



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO
MESTRADO EM ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO

INDUÇÃO DE VOLÁTEIS EM *Cocos nucifera* (ARECACEAE) POR
Brassolis sophorae (Linnaeus, 1758) (LEPIDOPTERA: NYMPHALIDAE) E
BIOLOGIA DE *Winthemia analis* (Macquart, 1846) (DIPTERA:
TACHINIDAE).

ABEL FELIPE DE O. QUEIROZ
MESTRADO ACADÊMICO

São Cristóvão
Sergipe – Brasil
2015

ABEL FELIPE DE O. QUEIROZ

INDUÇÃO DE VOLÁTEIS EM *Cocos nucifera* (ARECACEAE) POR
Brassolis sophorae (Linnaeus, 1758) (LEPIDOPTERA: NYMPHALIDAE) E
BIOLOGIA DE *Winthemia analis* (Macquart, 1846) (DIPTERA:
TACHINIDAE).

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Federal de Sergipe, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ecologia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Bianca Giuliano Ambrogi

Co-orientadora: Dr.^a Delia Pinto Zevallos

São Cristóvão
Sergipe – Brasil

2015

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

Q3i Queiroz, Abel Felipe de O.
Indução de voláteis em cocos nucifera (Arecaceae) por *Brassolis sophorae* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Nymphalidae) e biologia de *Winthemia analis* (Macquart, 1846) (Diptera: Tachinidae) / Abel Felipe de O. Queiroz ; orientador Bianca Giuliano Ambrogi. – São Cristóvão, 2015.
53 f. : il.

Dissertação (mestrado em Ecologia e Conservação) – Universidade Federal de Sergipe, 2015.

1. Ecologia vegetal. 2. Coqueiro. 3. Ecologia química das plantas. 4. Plantas – Proteção. I. Ambrogi, Bianca Giuliano, orient. II. Título.

CDU 582.521.11

TERMO DE APROVAÇÃO

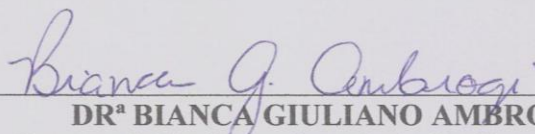
INDUÇÃO DE VOLÁTEIS EM *Cocos nucifera* (ARECACEAE) POR *Brassolis sophorae* (Linnaeus, 1758) (LEPIDOPTERA: NYMPHALIDAE) E BIOLOGIA DE *Winthemia analis* (Macquart, 1846) (DIPTERA: TACHINIDAE).

por

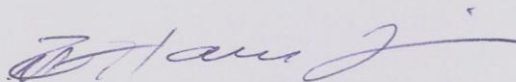
ABEL FELIPE DE O. QUEIROZ

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Federal de Sergipe, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Ecologia e Conservação.

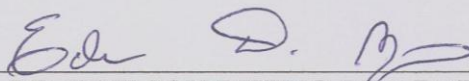
APROVADA pela banca examinadora composta por



DR^a BIANCA GIULIANO AMBROGI
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da
Universidade Federal de Sergipe



DR. PAULO HENRIQUE G. ZARBIN
Universidade Federal do Paraná



DR. EDILSON DIVINO DE ARAUJO
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da
Universidade Federal de Sergipe

São Cristóvão/SE, 26 de fevereiro de 2015.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer à minha família, pois nunca se opuseram quanto minhas decisões em relação a vida profissional, sempre me incentivando e dando forças para seguir em frente. Um muito obrigado especial aos meus pais José Everton e Aldair pela ótima educação e carinho dados durante minha criação e obrigado também as minhas irmãs Larissa e Yasmin por toda alegria, carinho, descontração e por me aturar (em especial a Larissa) nestes anos de convívio. Obrigado também a Paula Brito, que além de minha amiga e namorada também faz parte de minha família e me deu forças para seguir em frente e nunca desistir durante o mestrado.

Gostaria de agradecer também a todos os integrantes do Laboratório de Entomologia da Universidade Federal de Sergipe que em primeiro lugar me aceitaram de braços abertos e por sempre me apoiarem durante o desenvolvimento do meu projeto. Em primeiro lugar gostaria de agradecer a minha orientadora Dra. Bianca Ambrogi, pelo carinho, por ter me aceitado tão gentilmente, depositado toda sua confiança em minha capacidade de realizar este trabalho e me orientado ao longo desta jornada. Muito obrigado também aos professores integrantes do Laboratório, Dr. Leandro Souto, Dra. Ana Paula, Dra. Yana Reis, Dr. Luiz Anderson Leite e a todos os professores do PPEC por compartilharem e dedicarem de boa vontade seu conhecimento e tempo. Não posso deixar de agradecer a Dra. Sinara Moreira pela dedicação e ajuda no desenvolvimento do projeto e pelo carinho e descontração compartilhados. Obrigado a minha co-orientadora Dra. Delia Zevallos por toda ajuda e dedicação, que apesar de recém-chegada foi de fundamental importância para o desenvolvimento do trabalho.

Agradeço também a todos os alunos do Laboratório de Entomologia Philippe, Meggie, Arivania e Vânia, as estagiarias Mariana e Jucileide, e em especial agradeço Jucileide, que teve uma importância fundamental no desenvolvimento do trabalho, pois assumiu de maneira igualitária todas as responsabilidades deste trabalho e também por todo apoio, carinho, alegria e descontração compartilhados. Não posso esquecer do meu amigo Arleu, que apesar de chato, foi ele quem fez meu primeiro contato com a professora Bianca, tenho que admitir, se não fosse por Arleu talvez não estivesse aqui hoje. Obrigado aos meus amigos Eduardo Nascimento e Jéssica Leite, pois foi através do projeto e da ajuda deles que tive meus primeiros conhecimentos sobre a Ecologia Química. Também agradeço aos meus amigos Rony e Rafaela por estarem sempre ao meu lado tornando esta jornada mais agradável, prazerosa e divertida. Obrigado também a técnica Andrea pela ajuda realizada no projeto.

Gostaria de agradecer a todos os meus amigos da UFS, aos companheiros de classe (Pedro, Pablo, Thomaz, Jeanne e Dannyelly) aos de longa data da UNIT e do conjunto Santa Lúcia (e adjacências), que de maneira direta ou indireta me ajudaram para que eu continuasse este projeto. Vale ressaltar que em muitos momentos para não desistir me espelhei em meus amigos Samuel e Pedro (*in memoriam*), pois sempre tiveram muito gosto e dedicação pelo o que realizavam.

Não posso esquecer-me de agradecer ao Dr. Paulo Zarbin e toda sua equipe do laboratório de semioquímicos da UFPR, que me receberam e ajudaram de maneira tão agradável. Em especial agradeço a Day e Diogo pela integração social com os químicos e a Camila que me acompanhou e ajudou todos os dias na UFPR.

Obrigado aos membros da minha banca de qualificação Dra. Glaucia e Dra. Ana Paula Albano, suas considerações foram muito úteis para o trabalho e desde já agradeço aos professores Dr. Paulo Zarbin e Edilson Divino por fazerem parte da minha banca de defesa da dissertação.

Obrigado aos proprietários do sitio Almeida, Nivaldo e Rony, pela ajuda nas coletas e em especial ao meu amigo Rony pelo seu companheirismo, principalmente nesta reta final. Agradeço a fazenda H. DANTAS por nos receber e doar material de trabalho, em especial agradeço a Beto por sua dedicação e receptividade.

Obrigado a CAPES/FAPITEC pelo financiamento do projeto e pela concessão da bolsa de estudo, agradeço também ao programa de pós-graduação em ecologia e conservação e todos os seus membros, em especial a secretária Juliana Cordeiro, por ajudar a resolver todos os problemas referentes ao mestrado.

RESUMO

As plantas apresentam diversas estratégias de defesa contra herbivoria. Muitas plantas, quando atacadas emitem compostos orgânicos voláteis que auxiliam na sua defesa, por meio da atração de inimigos naturais dos herbívoros ou repelindo diretamente o herbívoro. O coqueiro, *Cocos nucifera*, tem seu cultivo presente em todas as regiões do país, sendo predominante na região nordeste e apresenta uma grande importância social e econômica para o país. Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo verificar a liberação de voláteis de *C. nucifera* induzidos pela herbivoria de lagartas de *Brassolis sophorae* e a resposta comportamental de *Winthemia analis*, parasitoide de lagartas de *B. sophorae*, aos compostos induzidos. Adicionalmente estudou-se a biologia de *W. analis*. Foram coletados, por meio do processo de aeração, voláteis emitidos por *C. nucifera* sob os seguintes tratamentos: 1 – planta sadia; 2 – planta com dano mecânico e 3 – planta sob herbivoria de lagartas de *B. sophorae*. Os voláteis coletados foram analisados quimicamente por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM). A resposta comportamental do parasitoide aos compostos induzidos pela herbivoria das lagartas foi testada em um olfatômetro em “Y” e seu ciclo de vida foi registrado a partir de 79 larvas que emergiram de 28 pupas de *B. sophorae*. Os compostos nonanal, decanal e duas cetonas, geranil acetona e 6-metil-5-hepten-2-ona, foram identificados nas amostras de voláteis emitidos por *C. nucifera* 48h após a aplicação dos três tratamentos. O homoterpeno (*E*)-4-8-dimetil-1,3,7-nonatrieno (DMNT) foi encontrado somente nas amostras de voláteis emitidos por *C. nucifera* sob herbivoria de *B. sophorae* e com dano mecânico. A contribuição do DMNT foi maior nas amostras de planta sob herbivoria de lagartas de *B. sophorae* do que nas amostras de planta com dano mecânico. Os adultos de *W. analis* não foram atraídos pelos extratos obtidos da aeração de plantas sob herbivoria de lagartas de *B. sophorae*. A taxa de emergência dos adultos de *W. analis* foi de aproximadamente 73%. Foi possível verificar dimorfismo sexual alar por meio de morfometria geométrica ($p < 0,0001$). A análise morfológica dos adultos de *W. analis* constatou a existência de uma característica no abdômen dos machos.

Palavras-chave: Coqueiro, defesa química, parasitoide, morfometria geométrica.

ABSTRACT

Plants have evolved various strategies to defend themselves against herbivory. Under herbivore attack, they emit volatile organic compounds that indirectly defend the plant, by attracting herbivore's natural enemies or directly by repelling the herbivore. The coconut tree, *Cocos nucifera*, is grown in all regions of the country, being predominant in the northeast and hold socio-economic importance for the country. In this sense, the objective of this study was to characterize the emission of volatiles by *C. nucifera* induced upon herbivory of *Brassolis sophorae* caterpillars and to assess the behavioral response of *Winthemia analis*, larval parasitoid of *B. sophorae*, to *B. sophorae* induced volatiles. In addition, the biology of *W. analis* was studied. Were collected, using the aeration process, volatiles emitted by *C. nucifera* under the following treatments: 1 – undamaged plants; 2 – mechanically-damaged plants and 3 – plants upon herbivory of *Brassolis sophorae* caterpillars. The collected volatiles were chemically analyzed by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS). The behavioral response of the parasitoid to the induced compounds was tested in a Y-tube olfactometer, and the life cycle was determined from 79 larvae emerged from 28 *B. sophorae* pupae. The compounds nonanal, decanal and two ketones, geranyl acetone and 6-methyl-5-hepten-2-one, were identified in the samples containing volatiles emitted by *C. nucifera* 48h after the application of the three treatments. The homoterpene (*E*)-4-8-dimethyl-1,3,7-nonatriene (DMNT) was identified only in the samples containing volatiles emitted by *C. nucifera* upon herbivory of *Brassolis sophorae* caterpillars and mechanically-damaged plants. The DMNT contribution was higher in the sample emitted by plants upon herbivory of *Brassolis sophorae* caterpillars than in the samples emitted by mechanically-damaged plants. *W. analis* flies were not attracted to the odors emitted by *C. nucifera* upon herbivory of *Brassolis sophorae* caterpillars. The emergence rate of adults was about 73%. Were possible to check sexual dimorphism in the adults wings using geometric morphometric ($p < 0.0001$). The morphological analysis of the *W. analis* adults show one characteristic in the male abdomen.

