

Notas Científicas

Defesas induzidas por herbivoria e interações específicas no sistema tritrófico soja-percevejos-parasitoides de ovos

Ana Paula Silva Lopes⁽¹⁾, Ivone Rezende Diniz⁽²⁾, Maria Carolina Blassioli Moraes⁽¹⁾, Miguel Borges⁽¹⁾ e Raúl Alberto Laumann⁽¹⁾

⁽¹⁾Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Parque Estação Biológica, Avenida W5 Norte, CEP 70770-917 Brasília, DF. E-mail: anapslopes@gmail.com, mcbmoraes@cernagen.embrapa.br, mborges@cenagen.embrapa.br, Raul.laumann@embrapa.br

⁽²⁾Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro, CEP 70910-900 Brasília, DF. E-mail: irdiniz@unb.br

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de voláteis de soja, induzidos pela herbivoria dos percevejos *Euschistus heros* e *Nezara viridula*, no comportamento de busca de hospedeiros dos parasitoides *Telenomus podisi* e *Trissolcus basal*. Plantas injuriadas pela alimentação dos percevejos foram utilizadas como estímulos em bioensaios com fêmeas dos parasitoides, em olfatômetro de dupla escolha tipo Y. *Telenomus podisi* respondeu somente a voláteis liberados pela soja após a herbivoria de *E. heros*, seu hospedeiro preferencial. *Trissolcus basal* não foi influenciado pelas plantas injuriadas pelos percevejos. Os resultados obtidos indicam existência de interações espécie-específicas no sistema tritrófico soja-percevejos-parasitoides de ovos.

Termos para indexação: comportamento de busca, controle biológico, hospedeiro preferencial, interações tritróficas, olfatômetro de dupla escolha, voláteis de plantas.

Defenses induced by herbivory and specific interactions on the tri-trophic system soybean-stink bug-egg parasitoids

Abstract – The objective of this work was to evaluate the influence of soybean volatiles, induced by the herbivory of the stink bugs *Euschistus heros* and *Nezara viridula*, on the host searching behavior of the parasitoids *Telenomus podisi* and *Trissolcus basal*. Plants injured by the feeding activity of the stink bugs were used as stimuli in bioassays with parasitoid females in a two-choice Y type olfactometer. *Telenomus podisi* responded only to volatiles released by soybean after herbivory injury of *E. heros*, their preferential host. *Trissolcus basal* did not respond to plants injured by the stink bugs. The obtained results indicate the existence of species-specific interactions in the tri-trophic system soybean-stink bug-egg parasitoids.

Index terms: searching behavior, biological control, preferential host, tri-trophic interactions, two choice olfactometer, plant volatiles.

Defesas induzidas por herbivoria (DIH) são importantes componentes do sistema defensivo das plantas, frente ao ataque de insetos fitófagos (Dicke & Sabelis, 1988). As DIH podem ter atuação direta, ao repelir herbívoros (De Moraes et al., 2001; Kessler & Baldwin, 2001), ou indireta, pela atração de inimigos naturais, como insetos, aves ou nematoides entomopatogênicos (Dudareva et al., 2006). As DIH podem variar qualitativa e quantitativamente de acordo com: a espécie do herbívoro que realiza a injúria na planta; a presença de diferentes espécies de herbívoros em uma mesma planta; o tipo de hábito alimentar (mastigador ou sugador) do inseto; o estágio fisiológico e a espécie da planta hospedeira (Dicke

& Hilker, 2003; Fatouros et al., 2005; Moraes et al., 2005).

A injúria por percevejos em soja [*Glycine max* (L.) Merrill] estimula a DIH relacionada à atração de parasitoides de ovos (Scelionidae) (Moraes et al., 2005). A indução de defesas é influenciada pelo hábito de alimentação (sugador ou mastigador) e pelo estágio do inseto herbívoro, bem como por variações genótípicas e fenotípicas da planta (Moraes et al., 2005, 2008; Michereff et al., 2011).

