O ácido jasmônico, um hormônio vegetal que desencadeia mecanismos de defesa e regula o processo de liberação de voláteis induzidos pela herbivoria, quando aplicado sobre as folhas, provoca a emissão de voláteis atraentes aos parasitóides (DE MORAES et al 2000, HEIL 2004, PICKETT et al 2007). Alguns estudos mostraram que a aplicação do metabólito secundário *cis*-jasmone, derivado da rota de indução do ácido jasmônico (octanodecanóide) em plantas (BIRKETT et al 2000), gera resposta de redução na população de pulgões-praga em cultura de trigo (BRUCE et al 2003) e também tem sido relatado, em estudos de laboratório, como indutor de respostas de defesa química em soja semelhantes àquelas de injúrias causadas por percevejos, que resultam em atração do parasitóide de ovos *Telenomus podisi* (MORAES 2009).

A resposta de repelência do herbívoro e de atração do inimigo natural depende fortemente do nível de indução da liberação de voláteis nas plantas e da habilidade dos insetos em discriminar os diferentes odores liberados (DUDAREVA et al 2006, HEIL 2008). A composição química dos voláteis emitidos por plantas pode variar quantitativa e

qualitativamente, em função do estágio de desenvolvimento da planta e da espécie de herbívoro (TAKABAIASHI et al 1995, DE MORAES et al 1998), da variedade da planta (TAKABAIASHI et al 1991, HEIL 2008) e até do tipo de dano alimentar causado nos tecidos da planta ou pela oviposição (HILKER e MEINERS 2006, HEIL 2008).

A cultura da soja é atacada por vários herbívoros e os percevejos (Hemiptera: Pentatomidae) estão entre os mais prejudiciais (PANIZZI 1997). O controle biológico desses herbívoros por parasitóides de ovos é uma alternativa que reduz o uso de inseticidas sintéticos e contribui para a preservação dos recursos naturais, sendo uma importante ferramenta para a agricultura sustentável (CORRÊA-FERREIRA e MOSCARDI 1996). Dessa forma, a indução da liberação de voláteis de defesa em plantas de soja pode ser utilizada para atrair parasitóides que ocorrem naturalmente ou que são liberados em massa para o manejo nas áreas de soja. No entanto, estudos aplicados se fazem necessários para compreender como esses voláteis atuam sobre a abundância e distribuição de inimigos naturais. A obtenção desses conhecimentos será útil para estabelecer bases científicas para o manejo de populações de insetos parasitóides.

No presente estudo, foram avaliados, em condições de campo, os efeitos da aplicação do indutor de defesas *cis*-jasmone em plantas de soja sobre a distribuição, abundância e estruturação da comunidade de parasitóides e, especificamente, sobre Scelionidae parasitóides de ovos de percevejos. Também foram avaliados os efeitos dessa aplicação nas relações entre hospedeiro (Pentatomidae) e parasitóides (Scelionidae). Espera-se que ocorra aumento na densidade de parasitóides Scelionidae em parcelas tratadas e, conseqüentemente, que o parasitismo de ovos de percevejos seja maior nessas parcelas, controlando o nível de percevejos hospedeiros devido ao efeito de atração de parasitóides, agentes de controle biológico.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

Para estudar os efeitos de compostos voláteis de soja, induzidos por *cis*-jasmone, sobre a comunidade de parasitóides e, especificamente sobre Scelionidae parasitóides de ovos de percevejos, foram realizados experimentos de campo em dez parcelas de cultivo de soja (BR-16) em cada uma de duas unidades experimentais na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Distrito Federal (15°43'50" S e 47°53'59" W). A primeira unidade experimental, denominada PCB (Fig. 1), é uma área destinada a experimentos, próxima a culturas de algodão e girassol. A área total na qual as parcelas foram montadas possuía 0,55 ha e nela foi estabelecida uma cultura de soja (MSOY 6101). A segunda unidade experimental, denominada Vitrine (Fig. 1), é uma área de 0,71 ha que, durante três meses no ano, é destinada à mostra de plantas cultivadas para a difusão do conhecimento ao público. No restante do ano, é plantada crotalária ou outras culturas de cobertura, para melhorar a fertilidade do solo. Nas parcelas de ambas as áreas, foi plantada soja BR-16 entre novembro de 2008 e março de 2009. Não foi realizada nenhuma aplicação de agrotóxicos e, antes do plantio, o solo foi corrigido com aplicação de calcário e adubação. Antes do plantio, as sementes foram inoculadas com bactéria fixadora de nitrogênio (*Bradyrhizobium* sp.) à razão de 1 kg de inoculante turfoso para 50 kg de sementes.

Desenho experimental

Em cada área, os experimentos foram conduzidos no início da fase reprodutiva das plantas em dez parcelas de 2 m² de soja, distribuídas aleatoriamente no campo, sendo cinco parcelas (tratamento) com plantas induzidas por *cis*-jasmone, manualmente pulverizadas com 6 ml de uma solução de 250 mg de *cis*-jasmone (TCI Japan) e 100 mg de dispersante Tween 20 diluídos em 1 l de água, e cinco parcelas (controle) com plantas não induzidas,

pulverizadas apenas com 6 ml de uma solução de 0,1 g de dispersante Tween 20 diluído em 1 l de água. A pulverização foi feita no início do estágio reprodutivo, quando a cultura é colonizada por percevejos (PANIZZI 1997). As parcelas foram mantidas até o final do ciclo da soja (maturidade fisiológica), quando ocorre migração dos percevejos para áreas de refúgio ou áreas com hospedeiros alternativos.