Keywords: Coconut tree, chemical defense, parasitoid, geometric morphometric.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	10
2.	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	12
2.1	Defesas químicas das plantas.....	12
2.2	<i>Cocos nucifera</i> (Arecaceae).....	14
2.3	<i>Brassolis sophorae</i> (Lepidoptera: Nymphalidae).....	14
2.4	<i>Winthemia analis</i> (Diptera: Tachinidae).....	15
2.5	Morfometria Geométrica	16
3.	OBJETIVOS	17
3.1	Objetivo Geral.....	17
3.2	Objetivos específicos	17
4.	MATERIAL E MÉTODOS.....	18
4.1	Mudas de <i>Cocos nucifera</i>	18
4.2	Criação do herbívoro <i>Brassolis sophorae</i>	19
4.3	Obtenção dos parasitoides <i>Winthemia analis</i>	19
4.4	Coleta dos voláteis de <i>Cocos nucifera</i>	20
4.5	Análise química e identificação dos compostos	22
4.6	Bioensaios de olfatometria.....	23
4.7	Biologia de <i>Winthemia analis</i>	24
4.7.1	Ciclo de vida.....	24
4.7.2	Dimorfismo sexual	24
4.8	Análises estatísticas	25
5.	RESULTADOS	26
5.1	Compostos orgânicos voláteis liberados por <i>Cocos nucifera</i>	26
5.2	Bioensaios de olfatometria.....	28
5.3	Biologia de <i>Winthemia analis</i>	29
5.3.1	Ciclo de vida.....	29
5.3.2	Dimorfismo sexual	29
6.	DISCUSSÃO	32
6.1	Compostos orgânicos voláteis liberados por <i>Cocos nucifera</i>	32
6.2	Bioensaios de olfatometria.....	35
6.3	Biologia de <i>Winthemia analis</i>	37
6.3.1	Ciclo de vida.....	37
6.3.2	Dimorfismo sexual	38
7.	CONCLUSÃO.....	40
8.	REFERÊNCIAS	41

1. INTRODUÇÃO

Ao longo do tempo, as plantas e os insetos têm mantido relações de mútua dependência, favorecendo o processo de coevolução, essa rede de relações se baseia principalmente na busca de alimentos e reprodução (Gols & Harvey, 2008). Durante este processo evolutivo as plantas desenvolveram diferentes mecanismos de defesa físicos e químicos, tais como, tricomas (Fordyce & Agrawal, 2001), proteínas associadas à defesa (Haruta et al., 2001) e voláteis capazes de atrair inimigos naturais dos herbívoros (Dicke et al., 1990). Estes compostos voláteis liberados pelas plantas são denominados metabólitos secundários e podem desempenhar diferentes papéis ecológicos, dentre eles, a proteção contra herbivoria (Dewick, 2002). Os metabólitos secundários podem ser enquadrados em três classes principais: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados (Taiz & Zeiger, 2003).

Diversos trabalhos têm sido realizados com o objetivo de identificar o papel dos compostos orgânicos voláteis envolvidos nas interações entre as plantas, herbívoros e seus inimigos naturais e como estes podem ser usados no controle biológico (Büchel et al., 2011; Oliveira & Pareja, 2014; Salamanca et al., 2015). O controle topo-base das populações de herbívoros pode ser realizado por meio da atração de seus predadores e parasitoides através de compostos orgânicos voláteis liberados pelas plantas quando submetidas à herbivoria (Ferry et al., 2004).

O coqueiro, *Cocus nucifera*, é uma planta pertencente à família Arecaceae, seu cultivo está presente em todas as regiões do país, sendo predominante na região nordeste e apresenta uma grande importância social e econômica para o país (Martins & Jesus Junior, 2011). Diversas pragas e doenças atacam essa cultura durante todo o seu desenvolvimento, interferindo diretamente na produção (Ferreira & Lins, 2006).

A lagarta-das-folhas-do-coqueiro, *Brassolis sophorae* (Lepidoptera: Nymphalidae), é um dos insetos mais prejudiciais à cultura do coqueiro, causando um grande desfolhamento na planta, provocando queda prematura dos frutos, redução na colheita e até a morte da planta (Ferreira & Lins, 2006). Algumas espécies de Hymenoptera e Diptera têm sido registradas como endoparasitoides, agindo como agentes naturais de biocontrole de *B. sophorae* (Ferreira & Lins, 2002; Ruszczyk & Ribeiro, 1998). Recentemente *Winthemia analis* (Diptera: Tachinidae) foi registrado como parasitoide de larva e pupa de *B. sophorae* no estado de Alagoas (Marcicano et al., 2009). Este parasitoide tem sido encontrado frequentemente nas lagartas e pupas coletadas no estado de Sergipe (observação pessoal).

Apesar da importância de *B. sophorae* na cocoicultura, pouco ainda é conhecido sobre sua biologia, seus inimigos naturais e como este herbívoro interfere nos mecanismos de defesa de seu hospedeiro, *C. nucifera*.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Defesas químicas das plantas

As defesas das plantas por meio de substâncias químicas podem ser classificadas em defesas constitutivas ou induzidas. As defesas de origem constitutiva podem afetar a biologia e a seleção hospedeira do inseto a partir da redução do acesso aos nutrientes, produção de componentes tóxicos ou deterrentes da alimentação ou oviposição (Duffey & Stout, 1996; Baldwin & Preston, 1999; Doss et al., 2000). Já as defesas induzidas ocorrem em resposta ao ataque do herbívoro e são produzidas por reações derivadas de processos bioquímicos complexos, que podem resultar em alterações químicas e morfológicas, tais como, incrementos em metabólitos secundários, proteínas associadas às defesas, produção de néctar extrafloral, que serve como fonte de alimento para inimigos naturais dos herbívoros ou emissão de compostos orgânicos que podem repelir diretamente o herbívoro ou agir de forma indireta atraindo os inimigos naturais dos herbívoros (Dicke et al., 1990; Turlings et al., 1990; Takabayashi et al., 1991; Turlings & Tumlinson, 1991; Meiners & Hilker, 2000; Turlings & Wackers, 2004).

As interações tritróficas mediadas pela emissão de compostos orgânicos voláteis têm sido alvo de muitos estudos uma vez que apresentam potencial para o desenvolvimento de estratégias de controle de pragas agrícolas de maneira sustentável. Estudos recentes mostram que o predador *Cycloneda sanguinea* (Coleoptera: Coccinellidae) apresenta preferência por plantas de *Capsicum annuum* (Solanaceae) sob herbivoria de *Aphis gossypii* e *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) quando comparado com plantas sem herbivoria (Oliveira & Pareja, 2014). Fêmeas do predador *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae) mostraram preferência por voláteis de *Rosa x hybrida* atacada pelo herbívoro *Macrosiphum euphorbiae* (Hemiptera: Aphididae) quando comparado com voláteis da planta sem herbivoria (Salamanca et al., 2015).

Os compostos orgânicos voláteis liberados pelo complexo planta-herbívoro podem variar tanto quantitativamente quanto qualitativamente (Turlings et al., 1991). Os primeiros voláteis emitidos pelos tecidos danificados, independentemente do agente causador do dano, são os voláteis de folhas verdes. Esses, geralmente são misturas de alcoóis, aldeídos e ésteres produzidos pela oxidação de ácidos graxos derivados da membrana celular (Turlings et al., 1998; Hoballah & Turlings, 2005). Já os terpenóides, são produzidos em resposta aos danos causados pela herbivoria e geralmente são liberados não somente no tecido danificado, mas

também em folhas sem danos, por meio da indução sistêmica na planta (Paré & Tumlinson, 1997).

A especificidade da mistura de voláteis liberada pelas plantas pode variar de acordo com a espécie da planta, com a espécie de herbívoro que a danificou e até com o estágio de vida do herbívoro (Turlings et al., 1995; Dicke & Vet, 1999; Degen et al., 2004). Experimentos realizados com o parasitoide larval *Cotesia kariyai* (Hymenoptera: Braconidae) demonstraram que as fêmeas são capazes de distinguir danos provocados por lagartas de *Pseudaletia separata* (Lepidoptera: Noctuidae) somente até o quarto instar, e não por plantas atacadas por lagartas dos últimos ínstars (quinto e sexto) (Takabayashi & Dicke, 1996). Já para *Microplitis rufiventris* (Hymenoptera: Braconidae), experimentos demonstraram que essa espécie não é capaz de diferenciar entre misturas de voláteis provenientes de plantas de milho (*Zea mays*, Poaceae) atacadas por lagartas de diferentes ínstars, uma vez que conseguem completar seu desenvolvimento em lagartas de segundo e terceiro ínstars (Gouinguéné et al., 2003). Essa mistura geralmente é específica para cada espécie de herbívoro, permitindo que os inimigos naturais distingam entre os semioquímicos liberados por plantas infestadas por herbívoros hospedeiros ou não (de Moraes et al., 1998).

A produção de voláteis induzidos pela herbivoria é desencadeada por substâncias elicitoras presentes no regurgito dos herbívoros. Vários tipos de elicitores presentes no regurgito dos artrópodes já foram identificados, entre eles a β -glucosidase de *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae) (Mattiacci et al., 1995) e a volicitina de *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae), ambos isolados de secreções orais das lagartas (Alborn et al., 1997, 2000; Turlings et al., 2000). Além desses, outras substâncias como conjugados de ácidos graxos e aminoácidos também foram encontrados em regurgito de lagartas de *Manduca sexta* (Lepidoptera: Sphingidae) e também mostraram estimular a produção de voláteis em plantas de tabaco (Baldwin et al., 2001; Halitschke et al., 2001). Essas respostas podem ser restritas ao local do dano ou ocorrer sistematicamente por toda a planta (Turlings & Tumlinson, 1992).

A indução da liberação de compostos de defesa pelas plantas pode ser provocada tanto por alimentação quanto pela oviposição dos herbívoros, esta indução de voláteis de defesa também pode ser reproduzida danificando artificialmente o tecido da planta ou ainda por meio da aplicação exógena de substâncias que participam na sinalização de processos bioquímicos, resultando em efeito similar a resposta de plantas atacadas por herbívoros (Turlings et al., 1995; Dicke & van Lonn, 2000; Gols et al., 2003).

2.2 *Cocos nucifera* (Arecaceae)

O coqueiro é uma planta que se caracteriza por apresentar porte arbóreo, copa densa, raízes fasciculadas e caule em estipe (Silva, 2002). Dentre as frutíferas é uma das mais difundidas do mundo, ocorrendo em quase todos os continentes. Atualmente, o Brasil é o quarto maior produtor de coco do mundo, tendo uma produção de cerca de 2,8 milhões de toneladas em uma área de 287.000 ha. Entre os dez maiores estados produtores de coco no Brasil, sete deles estão na região Nordeste. O maior estado produtor é a Bahia, seguido de Sergipe e Ceará que, juntos, são responsáveis por mais de 50% da produção de coco no Brasil (Martins & Jesus Junior, 2011). A produção de coco verde no Brasil gera emprego e renda para mais de 500 mil pessoas envolvidas diretamente no processo produtivo, além dos inúmeros empregos indiretos, gerados ao longo da cadeia produtiva (Cuenca, 2007).

O coqueiro também representa uma rica fonte de alimento para vários insetos, tais como, a broca-do-estipe-do-coqueiro, *Rhinostomus barbirostris* (Coleoptera: Curculionidae), a traça-das-flores-e-frutos, *Atheloca subrufella* (Lepidoptera: Phycitidae), o pulgão-preto-do-coqueiro, *Cerataphis lataniae* (Heteroptera: Aphididae) e a lagarta-das-folhas-do-coqueiro, *B. sophorae* (Ferreira & Lins, 2006). Estes organismos podem causar sérios problemas à planta, que variam desde o atraso no desenvolvimento, perda na produção até a morte da mesma (Ferreira & Filho, 2007). Os surtos de pragas são favorecidos por fatores naturais da planta, como a produção contínua de folhas e uma longa permanência dessas estruturas, desta maneira a planta tem sempre sua copa formada por folhas jovens, folhas em estágio de maturação e folhas em senescência. Outros fatores que favorecem a infestação das pragas são os fatores ambientais, utilização de tratamentos culturais inadequados e utilização em grandiosidade de diversos defensivos agrícolas para combater as pragas (Ferreira & Filho, 2007).

2.3 *Brassolis sophorae* (Lepidoptera: Nymphalidae)

Dentre os insetos que atacam o coqueiro, a lagarta-das-folhas, *B. sophorae*, vem se destacando por causar grande desfolhamento e queda prematura dos frutos. Esse inseto é amplamente distribuído no Brasil e ocorre com frequência nas culturas de coco do estado de Sergipe (Ferreira et al., 1998).

O adulto de *B. sophorae* é uma borboleta grande, de 6,0 a 10,0cm de envergadura, com asas anteriores e posteriores de coloração marrom atravessada por uma faixa laranja que difere na fêmea por ser mais larga e em forma de Y. As fêmeas depositam massas de ovos, geralmente, na face inferior dos folíolos, e às vezes, sobre os frutos e no estipe; o período de

incubação dos ovos varia de 20 a 25 dias. O ciclo larval dura em torno de 80 a 120 dias (Zamith, 1962; Ferreira & Filho, 2007).