Os parasitoides (Hymenoptera: Scelionidae) são importantes inimigos naturais de percevejos (Hemiptera: Pentatomidae) e apresentam preferência por determinadas espécies. *Euschistus heros* (Fabricius,

1791) é o hospedeiro preferencial de *Telenomus podisi* (Ashmead, 1881), enquanto *Nezara viridula* (L. 1758) é o de *Trissolcus basalus* (Wollaston, 1858) (Sujii et al., 2002).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da liberação de compostos voláteis de soja induzidos pela herbivoria de percevejos *E. heros* e *N. viridula* no comportamento de busca de hospedeiros dos parasitoides *T. podisi* e *T. basalus*.

Os percevejos *E. heros* e *N. viridula* foram mantidos de acordo com Borges et al. (2006). Já os parasitoides de ovos de *T. podisi* e *T. basalus*, foram criados conforme Laumann et al. (2009). As colônias foram acondicionadas em salas climatizadas, a $26\pm 1^\circ\text{C}$, $65\pm 10\%$ de umidade relativa e 14:10 L:D (light:dark) de fotoperíodo.

A influência dos voláteis liberados pelas plantas danificadas pelos percevejos no comportamento dos parasitoides foi analisada em bioensaios de olfatométrica, tendo-se utilizado fêmeas acasaladas de *T. podisi* e *T. basalus* com 24–48 horas de idade adulta, sem experiência de oviposição (Moraes et al., 2005; Laumann et al., 2009). Para os bioensaios, foram utilizadas plantas de soja (cultivar Conquista) no estágio fisiológico V5. Estas plantas foram crescidas em vasos de plástico de 500 mL e mantidas em salas climatizadas ($25\pm 1^\circ\text{C}$, $65\pm 10\%$ de umidade relativa e 14:10 L:D de fotoperíodo) livres de insetos, para evitar dano de herbivoria antes dos experimentos. Para garantir o dano unicamente por herbivoria derivada da injúria de alimentação, as plantas foram mantidas de 72 a 96 horas com quatro fêmeas adultas virgens dos percevejos, com 2 a 4 dias de idade (Moraes et al., 2005), para então serem utilizadas nos bioensaios. As plantas foram envolvidas por sacos de plástico de polietileno microperfurados, para evitar a fuga dos insetos. As plantas danificadas e não danificadas pelos insetos, foram mantidas em salas separadas, nas mesmas condições ambientais do período prévio aos bioensaios, para evitar a sinalização química.

As plantas foram injuriadas pelos insetos com as seguintes combinações de tratamentos: *E. heros* (n=4); *N. viridula* (n=4); *E. heros* (n=2) + *N. viridula* (n=2); e controle (planta sem dano). As plantas foram inseridas em recipientes de vidro de 3 L. Para os bioensaios, utilizou-se olfatômetro confeccionado em placa de acrílico em formato de Y, com o corpo central de 7,7x1,3 cm e dois braços de 7,0x1,7 cm cada um.

O olfatômetro foi fechado, tanto na parte superior quanto na inferior, com placas de vidro. O ar filtrado em carvão ativado e umidificado foi conduzido com uso de bomba de aquário (fluxo de $1,0\text{ L min}^{-1}$) para o interior dos recipientes de vidro de 3 L, contendo as plantas dos diferentes tratamentos. Após a passagem pelas câmaras, o ar foi transportado, em mangueiras de silicone, até os braços do olfatômetro. Para o escoamento do ar, uma bomba de sucção foi ligada no extremo oposto à entrada do olfatômetro ($0,6\text{ L min}^{-1}$) (Moraes et al., 2005; Laumann et al., 2009).

Fêmeas de *T. podisi* e *T. basalus* foram colocadas individualmente no olfatômetro. A variável mensurada foi denominada “escolha inicial”, ou seja, o primeiro braço do olfatômetro por onde o inseto entra, em mais da metade do seu comprimento, e permanece por mais de 30 s. Para os bioensaios, foram realizadas as seguintes combinações de tratamentos: soja danificada por *E. heros* vs. soja sadia; soja danificada por *N. viridula* vs. soja sadia; e soja danificada por ambas as espécies de percevejos vs. soja sadia. Os dados da “escolha inicial” foram analisados pelo teste do qui-quadrado, para estabelecer se a preferência por um dos tratamentos foi significativamente diferente da esperada se a escolha fosse realizada ao acaso (50% de escolha para cada área do olfatômetro).