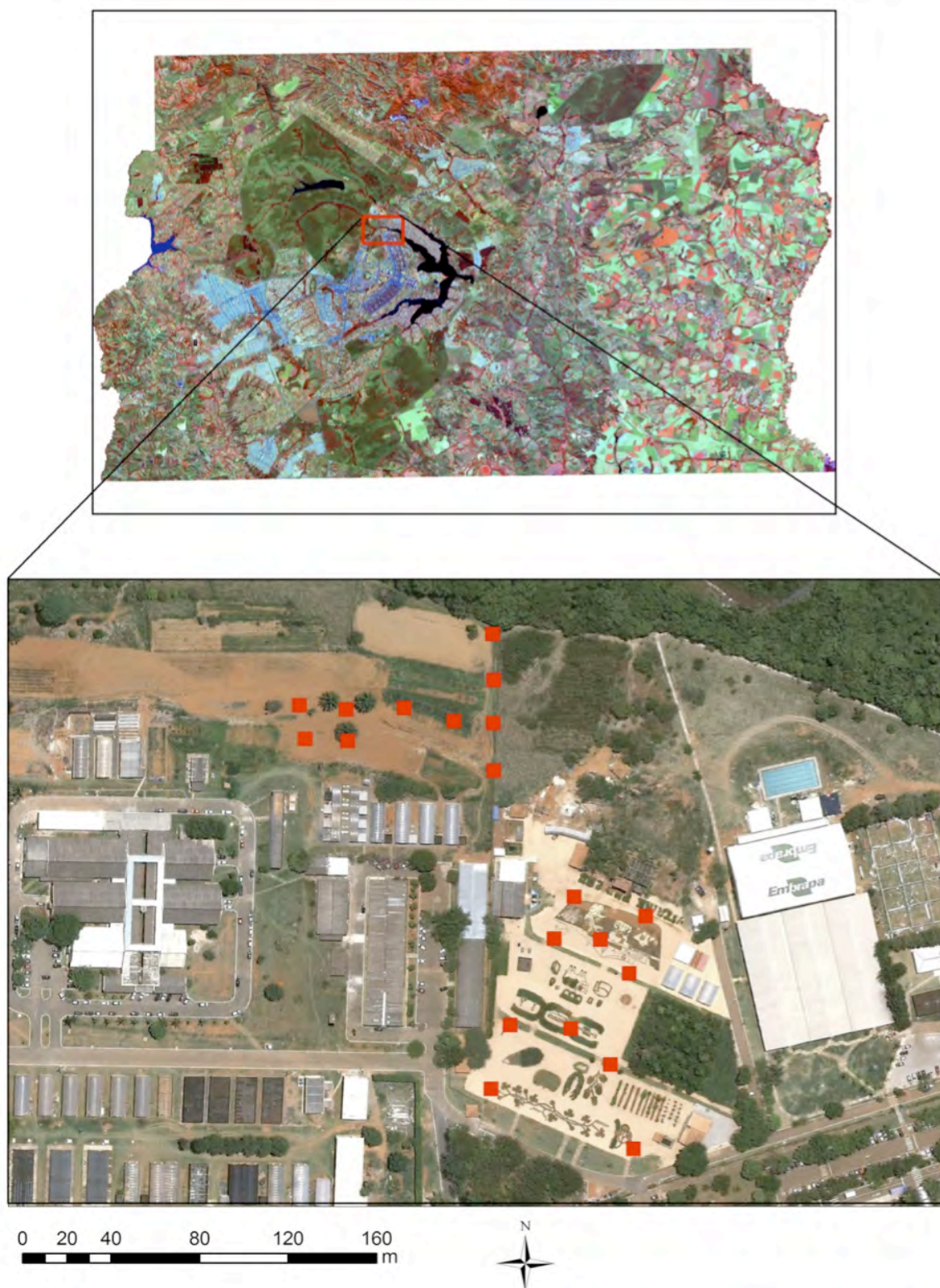


Figura 1. Localização das parcelas (em vermelho) do experimento com *cis*-jasmone nas áreas PCB (acima) e Vitrine (abaixo), Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia - Brasília.

Amostragem de parasitóides de ovos e percevejos-praga

Parasitóides de ovos de percevejos foram amostrados através de armadilhas adesivas Biotrap[®] (BioControle Métodos de Controle de Pragas Ltda.) de 15,0 x 12,5 cm, colocadas a \cong 1 m de altura em relação ao solo apoiadas em estacas de madeira e presas por arame. As armadilhas foram distribuídas em três pontos dispostos ao longo de uma das diagonais de cada parcela, sendo um no centro e um em cada extremidade (Fig 2). A superfície adesiva foi exposta no campo e se manteve em atividade por um período de três dias, após o qual as armadilhas foram removidas, envolvidas em filme de PVC e armazenadas em geladeira para posterior identificação dos insetos. A substituição foi realizada quatro dias após a remoção e ocorreu semanalmente, até o fim do ciclo da cultura. Os parasitóides da família Scelionidae foram identificados até o menor nível taxonômico possível, seguindo a chave dicotômica desenvolvida pela Dra. Marta Loiácono (Museu de Ciências Naturais, La Plata, Argentina) e quantificados; outros parasitóides capturados foram identificados seguindo Gauld e Bolton (1988) e Goulet e Huber (1993).

A ocorrência (ausência ou presença) e a intensidade (n° ovos parasitados/ n° ovos remanescentes nas cartelas) de parasitismo foram registradas semanalmente em cada parcela pela distribuição aleatória de três pedaços de 3 cm x 3 cm de cartolina, contendo 50 ovos sentinela colados com goma arábica. Os ovos do percevejo marrom, *Euschistus heros*, o mais abundante em culturas de soja do Distrito Federal, provenientes de uma colônia mantida na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, foram cobertos com filó, para evitar a predação (Fig. 2). O filó, com malha de espessura milimétrica (\cong 2 mm), permitia a livre passagem dos parasitóides e dificultava o acesso aos ovos por predadores (*e.g.*, percevejos, formigas e besouros). Os ovos foram expostos no campo por três dias e depois transportados ao laboratório, acondicionados em potes de plástico com tampa, e mantidos em sala climatizada. O parasitismo foi constatado pela emergência de parasitóides ou pela dissecação

dos ovos e observação da presença de pupas e estágios imaturos, quando os parasitóides não completavam seu desenvolvimento (Fig. 2). Os ovos parasitados foram quantificados e os parasitóides adultos que emergiram foram identificados.

Para estimar a densidade de percevejos, cada parcela foi amostrada semanalmente com pano de batida (SHEPARD et al 1974) que consistiu em um retângulo de plástico flexível de cor branca, medindo 0,70 m x 0,70 m e preso nas laterais a cabos de madeira. O pano de batida é semelhante ao guarda chuva entomológico e foi utilizado para cobrir o solo entre as linhas de soja enquanto as plantas eram sacudidas vigorosamente sobre ele (Fig.2). Em cada parcela, foram efetuadas 4 batidas, suficientes para uma varredura completa, e os percevejos-praga amostrados foram identificados (espécie e estágio) no local de coleta e liberados. A abundância e riqueza de percevejos foram estimadas para cada semana da amostragem.

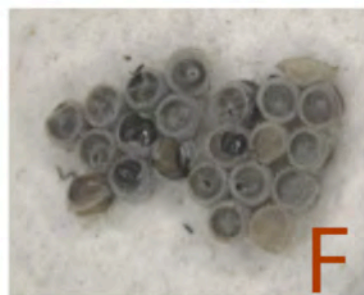
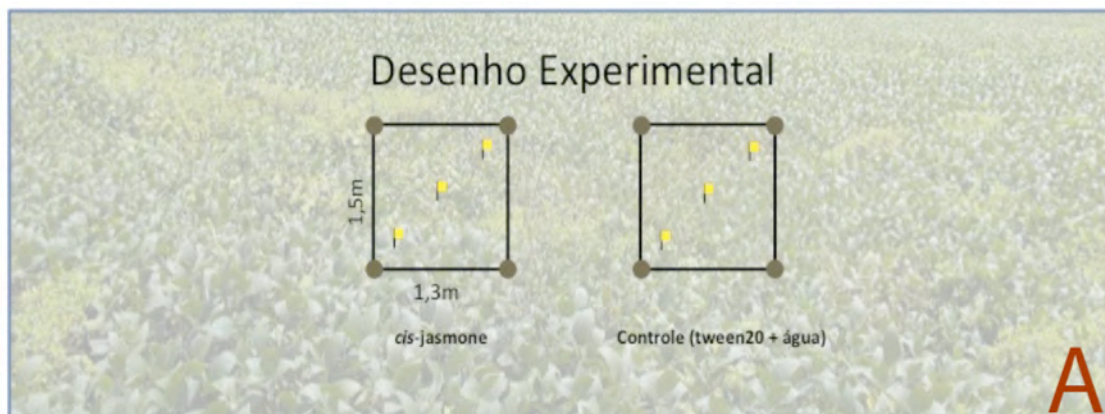