Na sua fase larval é conhecida como lagarta-das-folhas, possuindo uma cabeça castanho-avermelhada e corpo com listras longitudinais marrom escuras e claras, recoberto por fina pilosidade, podendo atingir de 6,0 a 8,0cm de comprimento. (Zamith, 1962; Ferreira & Filho, 2007). Nessa fase, *B. sophorae* é considerada praga, pois ao se alimentar, as lagartas causam intenso desfolhamento, podendo levar a planta a possuir apenas as nervuras centrais dos folíolos e a ráquis de cada folha. Conseqüentemente, o ataque desse inseto resulta em uma redução na área fotossintética, fazendo com que a planta aborte os frutos e causando uma queda na sua produção (Cuenca, 2007).

As lagartas no campo são facilmente detectadas pelo desfolhamento da planta, presença de ninhos e de excrementos no chão. Elas apresentam um comportamento gregário e têm hábito crepuscular, permanecendo durante o dia, abrigadas no interior de ninhos que fazem unindo os folíolos com fios de seda, saindo para forragear somente no período crepuscular (Ferreira & Filho, 2007). Devido ao fato das lagartas permanecerem dentro de ninhos e saírem para forragear em um curto espaço de tempo, seu controle se torna difícil, justificando desta maneira a necessidade de novas estratégias de manejo para essa praga.

2.4 *Winthemia analis* (Diptera: Tachinidae)

A espécie foi descrita originalmente por Macquart (1846) a partir de um espécime macho de Minas Gerais, posteriormente Reinhard (1931) ampliou esta descrição, a partir de uma macho da Bolívia, em sua revisão do gênero *Winthemia*. A biologia e comportamento desta espécie ainda é muito pouco conhecida, sendo justificada a necessidade de estudos posteriores devido a importância que *W. analis* pode apresentar como agente natural de controle biológico (Marcicano et al., 2009; Greeney et al., 2011).

O gênero *Winthemia* é amplamente distribuído, apresentando ocorrência em todas as maiores regiões biogeográficas do mundo (O'Hara, 2014). Todas as espécies deste gênero parasitam lagartas de lepidópteros (Arnaud, 1978; Janzen & Hallwachs, 2009) e tem sido registrado parasitando espécies das famílias Nymphalidae, Noctuidae, Geometridae, sendo todas estas espécies de importância agrícola (Calvo, 2004; Delfín-González et al., 2007; Safaralizadeh & Karimpour, 2007; Greeney et al., 2011).

O gênero *Winthemia* pertence à Tachinidae, a qual é uma das mais diversas dentre as famílias da ordem Diptera com aproximadamente 10.000 espécies descritas em todo o mundo (Irwing et al., 2003). Todos os taquinídeos, com historia de vida estudada, parasitam insetos e

outros artrópodes. Esta família é considerada a mais importante dentre os dípteros que apresentam hábito entomófago, devido ao fato de suas larvas serem endoparasitoides de insetos herbívoros de importância agrícola pertencentes as ordens Lepidoptera, Hymenoptera, Coleoptera, Hemiptera e Orthoptera, contribuindo desta maneira para o controle populacional natural de diversas espécies (Arnaud, 1978; Grenier, 1988; Stireman et al., 2006).

2.5 Morfometria Geométrica

A morfometria nos proporciona analisar de forma quantitativa, por meio de métodos estatísticos, variações morfológicas de determinadas estruturas nos organismos (Klingenberg, 2002).

A análise morfométrica é dividida em duas subclasses, morfometria geométrica e morfometria convencional. A morfometria convencional consiste da análise da existência de variação de distâncias obtidas a partir de marcos anatômicos homólogos presentes na estrutura estudada. Já a morfometria geométrica consiste da representação geométrica da estrutura a ser estudada, podendo ser de forma bidimensional ou tridimensional, a partir de coordenadas obtidas da marcação de marcos anatômicos homólogos em indivíduos diferentes (Rohlf & Marcus, 1993).

Esta técnica consiste da obtenção de coordenadas posicionais através de marcos anatômicos, estes dados são transferidos para um programa de análises morfométricas, onde os passos de superposição, rotação e proporcionalização são realizados. Após estes ajustes, os dados alinhados formam um grupo de variações referentes à forma das estruturas (Cooke & Terhune, 2015). A morfometria geométrica tem sido utilizada com sucesso em estudos biológicos utilizando organismos de diversos táxons para analisar a existência de variações morfológicas entre indivíduos (Nunes et al., 2012; Fabre et al., 2014; Xuefei et al., 2014; Oleksa & Tofilski, 2015).

A morfometria geométrica é uma técnica precisa e com baixo custo de aplicação para a reconhecimento de espécies (Francoy & Imperatriz Fonseca, 2010). Alguns estudos têm realizado análises por meio de morfometria geométrica das asas de algumas espécies de dípteros, com o objetivo de evidenciar diferenças morfológicas dentro de populações ou entre estas (Moratore, 2009; Devicari et al., 2011; Silveira, 2011). No entanto, até o determinado momento para *W. analis* não foi realizado nenhum estudo utilizando a morfometria geométrica como ferramenta para evidenciar variações morfológicas entre os indivíduos desta espécie.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

O presente trabalho tem como objetivo verificar a liberação de voláteis de *Cocos nucifera* induzidos pela herbivoria de lagartas de *Brassolis sophorae* e estudar a biologia do parasitoide *Winthemia analis*.

3.2 Objetivos específicos

- Verificar se plantas de *C. nucifera* sob herbivoria de lagartas de *B. sophorae* liberam compostos diferentes das plantas sem dano ou com dano mecânico;
- Caracterizar os perfis dos voláteis emitidos por *C. nucifera*;
- Testar a atratividade dos adultos de *W. analis* por voláteis de *C. nucifera* induzidos pela herbivoria de *B. sophorae*;
- Estudar o tempo de desenvolvimento dos diferentes estágios do ciclo de vida de *W. analis*;
- Evidenciar dimorfismo sexual em *W. analis* por meio de análise morfológica dos adultos e de morfometria geométrica alar.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Mudas de *Cocos nucifera*

As mudas de *C. nucifera* foram fornecidas pela fazenda H. DANTAS – COCO VERDE DE SERGIPE, sediada em Neópolis/SE, e mantidas em um viveiro telado (3x2x4m) localizado na área externa do Bloco “A” do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS) da Universidade Federal de Sergipe (UFS) com o objetivo de minimizar a ação de herbívoros. As mudas foram plantadas em vasos de jardinagem (10 litros) contendo uma camada de brita no fundo coberta por uma mistura de terra com esterco mais super fosfato-simples e areia, na proporção de 2 litros de areia para cada 5 litros de terra (Figura 1). As plantas foram regadas diariamente, para que não sofressem com o estresse hídrico. Também foi aplicado no solo, sempre que necessário, 10g de NPK 10-10-10 (10% de N, 10% de P₂O₅, 10% de K₂O) para auxiliar no desenvolvimento das mudas. Para diminuir a ação de herbívoros, sempre que necessário, foi pulverizado sobre as mudas de coqueiro uma solução contendo 50ml de um pesticida natural (pimenta do reino, mamona e sementes maceradas de *Azadirachta indica*, vulgarmente conhecida como nim) e 4ml de detergente neutro diluídos em 2 litros de água ou uma solução de 500ml de óleo de nim (diluído em água pronto para uso). Após a aplicação de qualquer solução, foi respeitado um tempo de carência mínimo de um mês para que as mudas fossem utilizadas nos experimentos. Foi essencial respeitar o período de carência para que durante o processo de extração dos voláteis, as plantas não possuíssem resíduos de quaisquer das soluções aplicadas.



Figura 1 – Esquema do plantio das mudas de *Cocos nucifera* em vasos de jardinagem contendo uma camada de brita no fundo coberta por uma mistura de terra com esterco mais super fosfato-simples (5l) e areia (2l).

4.2 Criação do herbívoro *Brassolis sophorae*

Foi mantida uma criação massal de *B. sophorae* a partir de lagartas em diferentes estágios de desenvolvimento coletadas na fazenda H. DANTAS – COCO VERDE DE SERGIPE em Neópolis e em sítios de produção de coco em Pirambu/SE e Itabaiana/SE. As lagartas coletadas foram mantidas no Laboratório de Entomologia da UFS em recipientes plásticos contendo folhas de coqueiro até atingirem o estágio de pupa, estas foram introduzidas em um viveiro telado (3x2x4m) localizado na área externa do Bloco “A” do CCBS da UFS até a emergência dos adultos.

Dentro do viveiro telado foram colocadas mudas de coqueiro de diferentes idades, para que os adultos de *B. sophorae* realizassem o acasalamento e posterior oviposição das fêmeas. Os ovos foram transferidos do viveiro para o laboratório onde foram acondicionados em placas de Petri forradas com papel filtro umedecido com água destilada e vedadas com papel filme transparente até a eclosão das lagartas. Estas foram transferidas com o auxílio de um pincel macio para recipientes plásticos contendo folhas de coqueiro até atingirem o estágio de pupa.

4.3 Obtenção dos parasitoides *Winthemia analis*

Pupas parasitadas de *B. sophorae*, coletadas em diversas plantações de coqueiro do estado de Sergipe foram separadas e mantidas em recipientes plásticos até a emergência de larvas de *W. analis* (Figura 2a). As pupas parasitadas foram identificadas por apresentarem uma coloração mais escura que as pupas sadias (Figura 2a e 2b) e pela falta de movimentação ao serem tocadas. Após a formação das pupas de *W. analis* (Figura 2d), estas foram individualizadas em pequenos recipientes plásticos (50ml) forrados com papel filtro umedecido com água destilada e mantidas em uma incubadora (LT 320 TFP-I) com fotoperíodo de 12h:12h claro/escuro, temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade de $65 \pm 10\%$. Após a emergência, os adultos foram alimentados com um algodão embebido em solução de melão diluído a 2%.

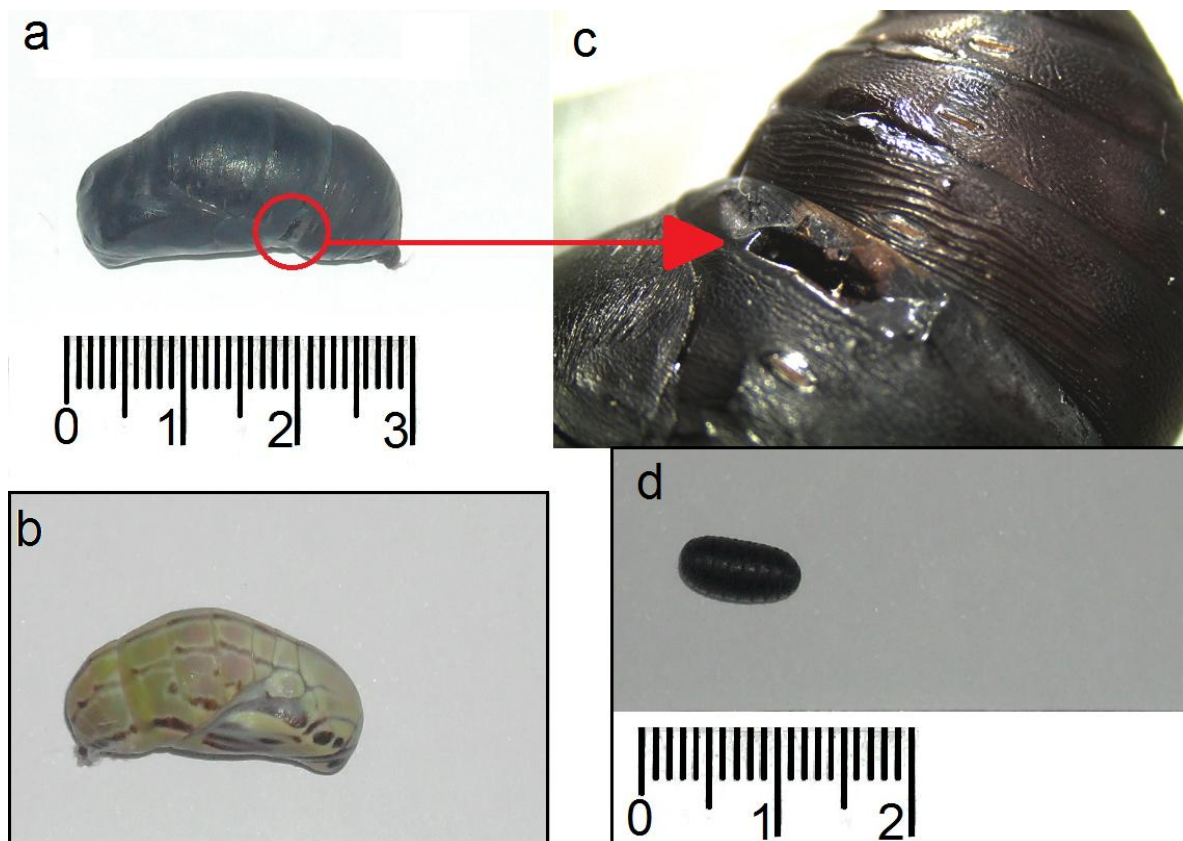


Figura 2 – Diferença do aspecto entre pupa de *Brassolis sophorae* (a) parasitada e (b) não parasitada, (c) orifício de emergência da larva de *Winthemia analis* e (d) pupa de *Winthemia analis*.