O parasitoide *T. podisi* mostrou preferência por plantas danificadas por *E. heros*, quando comparadas às plantas sadias (controle) (Figura 1 A). Não foi observada preferência nos demais tratamentos. *Trissolcus basalus* não apresentou preferência em nenhum dos tratamentos (Figura 1 B).

A preferência de *T. podisi* por voláteis de soja após a injúria por *E. heros* pode estar relacionada à preferência de oviposição em ovos de *E. heros*, em comparação a outras espécies de percevejos (Sujii et al., 2002), e coincide com relatos prévios da resposta deste parasitoide a defesas induzidas em soja após a injúria por *E. heros* (Moraes et al., 2005, 2008). A resposta de *T. podisi* deu indícios de ser altamente seletiva, já que o parasitoide não respondeu a plantas danificadas por *N. viridula* ou por *E. heros* + *N. viridula*. Moraes et al. (2005) observaram que fêmeas de *T. podisi* respondem a compostos voláteis liberados por soja danificada por *E. heros*, mas não são atraídas pelos voláteis liberados pelo dano alimentar da lagarta *Anticarsia gemmatilis* (Hübner, 1818). Além disso, *T. podisi* também mostra resposta seletiva a compostos de alarme encontrados na

glândula metatorácica do seu hospedeiro preferencial, *E. heros* (Laumann et al., 2009).

Entretanto, para *T. basalis*, os voláteis liberados pelas plantas de soja tratadas com o percevejo *N. viridula* não estimularam a atração. Colazza et al. (2004), ao trabalhar com essa espécie de parasitoide em resposta ao dano por herbivoria causado por *N. viridula* em plantas de feijão *Vicia faba* L., verificaram a necessidade da associação da herbivoria com outro tipo de dano para indução das defesas da planta. Nesse caso, o parasitoide *T. basalis* respondeu aos voláteis liberados pelas plantas de *V. faba* danificadas pelos danos de herbivoria e de oviposição (Colazza et al., 2004).

O parasitoide *T. podisi*, diferentemente de *T. basalis*, discrimina os compostos induzidos por seu hospedeiro preferencial, *E. heros*, e utiliza-os para se orientar durante a busca de hospedeiros.

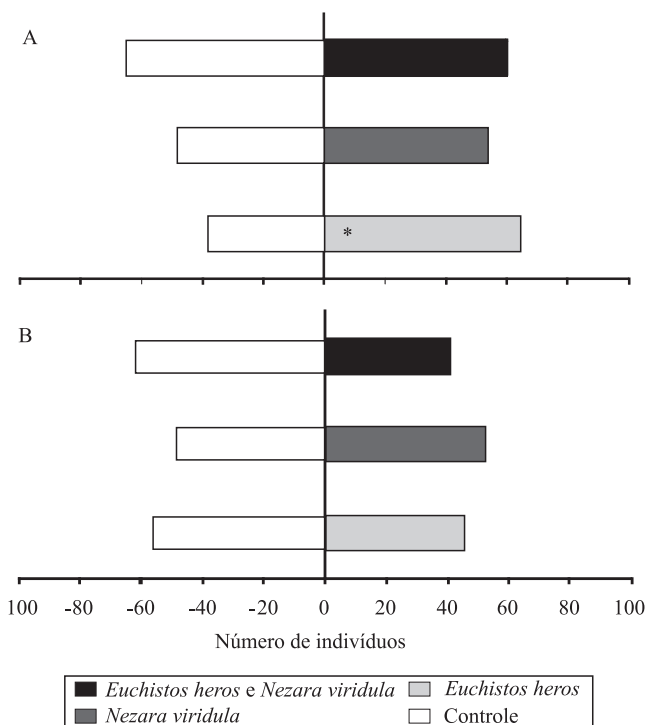


Figura 1. Respostas de fêmeas de *Telenomus podisi* (A) e *Trissolcus basalis* (B) expostas a plantas de soja submetidas a diferentes tratamentos de herbivoria: controle, planta sadia; *Euschistos heros*, planta danificada pela alimentação de quatro fêmeas de *E. heros*; *Nezara viridula*, planta danificada pela alimentação de quatro fêmeas de *N. viridula*; *E. heros* + *N. viridula*, planta danificada pela alimentação de duas fêmeas de *E. heros* e duas fêmeas de *N. viridula*. *Significativo pelo teste do qui-quadrado, a 5% de probabilidade.