Figura 2. Esquema da distribuição das armadilhas adesivas nas parcelas e métodos de amostragem de insetos. A - Distribuição das armadilhas adesivas diagonalmente, B - Armadilha adesiva amarela, C - Ovos sentinelas, D - Pano de batida, E - *Telenomus podisi* parasitando ovos sentinelas de *Euschistus heros*, F - Ovos sentinelas de *Euschistus heros* parasitados por *Telenomus podisi*.

Análises estatísticas

Para testar o efeito do tratamento sobre a comunidade de parasitóides adultos amostrados com as armadilhas adesivas, foi empregado o método de curvas de respostas principais (*principal response curves* – PRC). O principal resultado desse método, que é baseado em uma análise de redundância (*redundancy analysis* – RDA) parcial, é uma curva representando a trajetória temporal da composição da comunidade para o tratamento experimental (LEPS e SMILAUER 2003). Essa curva é complementada por um diagrama unidimensional mostrando os escores de cada espécie no eixo da RDA correspondente. A significância do efeito do tratamento foi determinada através de 999 permutações de Monte Carlo. Foram feitas duas PRCs, uma para os gêneros de Scelionidae amostrados e outra para todas as famílias de parasitóides amostradas. Nas análises, foi empregado o logaritmo da média da abundância nas três armadilhas adesivas, de cada gênero ou família, por parcela e por semana. De um total de 270 armadilhas adesivas instaladas em cada uma das áreas Vitrine e PCB ao longo do experimento, foram extraviadas cinco e três armadilhas e diferentes datas, respectivamente. Para evitar a perda de informação nas análises que envolveram esses dados, as observações faltantes foram estimadas através do método de imputação múltipla (TABACHNICK e FIDELL 2001, QUINN e KEOUGH 2002).

Para testar o efeito do tratamento sobre a riqueza e abundância total dos indivíduos da família Scelionidae e demais famílias de parasitóides encontrados nas armadilhas adesivas, foi utilizado o teste de χ^2 . A significância dos testes foi determinada através de 1000 simulações de Monte Carlo. A riqueza de famílias de parasitóides nas parcelas tratamento e controle foi comparada através de análise de rarefação, com base em 1000 aleatorizações, utilizando o módulo Diversidade de Espécies do programa EcoSim (GOTELLI e ENTSMINGER 2004). A análise de rarefação gera uma distribuição empírica do número esperado de famílias em amostras “rarefeitas” de menor abundância, extraídas aleatoriamente

da comunidade de maior abundância. A expectativa e a variância da riqueza de famílias foram utilizados em testes Z (ZAR 1999) para testar a hipótese de ausência de diferença na riqueza das duas comunidades.

A diversidade é composta por dois elementos: riqueza, que representa o número de taxa em uma comunidade ou amostra, e equidade, uma medida de distribuição da abundância relativa de diferentes taxa (PEET 1974, OLSZEWSKI 2004). Como índice de equidade foi empregada a probabilidade de encontros interespecíficos (PIE) de Hurlbert (HURLBERT 1971), que é a probabilidade de dois indivíduos de uma comunidade, amostrados aleatoriamente, representarem duas espécies (nesse caso, famílias) diferentes (GOTELLI e GRAVES 1996, OLSZEWSKI 2004). Comparações pareadas entre a PIE de Hurlbert dos diferentes tratamentos também foram realizadas utilizando rarefação, baseadas em 1.000 amostras aleatórias com o programa EcoSim. Em seguida, foram utilizados testes Z (ZAR 1999) para testar a hipótese de diferença na equidade das duas comunidades.

O efeito do tratamento sobre a abundância de Scelionidae amostrados com armadilhas adesivas foi testado através de análise de variância de medidas repetidas (TABACHNICK e FIDELL 2001). Nessa análise foi empregado o total de parasitóides por tratamento e por semana.

Para testar o efeito do tratamento com *cis*-jasmone sobre o número de percevejos amostrados com o pano de batida, foi utilizada uma análise de variância de medidas repetidas (TABACHNICK e FIDELL 2001). Nessa análise, foi empregado o total de percevejos por parcela e por semana. Finalmente, o efeito do tratamento sobre a ocorrência (ausência ou presença) e a intensidade (n° ovos parasitados/ n° ovos remanescentes nas cartelas) de parasitismo em ovos sentinela por parcela foi determinado através do modelo linear generalizado (*generalized linear model* - GLM), especificando erros com distribuição binomial e de Poisson, respectivamente (ZUUR et al 2009).

Todas as análises estatísticas foram realizadas com o programa R 2.10.1 (R DEVELOPMENT CORE TEAM 2009). O pacote *vegan* (OKSANEN 2009) foi utilizado para as PRCs e as imputações múltiplas foram realizadas com o pacote *mice* (VAN BUUREN 2009). O nível de significância utilizado em todos os testes de hipóteses foi de 5%.

RESULTADOS

As curvas de respostas principais (PRCs) indicaram ausência de efeito do tratamento com *cis*-jasmone na variação temporal da abundância das famílias de parasitóides adultos (Vitrine: $F_{8,64}=1,02$; $p=0,44$; PCB: $F_{9,72}=1,10$; $p=0,30$) ou da abundância de gêneros de Scelionidae (Vitrine: $F_{8,64}=0,71$; $p=0,82$, RDA1=0,5%; PCB: $F_{9,72}=1,43$; $p=0,11$, RDA1=0,9%), amostrados com as armadilhas adesivas (Fig. 3).