4.4 Coleta dos voláteis de *Cocos nucifera*

Para a coleta dos voláteis foi utilizada a técnica de aeração, que consiste na passagem do fluxo de ar previamente filtrado e umedecido por uma câmara onde a planta sob um determinado tratamento está confinada. Todos os voláteis liberados pela planta são carregados e adsorvidos por polímeros especiais localizados na saída da câmara. Posteriormente os voláteis retidos no adsorvente são dessorvidos por eluição, utilizando-se solventes com alto grau de pureza, e armazenados para análises futuras (Zarbin et al, 1999).

O sistema para a coleta dos voláteis foi constituído por dois compressores de ar (um realizando pressão no início do sistema e o outro vácuo no fim do sistema) responsáveis por gerar o fluxo contínuo de ar, duas colunas de carvão ativo e uma proveta com água destilada na entrada do sistema que purificaram e umedeceram o ar, um fluxômetro que manteve a vazão do ar em 3L min^{-1} na entrada da câmara e um fluxômetro que manteve uma vazão de 3L min^{-1} na saída da câmara (Figura 3). As câmaras, nesse caso, consistiram de sacos de poliéster envolvendo uma folha do coqueiro com a aplicação de um dos tratamentos (Figura 4). Todos os voláteis liberados pela folha foram carregados pelo ar e ficaram retidos em uma coluna contendo 0,1g de adsorvente Porapak Q (80/100mesh) localizada na saída do saco.

Para dessorção dos compostos retidos na coluna foi utilizado como solvente 1,5ml de hexano HPLC bidestilado. Os extratos obtidos foram concentrados a 400µl, armazenados em recipientes de vidro de 1,5ml e acondicionados em freezer a -18°C para posteriores análises e uso nos bioensaios de olfatometria.

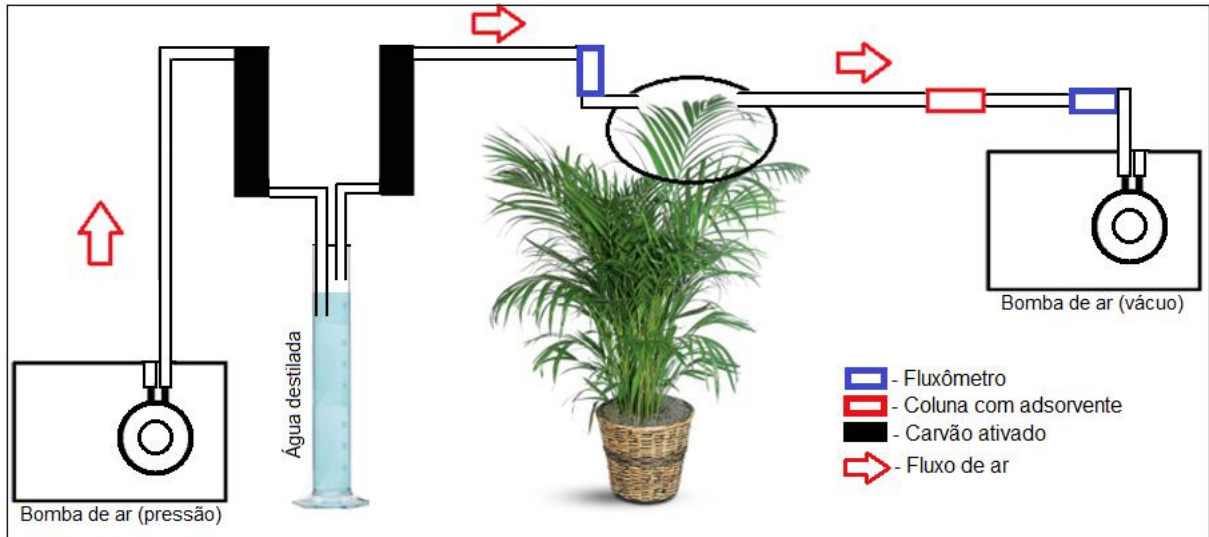


Figura 3 – Sistema de aeração utilizado para coletar os compostos voláteis orgânicos liberados por mudas de *Cocos nucifera* sob três diferentes tratamentos (planta sadia, planta com dano mecânico e planta sob herbivoria de lagartas de *Brassolis sophorae*).

Para a coleta dos voláteis liberados pelo coqueiro foram utilizadas mudas com aproximadamente 15 a 24 meses de idade previamente tratadas e mantidas no viveiro. Foram utilizados três tratamentos para determinar o efeito da herbivoria de *B. sophorae* sobre a liberação de voláteis nas mudas de coqueiro: I – planta sadia (N = 11); II – planta com dano mecânico (N = 3); III – planta sob herbivoria de lagartas de *B. sophorae* (N = 7). As folhas de coqueiro foram aeradas por um período de 48h ininterruptamente após a aplicação de cada tratamento.



Figura 4 – Folha de muda de *Cocos nucifera* envolvida com saco de poliéster utilizado como câmara do sistema de aeração.

No tratamento I uma folha da muda do coqueiro foi limpa somente com água destilada, utilizando um borrifador, e seca com papel toalha antes de ser aerada. No tratamento II a folha também foi limpa conforme descrito no tratamento I e foram realizados quinze injúrias de 2cm², com um auxílio de uma régua e uma tesoura, totalizando um dano de 30cm² por folha antes de ser aerada. Para a realização do tratamento III foram isoladas vinte lagartas de *B. sophorae* em último ínstar, estas foram mantidas 24h sem alimento e posteriormente alocadas sobre a folha previamente limpa e deixadas por aproximadamente 50min. Este tratamento foi feito no período crepuscular, horário que normalmente se observa as lagartas se alimentando no campo e no laboratório. Após esse procedimento as lagartas foram removidas, a folha foi envolvida com o saco de poliéster e iniciou-se a aeração.

4.5 Análise química e identificação dos compostos

As amostras obtidas a partir da aeração das mudas de *C. nucifera* foram concentradas para 400µl sob um suave fluxo de ar sintético e foram analisadas por cromatografia gasosa

acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) (Shimadzu QP2010 Plus equipado com uma coluna RTX-5 30 m×0.25 mm d.i.; Restek, Bellefonte, PA, USA). O volume de injeção dos extratos foi de 1µl no modo “splitless” (temperatura do injetor 250° C; injetor automático AOC 20i, Shimadzu). O gás hélio foi utilizado como gás de arraste e a pressão na cabeça da coluna foi de 170kPa. A temperatura do forno da coluna foi mantida a 40°C por 1min, com rampa de aquecimento 7°C min⁻¹ até atingir a temperatura de 250°C, e mantida por 10min. A contribuição do composto induzido pela herbivoria em cada amostra de planta sob herbivoria de lagartas de *B. sophorae* e planta com dano mecânico foi calculada como uma porcentagem de acordo com a metodologia seguida por Geervliet et al. (1997), dividindo a área do pico do composto induzido pela herbivoria pela área total dos picos dos compostos identificados na amostra. A identificação dos compostos foi realizada por comparação dos Índices de Kovats (KI) calculados e espectros de massas de cada composto com a literatura e biblioteca de referências. Além disso, para 6-metil-5-hepten-2ona, Geranyl acetona e Decanal, compostos sintéticos foram coinjetados e seus tempos de retenção e espectros de massas foram comparados com as amostras.

4.6 Bioensaios de olfatométria

A resposta comportamental dos parasitoides *W. analis* aos extratos de plantas sob herbivoria de lagartas de *B. sophorae* foi testada em um olfatômetro em Y com 2,5cm de diâmetro, tubo principal com 14cm de comprimento bifurcado em dois braços de 11cm. O bioensaio foi operado com um fluxo de ar contínuo com uma vazão de 2L min⁻¹ previamente umidificado e filtrado com carvão ativo. Antes dos testes foi realizada uma simulação da propagação do odor para visualizar a distribuição da pluma dentro do sistema. Para isto, ácido clorídrico e hidróxido de amônio foram misturados, gerando uma fumaça fria, seguindo o método descrito por Baker & Linn (1984).

Em um dos braços menores do olfatômetro foi introduzido como fonte de odor um pedaço de papel filtro, medindo 1,5cm de largura e 3cm de comprimento, contendo 20µl do extrato obtido a partir da aeração de plantas sob a herbivoria de lagartas de *B. sophorae*, no outro braço foi introduzido um pedaço de papel filtro contendo 20µl de hexano, utilizado como controle. Um indivíduo, macho ou fêmea, foi introduzido na base do olfatômetro e seu comportamento observado durante doze minutos. Foi registrado como escolha para determinada fonte de odor quando o inseto se direcionou para um dos braços menores do olfatômetro, passando pelo menos 5cm após a divisão com o tubo principal. Após no máximo dez testes o olfatômetro foi lavado com detergente neutro e água, enxaguado com álcool e

água destilada e posteriormente colocado na estufa a 120°C por no mínimo uma hora para evitar contaminação. A cada quatro repetições a posição dos tratamentos foi alternada, girando o olfatômetro para evitar que os insetos se habituassem a um dos lados.

Após a emergência dos adultos, machos e fêmeas de *W. analis* foram mantidos em uma gaiola (40x40x40cm) sendo alimentados com solução de melão diluído em água, por no mínimo 24h antes, com a finalidade de garantir que os adultos testados estivessem acasalados. Aproximadamente 4h antes dos testes os adultos foram individualizados em potes de 50ml e mantidos na sala de realização dos experimentos até o horário dos testes (14h as 17h), que estava climatizada a uma temperatura entre $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade de 55%.

4.7 Biologia de *Winthemia analis*

4.7.1 Ciclo de vida

Das lagartas de *B. sophorae* obtidas em campo, foram separadas 28 pupas parasitadas (Figura 2a) e registrados os seguintes dados: I - número de larvas de *W. analis* por pupa de *B. sophorae* parasitada, II - tempo de emergência das larvas de *W. analis* após a lagarta de *B. sophorae* empupar, III - duração da fase de pupa e IV – longevidade dos adultos de *W. analis*.

4.7.2 Dimorfismo sexual

Para a análise do dimorfismo sexual alar por meio da morfometria geométrica, foram dissecadas as asas direitas de 22 indivíduos (11 fêmeas e 11 machos), com o auxílio de um estereomicroscópio óptico Motic (SMZ – 168 series), utilizando duas pinças de pontas finas para a separação das mesmas. As asas foram fixadas entre duas lâminas de vidro e vedadas com fita adesiva para manter as estruturas planas, a fim de obter uma melhor captura da imagem. Para a captura das imagens das asas foi utilizado um estereomicroscópio Leica EZ4D com ampliação de 10X utilizando o programa Leica Application suite versão 1.6.0. Em cada asa foram marcados 14 marcos anatômicos homólogos (Figura 5), utilizando inicialmente o programa TpsUtil versão 1.46 e em seguida o software TpsDig2 versão 2.16. Além da análise de morfometria geométrica, também foi realizada uma análise morfológica, com o intuito de verificar a existência de novos caracteres que comprovem o dimorfismo sexual. Apesar de já existir uma característica (cerdas fronto-orbitais presentes somente nas fêmeas) que separe machos e fêmeas utilizado por Marcicano et al. (2009), porém difícil de ser observado.