A ausência de resposta do parasitoide *T. basalis* pode ter sido influenciada pelo curto tempo de exposição das plantas à herbivoria de percevejos (especialmente seu hospedeiro preferencial, *N. viridula*), o que indica que esta espécie pode utilizar outros sinais ou uma mistura deles durante a busca de hospedeiros. Os resultados obtidos são indicativos de ocorrência de interações espécie-específicas no sistema tritrófico soja-percevejos-parasitoides de ovos.

Agradecimentos

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pelo apoio financeiro.

Referências

- BORGES, M.; LAUMANN, R.A.; SILVA, C.C.A. da; MORAES, M.C.B.; SANTOS, H.M.; RIBEIRO, D.T. **Metodologias de criação e manejo de colônias de percevejos da soja (Hemiptera-Pentatomidae) para estudos de comportamento e ecologia química**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. 18p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos, 182).
- COLAZZA, S.; FUCARINO, A.; PERI, E.; SALERNO, G.; CONTI, E.; BIN, F. Insect oviposition induces volatile emission in herbaceous plants that attracts egg parasitoids. **Journal of Experimental Biology**, v.207, p.47-53, 2004.
- DE MORAES, C.M.; MESCHER, M.C.; TUMLINSON, J.H. Caterpillar-induced nocturnal plant volatiles repel conspecific females. **Nature**, v.410, p.577-580, 2001.
- DICKE, M.; HILKER, M. Induced plant defences: from molecular biology to evolutionary ecology. **Basic and Applied Ecology**, v.4, p.3-14, 2003.
- DICKE, M.; SABELIS, M.W. How plants obtain predatory mites as bodyguards. **Netherlands Journal of Zoology**, v.38, p.148-165, 1988.
- DUDAREVA, N.; NEGRE, F.; NAGEGOWDA, D.A.; ORLOVA, I. Plant volatiles: recent advances and future perspectives. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.25, p.417-440, 2006.
- FATOUROS, N.E.; VAN LOON, J.J.A.; HORDIJK, K.A.; SMID, M.H.; DICKE, M. Herbivore-induced plant volatiles mediate in-flight host discrimination by parasitoids. **Journal of Chemical Ecology**, v.31, p.2033-2040, 2005.
- KESSLER, A.; BALDWIN, I.T. Defensive function of herbivore-induced plant volatile emissions in nature. **Science**, v.291, p.2142-2143, 2001.
- LAUMANN, R.A.; AQUINO, M.F.S.; MORAES, M.C.B.; PAREJA, M.; BORGES, M. Response of the egg parasitoids *Trissolcus basalis* and *Telenomus podisi* to compounds from defensive secretions of stink bugs. **Journal of Chemical Ecology**, v.35, p.8-19, 2009.

MICHEREFF, M.F.F.; LAUMANN, R.A.; BORGES, M.; MICHEREFF-FILHO, M.; DINIZ, I.R.; FARIAS NETO, A.L.; MORAES, M.C.B. Volatiles mediating a plant-herbivore-natural enemy interaction in resistant and susceptible soybean cultivars. **Journal of Chemical Ecology**, v.37, p.273-285, 2011.

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

MORAES, M.C.B.; PAREJA, M.F.; LAUMANN, R.A.; HOFFMANN-CAMPO, C.B.; BORGES, M. Response of the parasitoid *Telenomus podisi* to induced volatiles from soybean damaged by stink bug herbivory and oviposition. **Journal of Plant Interactions**, v.3, p.1742-1756, 2008.

SUJII, E.R.; COSTA, M.L.M.; PIRES, C.S.; COLAZZA, S.; BORGES, M. Inter and intra-guild interactions in egg parasitoid species of the soybean stink bug complex. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, p.1541-1549, 2002.

Recebido em 8 de junho de 2011 e aprovado em 16 de maio de 2012