As famílias mais abundantes de parasitóides em ambas as áreas, amostradas com as armadilhas adesivas, foram, em ordem decrescente, Encyrtidae, Pteromalidae, Mymaridae, Eulophidae, Eupelmidae, Aphelinidae e Trichogrammatidae (agrupados em Chalcidoidea), seguidas de outras menos abundantes incluindo Diapriidae, Bethyidae, Ceraphronidae, Figitidae, Dryinidae, Austrocynipidae, Platygasteridae, Proctropidae, Eucolidae e Chrysididae (Fig. 4). Parasitóides das famílias Evaniidae e Megaspilidae ocorreram exclusivamente na área PCB. A análise de rarefação indicou que, na área PCB, não houve diferença no número de famílias de parasitóides registradas em parcelas tratamento e controle (controle=tratamento: 14; $z=0,65$; $p=0,26$). Entretanto, na área Vitrine, o número de famílias de parasitóides em parcelas controle foi significativamente maior que em parcelas tratadas (controle: 14; tratamento: 12; $z=-3,015$; $p<0,01$). A heterogeneidade e equidade na distribuição de famílias de parasitóides em tratamento e controle se diferenciou entre parcelas em ambas as áreas (Vitrine: $z=9,92$, $p<0,001$; PCB: $z=-4,29$, $p<0,001$), sendo sempre maior em parcelas tratadas.

Nas duas áreas de estudo houve um efeito significativo do tratamento, independente da variação temporal, sobre a abundância total de parasitóides Scelionidae e das demais famílias amostrados com as armadilhas adesivas (Vitrine: $\chi^2=28,50$, $p=0,003$; PCB: $\chi^2=43,65$, $p<0,001$). Para identificar qual grupo de parasitóides mais influenciou esse resultado, foi feita uma análise dos resíduos de χ^2 . No área PCB, as famílias com maiores resíduos foram Ichneumonidae, cuja abundância nas parcelas submetidas ao tratamento com *cis*-jasmone foi menor do que o esperado ao acaso, e Scelionidae, cuja abundância nas parcelas submetidas ao tratamento com *cis*-jasmone foi maior do que o esperado ao acaso. O efeito do tratamento continuou significativo após a exclusão de Ichneumonidae ($\chi^2=28,42$; $p=0,006$) ou de Scelionidae ($\chi^2=28,03$; $p=0,005$), mas deixou de ser significativo após a exclusão das duas famílias ($\chi^2=14,26$; $p=0,36$), indicando que, em PCB, a abundância dessas duas famílias foi a principal diferença entre as parcelas controle e tratamento. Na área Vitrine, as famílias com maiores resíduos foram Scelionidae e Braconidae, cujas abundâncias nas parcelas submetidas ao tratamento com *cis*-jasmone foram maiores do que o esperado ao acaso. O efeito do tratamento continuou significativo após a exclusão de Braconidae ($\chi^2=22,68$, $p=0,03$), mas não de Scelionidae ($\chi^2=12,92$, $p=0,36$), indicando que, na Vitrine, a abundância de Scelionidae foi a principal diferença entre as parcelas controle e tratamento (Fig. 4).

O efeito do tratamento com *cis*-jasmone sobre o número de Scelionidae registrados nas armadilhas adesivas foi significativo em ambas as áreas (Vitrine: $F_{1,48}=9,23$; $p<0,01$; PCB: $F_{1,54}=10,8$; $p<0,01$) e o efeito do tempo (Vitrine: $F_{7,48}=2,02$; $p=0,07$; PCB: $F_{8,54}=2,29$; $p=0,03$) e da interação entre tratamento e tempo (Vitrine: $F_{7,48}=3,07$; $p<0,01$; PCB: $F_{8,54}=1,27$; $p=0,28$) foi significativo em uma das áreas (Fig. 5). Em ambas as áreas de estudo, não houve efeito do tratamento com *cis*-jasmone (Vitrine: $F_{1,54}=0,35$; $p=0,55$; PCB: $F_{1,54}=0,46$; $p=0,50$), do tempo (Vitrine: $F_{8,54}=1,05$; $p=0,41$; PCB: $F_{8,54}=0,15$; $p=0,99$) ou da

interação entre tratamento e tempo (Vitrine: $F_{8,54}=0,57$; $p=0,80$; PCB: $F_{8,54}=0,18$; $p=0,99$) sobre o número de percevejos registrado com o pano de batida (Fig. 6).

Dentre as 270 cartelas de ovos sentinela dispostas em cada área de estudo, 152 (56%, Vitrine) e 107 (40%, PCB) sofreram perda de ovos pela ação da chuva, predação dos ovos (*e.g.*, formigas, besouros e percevejos) ou mastigação da cartela junto ao filó (*e.g.*, ortópteros), e não foram consideradas na análise. Os ovos sentinela recuperados da área PCB foram parasitados exclusivamente por *Telenomus podisi*; já na área Vitrine, *T. podisi* foi o principal parasitóide, no entanto, os ovos também foram parasitados por *Trissolcus brochymenae* e *Tr. teretis*, além de um parasitóide eulofídeo não identificado (Fig. 5). Não houve influência da aplicação de *cis*-jasmone sobre a ocorrência de parasitismo (Vitrine: $\chi^2_{[1]}=0,26$; $p=0,61$; PCB: $\chi^2_{[1]}=0,16$; $p=0,69$) ou sobre a intensidade de parasitismo (Vitrine: $F_{1,8}=0,17$; $p=0,69$; PCB: $F_{1,8}=0,98$; $p=0,35$) em ambas as áreas.