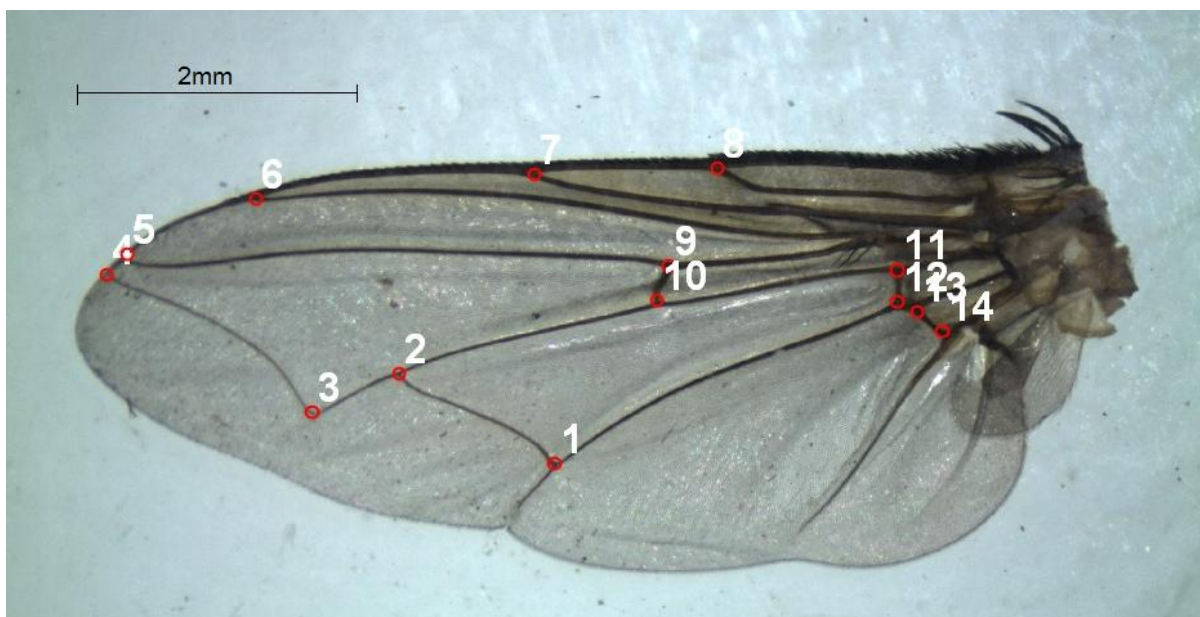


Figura 5 – Asa direita de *Winthemia analis* com os 14 marcos anatômicos utilizados para analisar a existência de dimorfismo sexual alar.

4.8 Análises estatísticas

Comparações entre as respostas comportamentais dos insetos em olfatômetro em Y para os extratos obtidos na aeração versus o controle foram feitos por meio de teste binomial. Indivíduos que não escolheram nenhum dos braços foram excluídos da análise estatística. Para analisar a diferença na contribuição do composto induzido pela herbivoria entre as amostras de planta com sob herbivoria de lagartas de *B. sophorae* e planta com dano mecânico foi realizado o teste T. O programa estatístico utilizado foi o R (R Development Core Team 2014).

Os dados obtidos através do software TpsDig2 foram levadas ao programa MorphoJ (versão 1.02e), posteriormente foram realizadas uma ANOVA de Procrustes e uma análise de função discriminante (DFA) afim de verificar a existência de dimorfismo sexual alar.

5. RESULTADOS

5.1 Compostos orgânicos voláteis liberados por *Cocos nucifera*

A partir das amostras obtidas da coleta dos compostos orgânicos voláteis emitidos pelas plantas de *C. nucifera* foi possível identificar cinco compostos (**A**, **B**, **C**, **D** e **E**). As análises dos extratos no CG-EM mostraram que existe diferença qualitativa entre os tratamentos, planta sadia, planta sob herbivoria de lagartas de *B. sophorae* e planta com dano mecânico (Tabela 1).

Tabela 1 – Identificação e frequência de compostos orgânicos voláteis presentes nas amostras obtidas a partir da aeração de folhas de mudas de *C. nucifera* sob os seguintes tratamentos: planta sadia = P.S.; planta com dano mecânico = P.D.M. e planta sob herbivoria de lagartas de *B. sophorae* = P.H.B.

Composto	R.T.	K.I.	Tratamento			
			P.S. (n=11)	P.D.M. (n=3)	P.H.B. (n=7)	
Terpenóide						
Composto A	DMNT	11,152	1118	0	2	7
Aldeídos						
Composto C	Nonanal	10,874	1106	11	3	7
Composto D	Decanal	13,001	1207	11	3	7
Cetonas						
Composto B	6-metil-5-hepten-2ona	8,334	986,2	11	3	7
Composto E	Geranil acetona	17,749	1458	11	3	7

n – número de repetições realizadas por tratamento

R.T. – tempo de retenção em minutos

K.I. – índice de kovats

O composto **A** esteve presente em todos os extratos de planta sob herbivoria de lagartas de *B. sophorae* e em dois dos três extratos de planta com dano mecânico, seu tempo de retenção (Rt) e índice de kovats (KI) em coluna RTX-5 foram: Rt = 11,152min e KI = 1118. O espectro de massas do composto **A** revelou um pico base de m/z 69 e íon molecular de 150 Da (Figura 6).

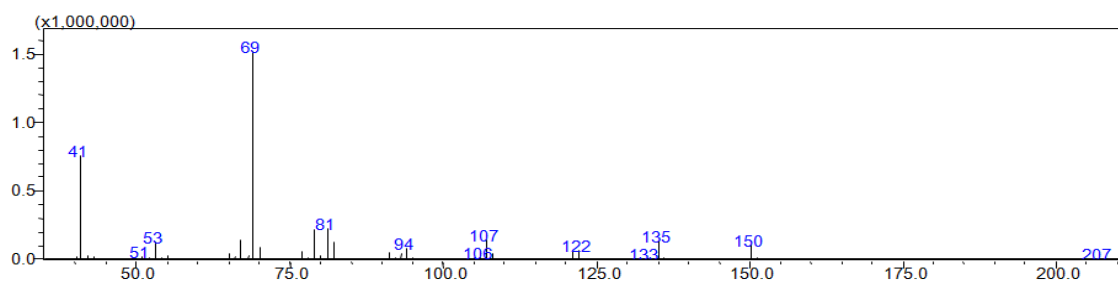


Figura 6 – Espectro de massas do composto **A** emitido por mudas de *Cocos nucifera* 48h após a aplicação dos seguintes tratamentos: Planta sadia, Planta com dano mecânico e Planta sob herbivoria de lagartas de *Brassolis sophorae*.

Comparações dos espectros de massas com a biblioteca NIST indicaram que o composto **A** seria o terpenóide (*E*)-4-8-dimetil-1,3,7-nonatrieno, a comparação de seu KI com a literatura disponível (Kant et al., 2004) confirmou a identificação. O composto (*E*)-4-8-dimetil-1,3,7-nonatrieno (C₁₁H₁₈), conhecido como DMNT, é um homoterpeno acíclico produzido a partir do sesquiterpenóide (*E*)-nerolidol (Degenhardt & Gershenzon, 2000).

Além do composto **A** induzido nos tratamentos planta sob herbivoria de lagartas de *B. sophorae* e planta com dano mecânico, as análises no CG-EM mostraram que os compostos **B**, **C**, **D** e **E** estavam presentes em todos os extratos de planta sadia, planta com dano mecânico e planta sob herbivoria de lagartas de *B. sophorae* (Tabela 1), seus Rts e KIs em coluna RTX-5 foram os seguintes: composto **B**: Rt = 8,334min e KI = 986,2; composto **C**: Rt = 10,874min e KI = 1106; composto **D**: Rt = 13,001min e KI = 1207 e composto **E**: Rt = 17,749min e KI = 1458. O espectro de massas do composto **B** revelou um pico base de *m/z* 43 e íon molecular de 126 Da (Figura 7), do composto **C** revelou um pico base de *m/z* 57 e íon molecular de 124 Da (Figura 8) do composto **D** revelou um pico base de *m/z* 57 e íon molecular de 138 Da (Figura 9) e do composto **E** revelou um pico base de *m/z* 43 e íon molecular de 194 Da (Figura 10).

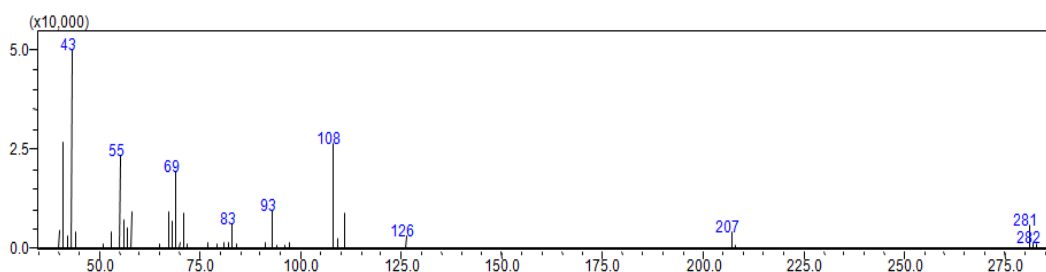


Figura 7 – Espectro de massas do composto **B** emitido por mudas de *Cocos nucifera* 48h após a aplicação dos seguintes tratamentos: Planta sadia, Planta com dano mecânico e Planta sob herbivoria de lagartas de *Brassolis sophorae*.

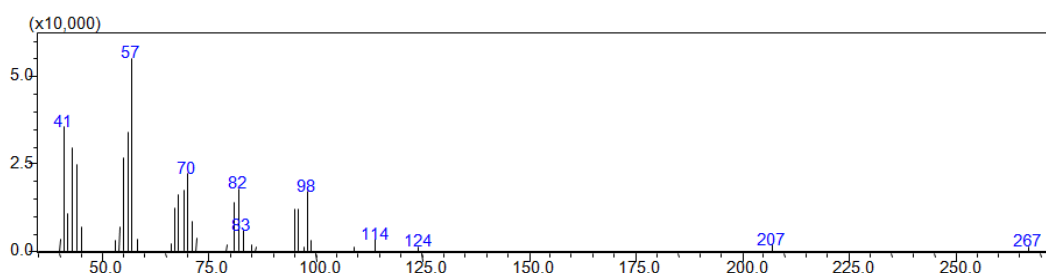


Figura 8 – Espectro de massas do composto **C** emitido por mudas de *Cocos nucifera* 48h após a aplicação dos seguintes tratamentos: Planta sadia, Planta com dano mecânico e Planta sob herbivoria de lagartas de *Brassolis sophorae*.

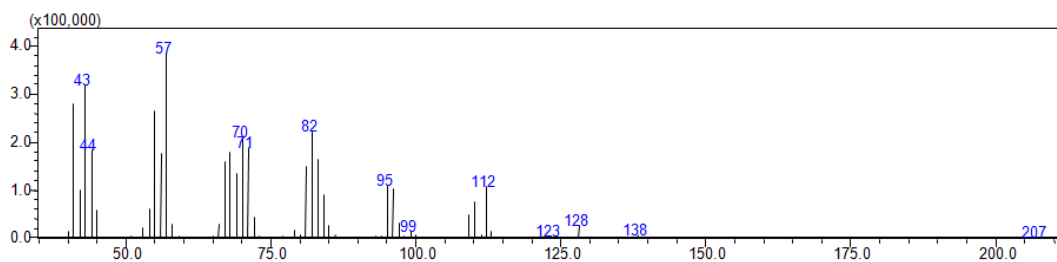


Figura 9 – Espectro de massas do composto **D** emitido por mudas de *Cocos nucifera* 48h após a aplicação dos seguintes tratamentos: Planta sadia, Planta com dano mecânico e Planta sob herbivoria de lagartas de *Brassolis sophorae*.

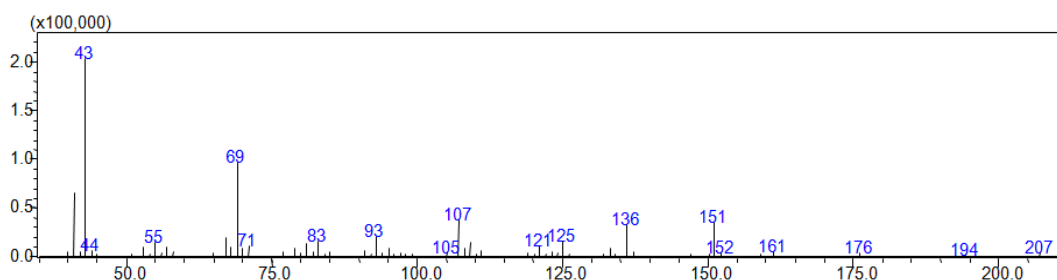


Figura 10 – Espectro de massas do composto **E** emitido por mudas de *Cocos nucifera* 48h após a aplicação dos seguintes tratamentos: Planta sadia, Planta com dano mecânico e Planta sob herbivoria de lagartas de *Brassolis sophorae*.

Comparações dos espectros de massas com a biblioteca NIST indicaram que o composto **C** seria o Nonanal, a comparação de seu KI com a literatura disponível (Högnadóttir & Rouseff, 2003) confirmou a identificação. As comparações dos espectros de massas dos compostos **B**, **D** e **E** com a biblioteca NIST indicaram que o composto **B** seria o 6-metil-5-hepten-2ona, o composto **D** seria o Decanal e o composto **E** seria o Geranyl acetona, a comparação de seus KIs com a literatura disponível (Högnadóttir & Rouseff, 2003; Adams, 2007) e a coinjeção de compostos sintéticos confirmaram a identificação.

A contribuição do DMNT nas amostras de *C. nucifera* sob dano mecânico foi de 13,35% e 10,04%, já nas amostras de *C. nucifera* sob herbivoria de lagartas de *B. sophorae* foi de 14,86%; 39,86%; 74,44%; 30,11%; 46,64% e 57,86%. O teste T revelou que existe diferença significativa entre os tratamentos ($p < 0,05$), ou seja, a contribuição do DMNT foi menor nas amostras de *C. nucifera* sob dano de lagarta em relação as de *C. nucifera* sob herbivoria de lagartas de *B. sophorae*.

5.2 Bioensaios de olfatosmetria

Foram utilizados 25 indivíduos (macho ou fêmea) nos bioensaios de olfatosmetria, os quais revelaram que não houve diferença significativa na atração de machos e fêmeas de *W.*

analis para os extratos provenientes da aeração de plantas sob herbivoria de *B. sophorae* ($p=0.4244$).

5.3 Biologia de *Winthemia analis*

5.3.1 Ciclo de vida

De 28 pupas parasitadas de *B. sophorae* emergiram 79 larvas do parasitoide *W. analis*. A taxa de emergência dos adultos de *W. analis* foi de aproximadamente 73%, sendo que das 79 pupas emergiram 58 adultos. O número mínimo e máximo de larvas de *W. analis* que emergiram por pupa de *B. sophorae*, foram respectivamente um e dez, sendo o número máximo observado em apenas uma pupa de *B. sophorae*, e o número mínimo em quatorze pupas de *B. sophorae*, com uma média de aproximadamente $2,8 \pm 0,49$ larvas por pupa (média \pm Erro padrão).

Quanto ao tempo mínimo e máximo para a emergência das larvas de *W. analis* após a formação da pupa de *B. sophorae*, foram respectivamente oito e quatorze dias, sendo o tempo máximo observado em oito larvas de *W. analis*, e o tempo mínimo em 45 larvas de *W. analis*, com uma média de aproximadamente $10,2 \pm 0,48$ dias (média \pm Erro padrão).

Também foi observado no ciclo de vida do parasitoide a duração da fase de pupa de 54 indivíduos e verificou-se duração mínima de sete dias e duração máxima de dezessete dias, o valor médio foi de aproximadamente $13,6 \pm 0,21$ dias (média \pm Erro padrão). A longevidade de quarenta adultos de *W. analis* foi analisada e constatou-se duração mínima de dois dias e duração máxima de 28 dias, sendo o valor médio de $10,9 \pm 1,07$ dias (média \pm Erro padrão).

5.3.2 Dimorfismo sexual

A análise de função discriminante mostrou que não existe diferença quanto ao tamanho generalizado das asas ($p=0,9259$) (Figura 11), porém há diferença significativa no que se refere à forma das asas ($p<0,0001$) (Figura 12). Os testes de validação cruzada permitiram a identificação do sexo dos indivíduos com 81,81% de acerto.

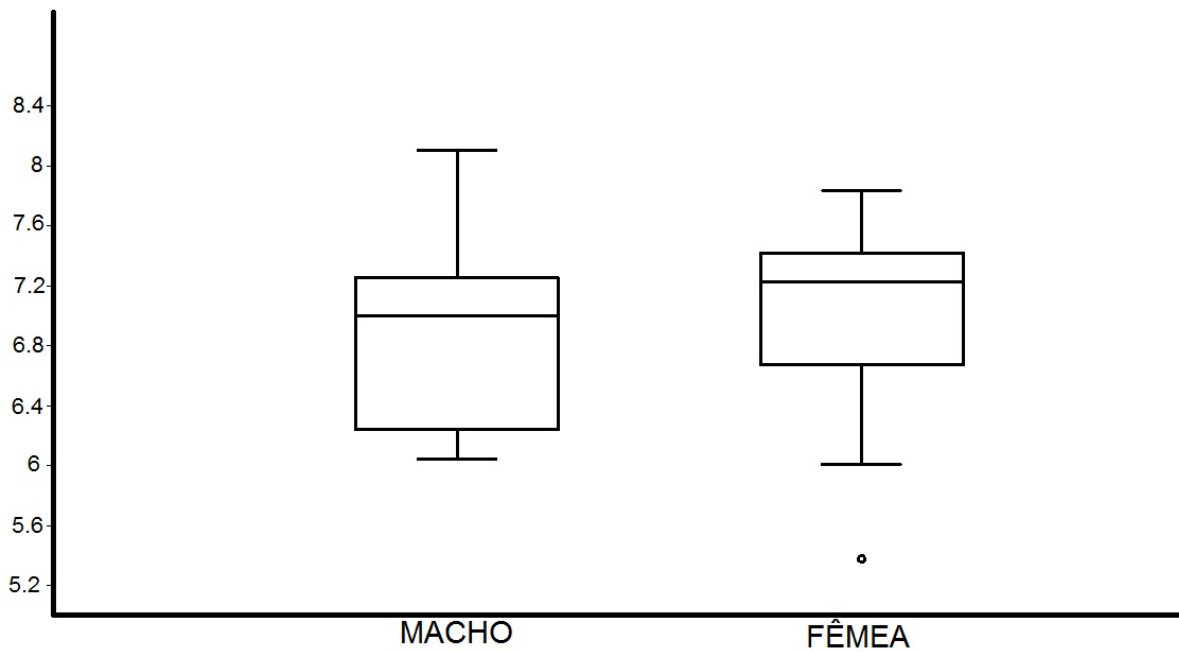


Figura 11 – Comparação gráfica dos tamanhos de centróide da asa entre os grupos macho e fêmea *Winthemia analis*.

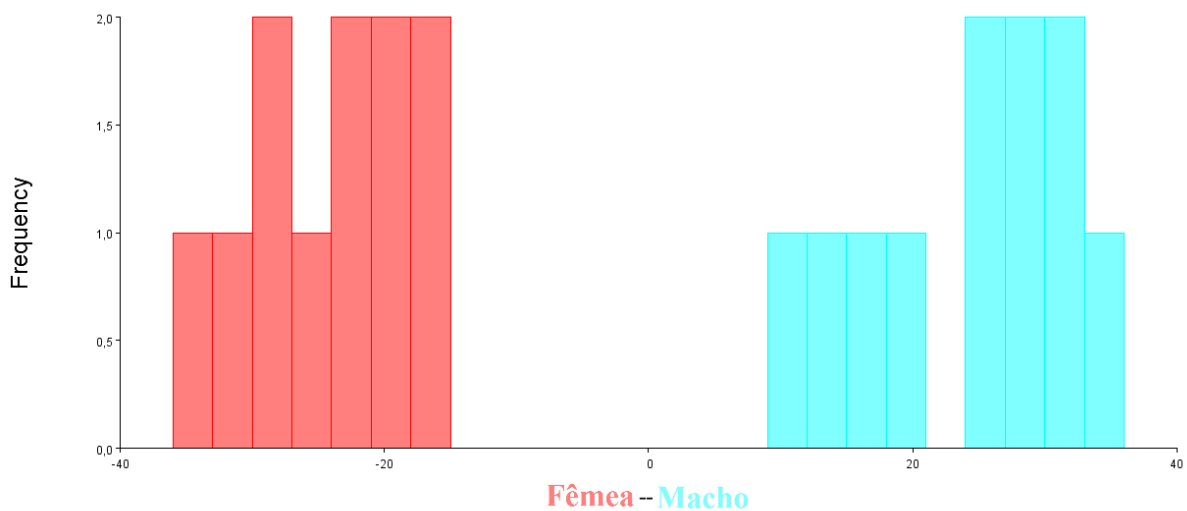


Figura 12 – Gráfico da análise de função discriminante (DFA) utilizada para comprovar a existência de dimorfismo sexual alar em *Winthemia analis*.

A distância de Mahalanobis entre os sexos foi de 6,9505. Observando-se o formato das asas geradas após sobreposição de Procrustes percebe-se que machos e fêmeas diferiram na forma, sendo que a maior divergência foi observada nos marcos anatômicos 1, 3, 6 e 7 (Figura 13).

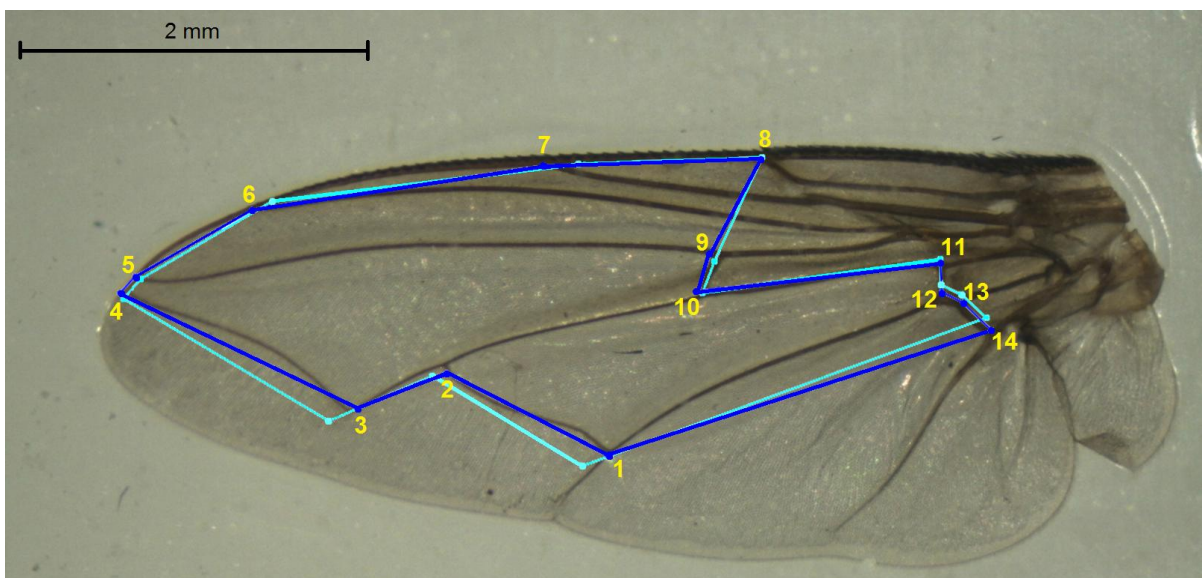


Figura 13 – Diferença de forma entre as asas de machos e fêmeas de *Winthemia analis* (fator de escala 2.0).

Para análise das características morfológicas foram utilizados 115 indivíduos e foi encontrado dimorfismo sexual evidente no abdômen, onde os machos (n=50) possuem cerdas longas e volumosas em formato de gotas. Já as fêmeas (n=65) possuem suas cerdas menores e menos volumosas, possibilitando a visualização da polinosidade no penúltimo tergito (Figura 14).

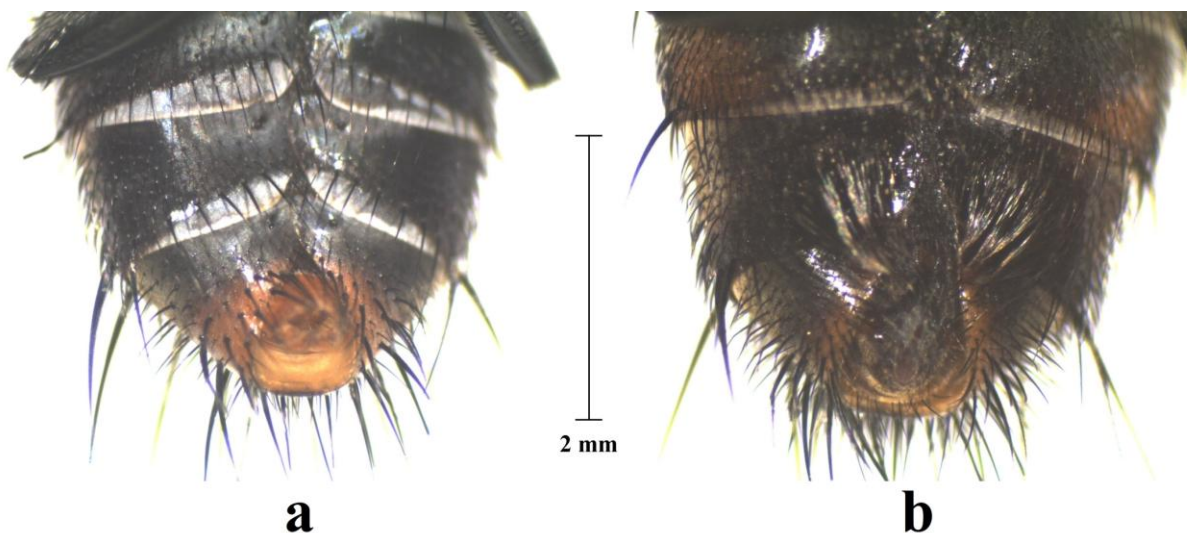


Figura 14 – Vista ventral do abdômen de *Winthemia analis*. (a) fêmea e (b) macho.