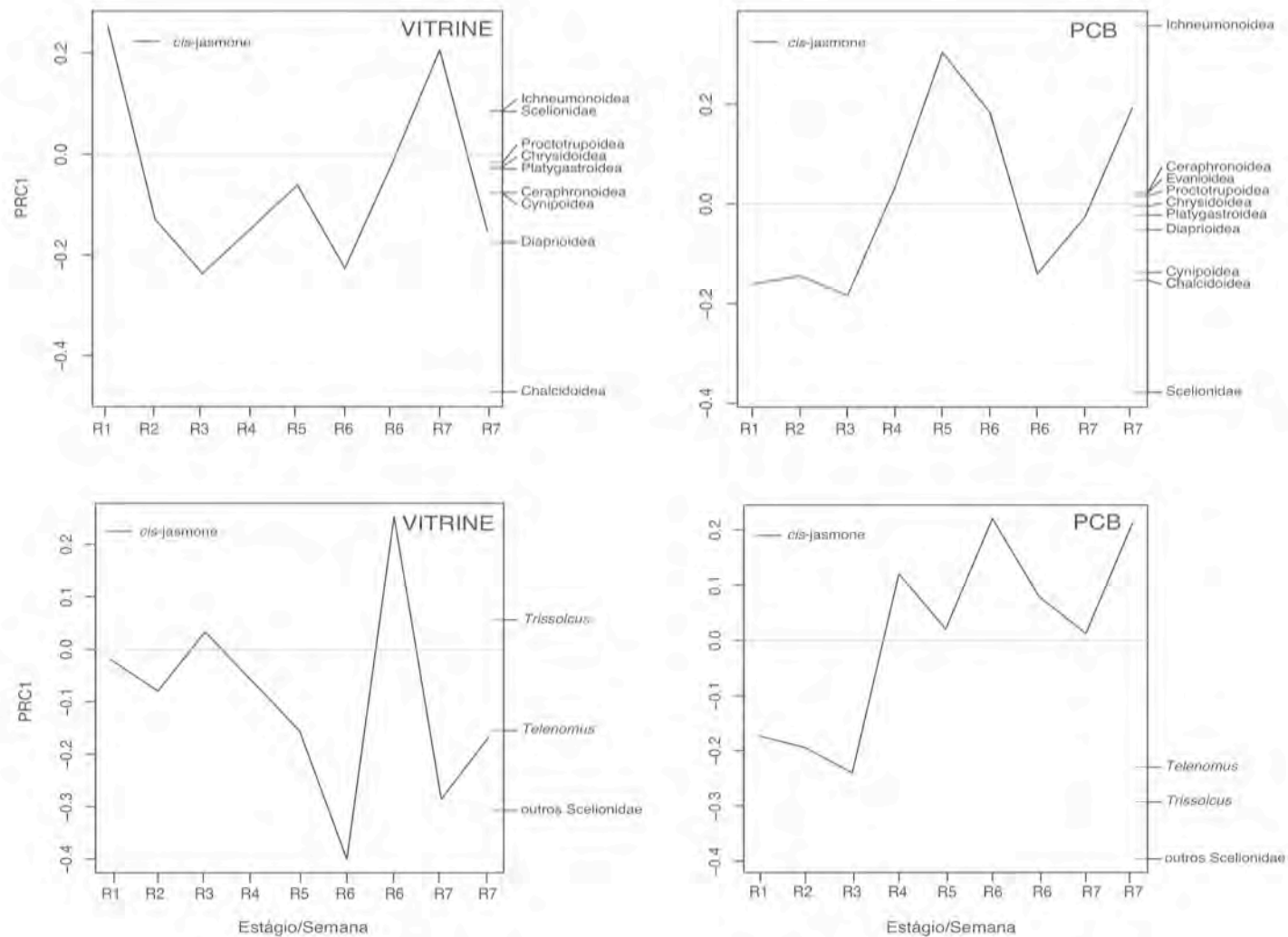


Figura 3. Curvas de Respostas Principais da variação temporal na abundância de parasitóides adultos em função do tratamento com *cis-jasmone* nas áreas Vitrine e PCB. Acima: 8 superfamílias e 1 família; 9 superfamílias e 1 família, respectivamente; abaixo: somente Scelionidae.

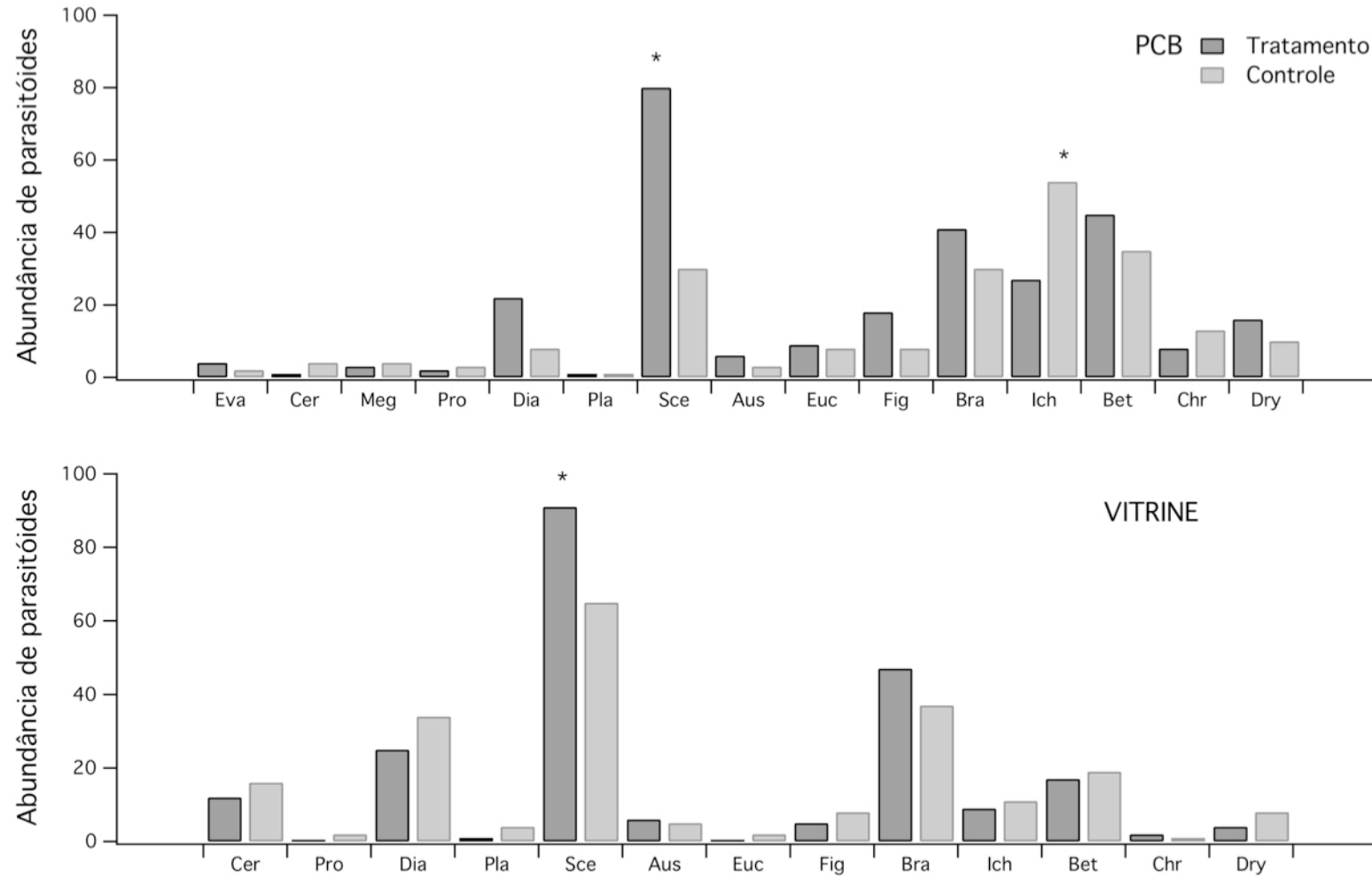


Figura 4. Abundância de parasitóides adultos capturados em cultura de soja, com armadilhas adesivas durante nove semanas em parcelas tratamento (*cis*-jasmone) e controle nas áreas PCB e Vitrine. Legenda: Aus=Austrocynipidae, Bet=Bethylidae, Bra=Braconidae, Cer=Ceraphronidae, Chr=Chrysididae, Dia=Diapriidae, Dry=Dryinidae, Euc=Eucoilidae, Eva=Evaniidae, Fig=Figitidae, Ich=Ichneumonidae, Meg=Megaspilidae, Pla=Platygastridae, Pro=Proctrupidae, Sce=Scelionidae. * indicam diferença significativa ($p \leq 0,05$).

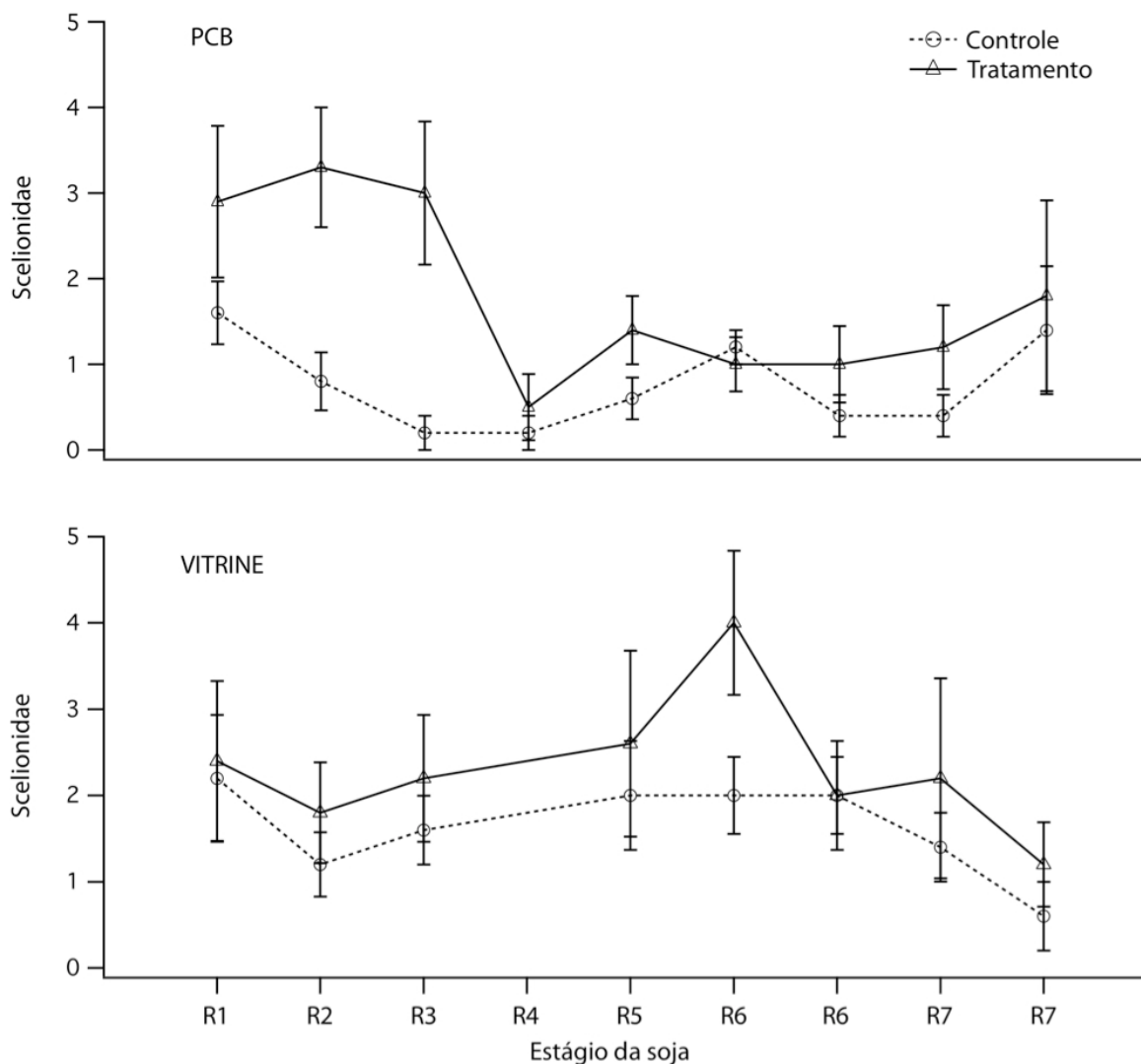


Figura 5. Variação temporal do número médio (\pm EP) de Scelionidae capturados semanalmente com armadilha adesiva amarela em cultura de soja, de acordo com o tipo de tratamento (controle - linha pontilhada: tween 20 + água; tratamento - linha contínua: *cis*-jasmone), nas áreas PCB e Vitrine.

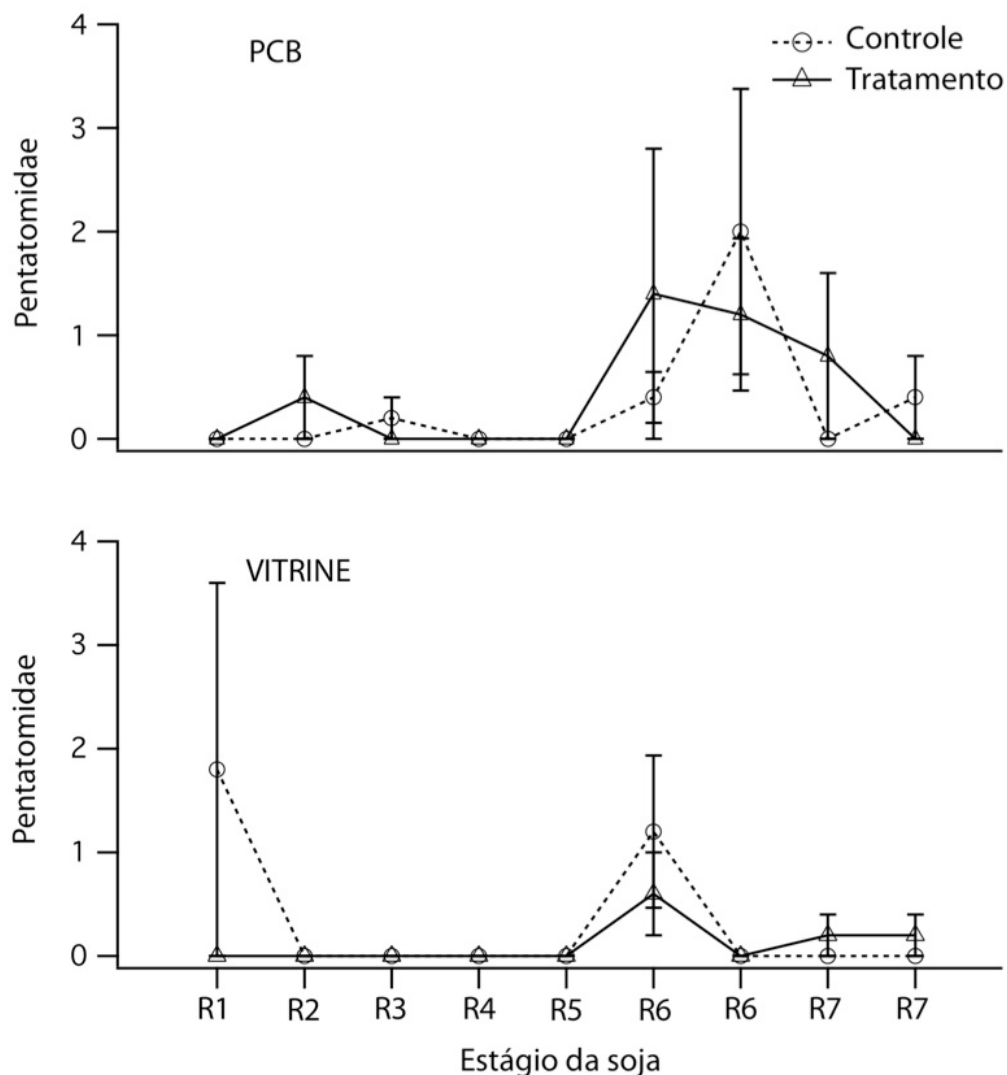


Figura 6. Variação temporal do número médio (\pm EP) de Pentatomidae registrados por semana com pano de batida em cultura de soja, de acordo com o tipo de tratamento (controle - linha pontilhada: tween 20 + água; tratamento - linha contínua: *cis*-jasmone), nas áreas PCB e Vitrine.