6. DISCUSSÃO

6.1 Compostos orgânicos voláteis liberados por *Cocos nucifera*

O homoterpeno (*E*)-4-8-dimetil-1,3,7-nonatrieno, conhecido como DMNT, liberado pelas plantas de *C. nucifera* sob herbivoria de lagartas de *B. sophorae* e com dano mecânico, tem sido frequentemente encontrado em diversas interações entre plantas e herbívoros. Já foi observado que plantas de feijão fava, *Phaseolus lunatus*, infestadas pelo ácaro *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) liberam o (*E*)-4-8-dimetil-1,3,7-nonatrieno (Dicke et al., 1990). Além da herbivoria, a oviposição também pode induzir a emissão desse composto, como encontrado em plantas da espécie *Ulmus minor* (Ulmaceae) com posturas do coleóptero *Xanthogaleruca luteola* (Chrysomelidae) (Büchel et al., 2011). O DMNT também já foi identificado em amostras obtidas a partir da coleta de voláteis de cachos de uva sem infestação de herbívoros (Tasin et al., 2006).

Diversas pesquisas tem demonstrado que o DMNT é um composto envolvido na defesa indireta de algumas plantas, ou seja, esse composto é atrativo para diversas espécies de predadores e parasitoides dos herbívoros que estão se alimentando das plantas. Já foi observado, por exemplo, que fêmeas do ácaro predador *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae) foram mais atraídas para voláteis liberados por plantas de feijão fava infestadas pelo herbívoro *T. urticae* contendo o DMNT e para o DMNT sintético quando comparadas com o extrato da planta sem infestação (Dicke et al., 1990). Alguns bioensaios em olfatômetro e testes de campo também demonstraram que o parasitoide de ovos do herbívoro *X. luteola*, *Oomyzus galleruca* (Hymenoptera: Eulophidae), também apresentou alta atratividade para o homoterpeno (*E*)-4-8-dimetil-1,3,7-nonatrieno (Büchel et al., 2011).

Além de atuar atraindo inimigos naturais dos herbívoros, já foi demonstrado que o DMNT também pode interferir no comportamento de oviposição do herbívoro. Foi observado que folhas de plantas de feijão-de-lima emitindo, dentre outros compostos, o DMNT sofreram uma menor oviposição pelo herbívoro *T. urticae*, quando comparadas ao controle (Uefune et al., 2014).

Em contrapartida, o composto DMNT também pode estar envolvido na atração de herbívoros em algumas plantas. Experimentos com extratos contendo o DMNT, liberados por cachos de uva sem infestação de herbívoros desencadeou respostas nas antenas de mariposas fêmeas do herbívoro *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) e testes comportamentais em túnel de vento confirmaram que as mesmas são mais atraídas para esse extrato e para uma mistura de voláteis com o DMNT e mais dois terpenóides sintéticos, quando comparadas ao

controle (Tasin et al., 2006). As fêmeas de *L. botrana* podem utilizar este composto como estratégia para aperfeiçoar a localização da planta hospedeira e realizar a oviposição.

A presença do DMNT nas amostras de voláteis de *C. nucifera* sob dano mecânico pode ser corroborada pelo fato desse composto não ser liberado somente por plantas após a indução de um dano realizado por herbívoros, podendo também ser emitido por plantas sem dano ou danificada mecanicamente. Já foi observado que plantas de feijão-comum *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae) emitem o DMNT quando estão sadias, danificadas mecanicamente e sob a herbivoria de larvas e adultos de duas espécies de moscas-minadoras, *Liriomyza sativae* e *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae), apresentando apenas diferenças quantitativas para este composto entre os diferentes tratamentos (Wei et al., 2006).

O composto nonanal foi encontrado em todas as amostras de voláteis emitidas por *C. nucifera* nos diferentes tratamentos, independente da indução por lagartas de *B. sophorae*. Esse composto já foi identificado por Fang et al. (2011) como um composto volátil da folha do coqueiro.

O nonanal é um aldeído que ao ser emitido pela planta pode tanto desencadear atratividade como repelência ao herbívoro. Experimentos realizados utilizando a técnica de eletroantenografia (EAG) para verificar a resposta da mariposa *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae) aos compostos liberados por *Opuntia stricta* (Cactaceae) sem infestação constataram que dentre os compostos identificados, o nonanal desencadeou a segunda maior resposta nas antenas dos machos (Pophof et al., 2005). Um trabalho recente identificou os compostos voláteis liberados por sementes de milho e testou a resposta da mariposa *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae) à estes compostos por meio de EAG e testes comportamentais em túnel de vento. Dentre os compostos foram identificados o nonanal, um outro aldeído, o decanal e uma cetona, a geranyl acetona. Os testes em EAG revelaram que todos os compostos identificados desencadearam resposta nas antenas de machos e fêmeas de *S. cerealella* e os testes comportamentais em túnel de vento revelaram que a mistura de voláteis emitida por sementes de milho é atrativa para machos virgens e fêmeas acasaladas de *S. cerealella* (Fouad et al., 2013).

Também já foi verificada a liberação do nonanal e do decanal por folhas da castanheira da índia (*Aesculus hippocastanum*, Hippocastanaceae) sob o ataque da lagarta minadora, *Cameraria ohridella* (Lepidoptera: Gracillariidae). Esta mistura de compostos obtidas da castanheira influenciou no padrão de distribuição dos adultos de *C. ohridella* nas folhas de *A. hippocastanum*. Foi verificado que os adultos evitaram as folhas sob o ataque de lagartas de co-específicos no último estágio de desenvolvimento (Johne et al., 2006).

No presente trabalho a cetona 6-metil-5-hepten-2ona foi encontrada nas amostras de voláteis de *C. nucifera* sob os três diferentes tratamentos, diversos trabalhos mostram que esse composto tem sido identificado em plantas saudias ou após algum tipo de dano, agindo tanto como uma substância de defesa como atrativa para herbívoros. Para mudas de trigo (*Triticum aestivum*, Poaceae), por exemplo, quando foi verificada a liberação de compostos por plantas sem e com infestação de *Rhopalosiphum padi* (Hemiptera: Aphididae), observou-se que somente as plantas infestadas liberaram, dentre outros compostos, o 6-metil-5-hepten-2ona. Os bioensaios ainda revelaram que adultos de *R. padi* foram atraídos por voláteis de mudas de trigo sem dano e repelidos por voláteis de mudas de trigo infestadas por *R. padi*. Esta estratégia pode ter sido utilizada pelo herbívoro para evitar a competição (Quiroz et al., 1997). Esse tipo de comportamento também já foi demonstrado em fêmeas da mariposa *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), as quais foram repelidas por voláteis de plantas de milho (*Z. mays*) atacadas por co-específicos (Signoretti et al., 2012).

Experimentos verificando a interação entre plantas da espécie *Morus alba* (Moraceae) sadia, danificada mecanicamente e danificada por lagartas de *Hyphantria cunea* (Lepidoptera: Arctiidae) constatou que dentre outros, o composto 6-metil-5-hepten-2-ona, foi emitido somente por plantas danificadas mecanicamente e sob ataque do herbívoro. Esse composto desencadeou uma resposta nas antenas dos machos do herbívoro e testes em túnel de vento mostraram que os machos virgens foram significativamente mais atraídos por voláteis induzidos pela herbivoria de lagartas de *H. cunea* quando comparado ao controle (Tang et al., 2012).

Além de ser encontrado em amostras de voláteis liberados por plantas danificadas, já foi observado que a cetona 6-metil-5-hepten-2ona juntamente com a geranyl acetona foram emitidas por plantas saudias de *Veronica spicata* (Scrophulariaceae) e sob a herbivoria de lagartas e oviposição dos adultos de *Melitaea cinxia* (Lepidoptera: Nymphalidae). Houve um aumento na produção destes dois compostos após a herbivoria das lagartas, no entanto foi a oviposição que proporcionou uma maior produção destes compostos pela planta (Pinto-Zevallos et al., 2013). Experimentos com a planta *Vicia faba* (Fabeaceae) mostram que esta ao ser atacada pelo pulgão *Acyrtosiphon pisum* (Hemiptera: Aphididae) aumentou a produção do composto 6-metil-5-hepten-2-ona, o qual desencadeou uma forte resposta nas antenas do parasitoide *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Braconidae). Testes em túnel de vento mostraram que *A. ervi* foi mais atraído para os voláteis induzidos pela herbivoria de *A. pisum* em relação a planta sadia e pelo composto sintético 6-methyl-5-hepten-2-ona em relação ao controle (Du et al., 1997).

As plantas não são os únicos organismos que utilizam a cetona 6-metil-5-hepten-2-ona. Este composto também foi encontrado em glândulas abdominais de machos e fêmeas da borboleta *Agraulis vanillae* (Lepidoptera: Nymphalidae), sendo sugerido que este composto possa desempenhar papel de defesa contra predadores (Ross et al., 2001).

6.2 Bioensaios de olfatométria

A partir dos dados provenientes dos bioensaios em olfatômetro em Y não foi possível estabelecer uma interação tritrófica entre *C. nucifera*, *B. sophorae* e o parasitoide *W. analis*, contrastando com diversos estudos que têm demonstrado atratividade de predadores e parasitoides para compostos orgânicos voláteis induzidos pela herbivoria.

Observações comportamentais mostram que a resposta dos inimigos naturais aos voláteis de plantas pode ser afetada por fatores como a espécie da planta, a espécie e o estágio de vida do herbívoro que a danificou e a experiência prévia dos inimigos naturais a esses voláteis (Turlings et al., 1995; Dicke & Vet, 1999; Degen et al., 2004; Mumm et al., 2005). O comportamento de busca e seleção de hospedeiro utilizado pelas moscas da família Tachinidae ainda é pouco conhecido, o pouco que se sabe é que algumas espécies desta família são capazes de utilizar pistas olfativas, auditivas, visuais e táteis para encontrar seu hospedeiro (Stireman et al., 2006). Ao contrário de outros entomófagos, os parasitoides são dependentes de recursos finitos contidos em um único hospedeiro (Harvey, 2005). Por esta razão, os parasitoides necessitam de pistas químicas facilmente detectáveis e confiáveis para a localização do seu hospedeiro (Vet & Dick, 1992).

Uma das hipóteses que poderia explicar a falha na atração dos parasitoides aos voláteis liberados por *C. nucifera* sob a herbivoria de lagartas de *B. sophorae* seria o fato de que os horários de atividade, liberação e resposta a estímulos químicos dos insetos variam de acordo com a biologia de cada espécie. Os testes foram realizados no período entre 14h às 17h, horário que as lagartas estão dentro do ninho, uma vez que segundo Zanetti et al. (1999), as lagartas de *B. sophorae* apresentam comportamento de forrageamento crepuscular. O horário do teste foi escolhido devido os adultos de *W. analis* se apresentarem bastante ativos nesse período. Porém, provavelmente os adultos de *W. analis* realizem o comportamento de busca e seleção de seu hospedeiro no horário que as lagartas estão se alimentando. Apesar de alguns avanços referentes a biologia do parasitoide, pouco ainda se sabe sobre a ecologia e comportamento de *W. analis*.

O possível comportamento de busca e seleção de *W. analis* pelas lagartas de *B. sophorae* no horário em que as mesmas estão forrageando pode ser explicado pelo fato de que

durante a fotofase as lagartas estão agregadas em seu ninho. A agregação das lagartas em ambientes fechados pode dificultar a oviposição de *W. analis*, pois foi observado em laboratório que mediante a presença de adultos de *W. analis* as lagartas de *B. sophorae* aparentemente realizam um possível comportamento de defesa, agitando bruscamente a parte anterior do seu corpo. O mesmo comportamento já foi observado em algumas lagartas da família Sphingidae quando excitadas (Lima, 1950).

Outro fator que pode ter acarretado a falta de atratividade dos parasitoides, pode ser devido ao fato de que a coleta dos voláteis de *C. nucifera* foi realizada por 48h ininterruptas, desta maneira, estavam presentes nas amostras os voláteis liberados por *C. nucifera* durante períodos de luz (fotofase) e escuro (escotofase). Segundo Kesselmeier & Staudt (1999) a emissão dos compostos pode variar de acordo com a luz e a temperatura. Neste sentido, pode ser que uma mistura específica seja emitida por *C. nucifera* somente no horário da atividade do herbívoro, com as proporções corretas entre os compostos da planta (Bruce et al., 2005) e das lagartas. Esta mistura pode ser particularmente atrativa para os parasitoides.