DISCUSSÃO

A ausência de efeito dos tratamentos com *cis*-jasmone sobre a trajetória temporal da comunidade de parasitóides em relação ao controle, mostrada nas PRCs (Fig. 3), indica a falta de padrão na variação da abundância desses insetos ao longo do tempo, tanto para scelionídeos, quanto para a comunidade de parasitóides amostrados. Isso aparentemente resultou do longo período de amostragem, onde houve variações muito amplas na abundância

de parasitóides em cada tratamento. As respostas das populações de parasitóides podem estar refletindo uma variação combinada da demografia e do recrutamento ao longo do tempo.

Dentre os parasitóides amostrados, os do gênero *Telenomus* tiveram sempre maior influência sobre os escores da ordenação.

A ausência de diferença no número de famílias de parasitóides registradas em parcelas tratamento e controle na área PCB, junto a pequena variação no número de famílias entre tratamentos na área Vitrine (duas famílias a mais no controle) pode estar relacionada à efeitos seletivos de *cis*-jasmone sobre os parasitóides de ovos da família Scelionidae, inimigos naturais dos percevejos, principal praga da soja. A heterogeneidade das famílias de parasitóides foi maior em parcelas tratadas e isso pode estar associado às diferenças nas abundâncias de famílias de parasitóides nessas parcelas (Fig. 4).

Os parasitóides de ovos Scelionidae foram significativamente atraídos para parcelas tratadas com *cis*-jasmone. Esse resultado é equivalente ao relatado na literatura para aplicações de *cis*-jasmone em laboratório (MORAES 2009), e teve efeito mesmo com a adição da complexidade espaço temporal nas condições de campo. Quanto ao tempo de duração do efeito de atração de parasitóides Scelionidae pelos voláteis liberados induzidos por *cis*-jasmone, aplicado em uma única dose e apenas no estágio R1 (início da floração) em plantas de soja, percebe-se que entre a terceira e a quarta semana o efeito apresentou redução (Fig. 5). A ausência de diferença na abundância de percevejos entre parcelas pode estar associada à reduzida densidade desses insetos nas unidades experimentais (Fig. 6) que não têm histórico de uso da terra para cultivo de soja. Experimentos que levem em consideração as diferenças nas condições do ambiente (temperatura, umidade relativa do ar, precipitação) devem ser conduzidos posteriormente para verificar o peso dessas variáveis sobre a flutuação de parasitóides e percevejos.

A ausência de diferença na ocorrência e intensidade de parasitismo entre tratamento e

controle, em contraposição ao aumento da densidade de scelionídeos em áreas tratadas, pode estar associada à dificuldade do parasitóide na localização dos ovos. Os voláteis de plantas e de hospedeiros são pistas de estímulo olfativo em longas distâncias (VINSON 1998).

Voláteis específicos dos ovos possivelmente são responsáveis pelo reconhecimento e seleção do hospedeiro pelo parasitóide para a efetivação do parasitismo (FATOUROS et al 2008). Além desses sinais diretos, os parasitóides da família Scelionidae localizam o hospedeiro através de sinais indiretos, como os rastros deixados por pegadas de percevejos (BORGES et al 2003, COLAZZA et al 2009) e sinais vibratórios de acasalamento de percevejos (LAUMANN et al 2007) que podem ser utilizados pelas fêmeas para localizar microhabitats onde a probabilidade de encontrar ovos é maior. A identificação desses semioquímicos ou sinais de outra natureza e sua posterior aplicação conjunta em campo pode auxiliar na compreensão desta dinâmica e posteriormente no desenvolvimento de produtos a base destes compostos que tenham uma ação eficiente de recrutamento e incremento dos índices de parasitismo nas culturas.

A perda de ovos de cartelas de ovos sentinela foi elevada devido às chuvas, predação e principalmente à mastigação das cartelas de papel por ortópteros. Sugere-se a troca de cartolina de papel e do filó por material equivalente confeccionado em plástico ou nylon, ou a cobertura total da cartela de ovos sentinela em sacos de nylon para experimentos posteriores. Abrigos anti-umidade confeccionados não apenas dos fundos de garrafas PET, mas mais compridos, constituído também do corpo da garrafa, podem potencializar a proteção das cartelas contra a chuva em estudos posteriores.

Os resultados sugerem que a aplicação do fitormônio indutor de defesa *cis*-jasmone em plantas de soja possui uma ação seletiva na atração de parasitóides scelionídeos, apesar da ausência de resposta sobre os índices de parasitismo e a população de hospedeiros. A indução da liberação de VOCs em soja pode ser usada para atrair scelionídeos parasitóides, e

incrementar o controle biológico através do aumento da probabilidade de encontro de ovos, devido ao aumento da densidade parasitóides em áreas tratadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BIRKETT, M. A.; CAMPBELL, C. A. M.; CHAMBERLAIN, K.; GUERRIERI, E. H.; HICK, A. J.; MARTIN, J. L.; MATTHES, M.; NAPIER, J. A.; PETERSSON, J.; PICKETT, J. A.; POPPY, G. M.; POW, E. M.; PYE, B. J.; SMART, L. E.; WADHAMS, G. H.; WADHAMS, L. J.; WOODCOCK, C. M. 2000. New roles for *cis*-jasmone as an insect semiochemical and in plant defense. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. 97: 9329-9334.
- BORGES, M.; COLAZZA, S.; RAMIREZ-LUCAS, P.; CHAUHAN, K. R.; MORAES, M. C. B.; ALDRICH, J. R. 2003. Kairomonal effect of walking traces from *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae) on two strains of *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae). **Physiological Entomology**. 28: 349-355.
- BRUCE, T. J. A.; MARTIN, L. J.; PICKETT, J. A.; PYE, B. J.; SMART, L. E.; WADHAMS, L. J. 2003. *cis*-Jasmone treatment induces resistance in wheat plants against the grain aphid, *Sitobion avenae* (Fabricius) (Homoptera: Aphididae). **Pest Management Science**. 59: 1031-1036.
- COLAZZA, S.; LO BUE, M.; LO GIUDICE, D.; PERI, E. 2009. The response of *Trissolcus basalis* to footprint contact kairomones from *Nezara viridula* females is mediated by leaf epicuticular waxes. **Naturwissenschaften**. 96: 975-981.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. 1996. Biological control of soybean stink bugs by inoculative releases of *Trissolcus basalis*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**. 79: 1-7.
- DE MORAES, C. M.; LEWIS, W. J.; PARE, P. W.; ALBORN, H. T.; TUMLINSON, J. H. 1998. Herbivore-infested plants selectively attract parasitoids. **Nature**. 393: 570-573.

- DE MORAES, C. M.; LEWIS, W. J.; TUMLINSON, J. H. 2000. Examining Plant-Parasitoid Interactions in Tritrophic Systems. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**. 29: 189-203.
- DUDAREVA, N.; NEGRE, F; NAGEGOWDA, D. A.; ORLOVA, I. 2006. Plant volatiles: Recent Advances and Future Perspectives. **Critical Reviews in Plant Sciences**. 25: 417-440.
- FATOUROS, N. E.; DICKE, M.; MUMM, R.; MEINERS, T.; HILKER M. 2008. Foraging behavior of egg parasitoids exploiting chemical information. *Behavioral Ecology*. 19: 677-689.
- GAULD, I. D.; BOLTON, B. 1988. **The Hymenoptera**. Oxford: Oxford University. 331 pp.
- GOTELLI, N. J.; ENTSMINGER, G. L. 2004. EcoSim: **Null models software for ecology** *In: Version 7*. Acquired Intelligence Inc. & Kesey-Bear. Jericho, VT 05465. <http://garyentsminger.com/ecosim/index.htm>.
- GOTELLI, N. J.; GRAVES; G. R. 1996. **Null Models in Ecology**. Smithsonian Institution Press, Washington, DC.
- GOULET, H.; HUBER, J. T. 1993. **Hymenoptera of the world: an identification guide of families**. Research Branch, Agriculture Canada, Ottawa. 668 pp.
- HEIL, M. 2004. Induction of two indirect defences benefits lima bean (*Phaseolus lunatus*, Fabaceae) in nature. **Journal of Ecology**. 92: 527-536.
- HEIL, M. 2008. Indirect defences via tritrophic interactions. **New Phytologist**. 178: 41-61.
- HILKER, M.; MEINERS, T. 2006. Early herbivore alert: Insect eggs induce plant defense. **Journal of Chemical Ecology**. 26: 1379-1397.
- HURLBERT, S. H. 1971. The nonconcept of species diversity: a critique and alternative parameters. **Ecology**. 52: 577-586.
- LAUMANN, R. A.; MORAES, M. C. B.; COKL, A.; BORGES, M. 2007. Eavesdropping on

the sexual vibratory communication of stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae) by the egg parasitoid *Telenomus podisi*. **Animal Behaviour**. 73: 637-649.

LEPS, J.; SMILAUER, P. 1999. **Multivariate Analysis of Ecological Data using CANOCO**. Cambridge University Press, New York. 284 pp.

MORAES, M. C. B.; LAUMANN, R. A.; PAREJA, M.; SERENO, F. T. P. S.; MICHEREFF, M. F. F.; BIRKETT, M. A.; PICKETT, J. A.; BORGES, M. 2009. Attraction of the stink bug egg parasitoid *Telenomus podisi* to defence signals from soybean activated by treatment with *cis*-jasmone. **Entomologia Experimentalis et Applicata**. 131: 178-188.

OKSANEN, J.; KINDT, R.; LEGENDRE, P.; O'HARA, B.; SIMPSON, G. L.; SOLYMOS, P.; STEVENS, M. H. H.; WAGNER, H. 2009. **vegan: Community Ecology Package**. R package version 1.15-4.

OLSZEWSKI, T. D. 2004. A unified mathematical framework for the measurement of richness and evenness within and among multiple communities. **Oikos**. 104: 377-387.

PANIZZI, A. R. 1997. Wild hosts of pentatomids: Ecological significance and role in their pest status crops. **Annual Review of Entomology**. 42: 99-122.

PEET, R. K. 1974. The Measurement of Species Diversity. **Annual Review of Ecology and Systematics**. 5: 285-307.

PICKETT, J. A.; BIRKETT, M. A.; MORAES, M. C. B.; BRUCE, T. J. A.; CHAMBERLAIN, K.; GORDON-WEEKS, R.; MATTHES, M. C.; NAPIER, J. A.; SMART, L. E.; WADHAMS, L. J.; WOODCOCK, C. M. 2007. *cis*-Jasmone as allelopathic agent in inducing plant defence. **Allelopathy Journal**. 19: 109-118.

QUINN, G. P.; KEOUGH, M. J. 2002. **Experimental Design and Data Analysis for Biologists**. Cambridge: Cambridge University Press, 537 pp.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. 2009. **R: A Language and Environment for Statistical**

- Computing.** Vienna, Austria, R Foundation for Statistical Computing.
- SHEPARD, M.; CARNER, G. R.; TURNIPSEED, S. G. 1974. A comparison of three sampling methods for arthropods in soybean. **Environmental Entomology**. 3: 227-232.
- TABACHNICK, B.G.; FIDELL, L.S. 2001. **Using Multivariate Statistics**. Allyn & Bacon, Needham Heights, New York. 966 pp.
- TAKABAYASHI, J. S.; DICKE, M.; POSTHUMUS, M. A. 1991. Variation in composition of predator-attracting allelochemicals emitted by herbivore-infested plants: Relative influence of plant and herbivore. **Chemoecology**. 2: 1-6.
- TAKABAYASHI, J. S.; TAKAHASHI, S.; DICKE, M.; POSTHUMUS, M. A. 1995. Developmental stage of herbivore *Pseudaletia separata* affects production of herbivore-induced synomone by corn plants. **Journal of Chemical Ecology**. 21: 273-287.
- VAN BUUREN, S.; BRAND, J. P. L.; GROOTHUIS-OUDSHOORN, C. G. M.; RUBIN, D. B. 2006. Fully conditional specification in multivariate imputation. **Journal of Statistical Computation and Simulation**. 76: 1049-1064.
- VET, L. E. M.; DICKE, M. 1992. Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. **Annual Review of Entomology**. 37: 141-172.
- VINSON, S. B. 1998. The general host selection behaviour of parasitoid Hymenoptera and a comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. **Biological Control**. 11: 79-96.
- ZAR, J. H. 1999. **Biostatistical analysis**. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey.
- ZUUR, A. F.; IENO, E. N.; WALKER, N. J.; SAVELIEV, A. A.; SMITH, G. M. 2009. **Mixed Effect Models and extensions in ecology with R**. Springer, New York. 574 pp.