Apesar do pouco conhecimento sobre a biologia de *W. analis* é possível que esta seja uma espécie de parasitoide generalista, espécies do gênero *Winthemia* já foram registradas parasitando lagartas das espécies *Eryphanis greeneyi* (Lepidoptera: Nymphalidae) (Greeney et al., 2011) *Caligo atreus* (Lepidoptera: Nymphalidae) (Calvo, 2004), *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) (Delfín-González et al., 2007) e *Nyssia graecarius* (Lepidoptera: Geometridae) (Safaralizadeh & Karimpour, 2007). Neste caso, a falta de atratividade dos adultos para os voláteis emitidos por *C. nucifera* sob a herbivoria de lagartas de *B. sophorae* pode ser explicada pela teoria da aprendizagem associativa. Esta teoria explica que durante o processo de busca e seleção, o parasitoide aumenta sua eficiência de busca após um contato prévio, aprendendo a associar a presença de seu hospedeiro por meio um estímulo experimentado no momento em que o mesmo foi localizado (Godfray, 1994). O parasitoide de ovos *Chrysonotomyia ruforum* (Hymenoptera, Eulophidae) não foi atraído para os voláteis liberados por *Pinus sylvestris* (Pinaceae) após a oviposição do herbívoro *Diprion pini* (Hymenoptera: Diprionidae) quando não foram previamente expostos às plantas com ovos do hospedeiro por um período de 24 horas (Mumm et al., 2005). As moscas de *W. analis* não tiveram contato prévio com as lagartas de *B. sophorae* e nem com os voláteis de defesa emitidos por *C. nucifera* sob a herbivoria das lagartas. Esta teoria é fortalecida quando o parasitoide é generalista.

No caso de ser um parasitoide especialista, o inseto poderia utilizar outras estratégias além dos voláteis para localizar seu hospedeiro, principalmente se a janela de tempo na qual o

herbívoro esta disponível para parasitar é pequena ou se as fêmeas de *W. analis* parasitarem somente lagartas em um instar específico. A especificidade da mistura de voláteis liberada pelas plantas pode variar também com o estágio de vida do herbívoro. Já foi verificado que fêmeas do parasitoide *C. kariyai* distinguem danos provocados por lagartas de *P. separata* somente até o quarto instar (Takabayashi & Dicke, 1996). No presente trabalho, para a indução dos voláteis de defesa foram utilizadas somente lagartas de último instar, portanto caso a oviposição de *W. analis* ocorra em um instar específico anterior ao último, é provável que ela necessite de uma mistura de voláteis provenientes de plantas de *C. nucifera* atacadas por lagartas nesse estágio.

Os resultados obtidos no olfatômetro também podem ser explicados pelo fato de que alguns adultos de *W. analis* sobreviveram até 28 dias em laboratório, desta maneira é possível especular que os adultos de *W. analis* não estejam maduros sexualmente em seus primeiros dias de vida. Foi observado para adultos de moscas da espécie *Anastrepha sororcula* (Diptera: Tephritidae) que os machos atingiram a maturidade sexual em $11,75 \pm 2,54$ (média \pm Erro Padrão) dias após sua emergência e as fêmeas $18,94 \pm 2,86$ (média \pm Erro Padrão) dias (Facholi-Bendassolli & Uchôa-Fernandes, 2006).

6.3 Biologia de *Winthemia analis*

6.3.1 Ciclo de vida

O número máximo e médio de larvas de parasitoides por pupa de *B. sophorae* parasitada diferiu dos resultados encontrados por Marcicano et al. (2009), os quais encontraram dezesseis larvas de *W. analis* emergindo de dez pupas parasitadas de *B. sophorae*, com uma média de 1,6 parasitoides por hospedeiro e um número máximo de três parasitoides por hospedeiro. Esta diferença pode ser explicada pelo fato de que os parasitoides descritos por Marcicano et al. (2009) estavam expostos a uma maior densidade de hospedeiros, desta maneira diminuindo o número de larvas por pupa parasitada. Alguns trabalhos mostram que a taxa de parasitismo pode variar em função da densidade do hospedeiro, do tempo de exposição e da distribuição no ambiente (Hassell & May, 1973; Foerster et al., 2001; Pratissoli et al., 2005). Devido ao fato da biologia de *W. analis* parasitando *B. sophorae* ainda ser pouco estudada, nada se sabe sobre o tempo para a emergência das larvas de *W. analis* após a formação da pupa de *B. sophorae*.

Os dados relacionados ao tempo de duração da fase de pupa obtidos para *W. analis* deve apresentar relação com a temperatura em que as pupas foram mantidas em laboratório, podendo este tempo ser diferente do observado no habitat natural. Pupas de duas espécies de

mosca, *Bactrocera carambolae* e *Bactrocera papaya* (Diptera: Tephritidae), foram analisadas em laboratório sobre diferentes temperaturas, variando de 15°C a 35°C. Foi observado para *B. carambolae* que a duração da fase das pupas aumentou de 7.7 dias quando mantidas a 30°C para 30.1 dias a 15°C e a duração da fase das pupas de *B. papaya* aumentou de 7.2 dias quando mantidas a 30°C para 29.1 dias a 15°C. Não foi registrada a emergência de nenhum adulto quando a temperatura mantida foi de 35°C (Danjuma et al., 2014).

Os dados obtidos neste trabalho com relação à longevidade dos adultos de *W. analis* corroboraram com os resultados observados para adultos da mosca *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). Os indivíduos foram criados em laboratório, sob condições controladas de temperatura ($26 \pm 1^\circ\text{C}$), umidade relativa (70% a 80%) e alimentados com a mesma dieta, apresentando duração da fase adulta de $27,1 \pm 25,45$ dias para fêmeas e $27,8 \pm 14,70$ dias para machos (Joachim-Bravo et al., 2010). A longevidade dos indivíduos de *W. analis* pode estar relacionada com o tipo de alimentação, temperatura e umidade relativa do ar a qual os insetos são submetidos. Alguns estudos têm demonstrado que estes fatores podem influenciar o ciclo de vida de algumas espécies de moscas (Fletcher, 1989; Joachim-Bravo et al., 2010; Danjuma et al., 2014).

6.3.2 Dimorfismo sexual

O dimorfismo sexual de forma alar mostrou-se evidente nos adultos de *W. analis* de uma mesma população, assim como observado em adultos de *Culex quinquefasciatus* e *Aedes scapularis* (Diptera: Culicidae) (Moratore, 2009; Devicari et al., 2011). Apesar de não ter existido diferença no tamanho do centróide nas asas entre machos e fêmeas de *W. analis* de uma mesma população, os indivíduos de *C. quinquefasciatus* apresentaram diferença no tamanho de centróide das asas entre machos e fêmeas da mesma população, sendo que as fêmeas apresentaram tamanho de centróide maior que os machos (Moratore, 2009). Já indivíduos de três diferentes populações de *Ae. scapularis* não apresentaram dimorfismo sexual de tamanho de centróide intrapopulacional, com exceção de uma população, onde as fêmeas apresentaram asas maiores (Devicari et al., 2011).

O resultado da análise de dimorfismo sexual alar entre adultos da mosca *Microcerella halli* (Diptera: Sarcophagidae) diferiu em parte dos resultados obtidos em *W. analis*, de maneira que os sexos de *M. halli* diferem entre si no que se refere ao tamanho do centróide e na forma alar, sendo que os machos apresentaram tamanho de centróide maiores do que as fêmeas (Silveira, 2011).

Os resultados encontrados em *W. analis* podem ser relacionados com a teoria sobre o desenvolvimento alar em *Aedes Aegypti* (Diptera: Culicidae). Esta teoria afirma que a forma alar em indivíduos de *Ae. aegypti* é uma característica herdável e sofre pouca influência por fatores ambientais, em contrapartida o tamanho alar, apesar de também ser herdável, pode ser facilmente influenciado pelas condições ambientais como densidade larval e quantidade de alimento (Jirakanjanakit et al., 2007; 2008), umidade relativa do ar (Morales-Vargas et al., 2010) e temperatura (Scott et al., 2000; Tsuda & Takagi, 2001). Resultados encontrados com *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae) também sugerem que a forma alar é uma característica menos sensível às variações ambientais do que o tamanho alar (Breuker et al., 2006).

De acordo com Devicari et al., (2011) a forma alar aparenta ser uma característica mais estável que o tamanho, desta maneira pode ser utilizada com maior confiabilidade na sexagem por meio da morfometria geométrica.

Alguns estudos com dípteros têm demonstrado o fato das asas desempenharem diferentes funções para ambos os sexos reflete em uma diferença de forma (Wekesa et al., 1998; Forattini, 2002). No caso de *W. analis* o formato das asas das fêmeas pode estar relacionado com a função de busca por um hospedeiro e oviposição, já o formato das asas dos machos deve estar relacionado com a reprodução.

A característica encontrada no penúltimo tergito dos machos, observada através da análise morfológica dos adultos de *W. analis*, já foi citada como um dimorfismo sexual presente em machos do gênero *Winthemia*, sendo denominado “sex patches” (Greeney et al., 2011). Porém nenhum registrado fotográfico foi realizado, mediante este fato o presente trabalho realizou este registro evidenciando a diferença no abdômen entre machos e fêmeas.

7. CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos neste trabalho foi possível concluir que os compostos orgânicos voláteis emitidos por *C. nucifera* sob herbivoria de lagartas de *B. sophorae* e com dano mecânico diferiram qualitativamente dos voláteis emitidos por *C. nucifera* sadia, sendo que as plantas sob herbivoria e com dano mecânico emitiram o homoterpeno (*E*)-4-8-dimetil-1,3,7-nonatrieno (DMNT). A contribuição do DMNT nas amostras de voláteis emitidos por *C. nucifera* sob herbivoria de lagartas de *B. sophorae* diferiu nas amostras de voláteis emitidos por *C. nucifera* com dano mecânico, de maneira que a contribuição do DMNT foi maior nas plantas de *C. nucifera* sob herbivoria de lagartas de *B. sophorae*.

Os bioensaios revelaram que os adultos de *W. analis* não apresentaram atratividade pelos extratos contendo voláteis emitidos por *C. nucifera* sob herbivoria de lagartas de *B. sophorae* quando comparados ao controle (hexano).

Os adultos de *W. analis* apresentaram dimorfismo sexual no que diz respeito a forma das asas, porém não apresentaram diferença de tamanho de centróide entre machos e fêmeas. A análise morfológica dos adultos constatou a existência de uma característica no abdômen dos machos, a qual pode ser utilizada como referência para confirmação do sexo em *W. analis*.

8. REFERÊNCIAS

- ADAMS, R.P. 2007. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. 4 ed. Illinois: Allured Publishing Corporation. 804 p.
- ALBORN, H.T.; JONES, T.H.; STENHAGEN, G.S.; TUMLINSON, J.H. 2000. Identification and synthesis of volicitin and related components from beet armyworm oral secretions. *Journal of Chemical Ecology*, 26: 203-220.
- ALBORN, H.T.; TURLINGS, T.C.J.; JONES, T.H.; STENHAGEN, G.; LOUGHRIN, J.H.; TUMLINSON, J.H. 1997. An elicitor of plant volatiles from beet armyworm oral secretion. *Science*, 76: 945-949.
- ARNAUD, P. H. Jr. 1978. A host-parasite catalog of North American Tachinidae (Diptera). *Miscellaneous Publications: United States Department of Agriculture*, 1319: 1-860.
- BAKER, T.C.; LIN, C.E. 1984. Wind tunnels in pheromone research. In: Hummel, H.E.; Miller, T.H. *Techniques in pheromone research*. New York: Springer-Verlag. p. 75-110.
- BALDWIN, I.T.; HALITSCHKE, R.; KESSLER, A.; SCHITTKO, U. 2001. Merging molecular and ecological approaches in plant – insect interactions. *Current Opinion in Plant Biology*, 4: 351-358.
- BALDWIN, I.T.; PRESTON, C.A. 1999. The eco-physiological complexity of plant responses to insect herbivores. *Planta*, 208: 137-145.
- BREUKER, C. J.; PATTERSON, J. S.; KLINGENBERG, C.P. 2006. A single basis for developmental buffering of *Drosophila* wing shape. *PLoS ONE*, 1(1): e7.
- BRUCE, T.J.A.; WADHAMS, L.J.; WOODCOCK, C.M. 2005. Insect host location: a volatile situation. *Trends in Plant Science*, 10(6): 269-274.

BÜCHEL, K.; MALSKIES, S.; MAYER, M.; FENNING, T.M.; GERSHENZON, J.; HILKER, M.; MEINERS, T. 2011. How plants give early herbivore alert: Volatile terpenoids attract parasitoids to egg-infested elms. *Basic and Applied Ecology*, 12: 403-412.

CALVO, R. 2004. Parasitoidismo por dípteros em larvas de *Caligo atreus* (Lepidoptera: Nymphalidae) en Cartago, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 52(4): 915-917.

COOKE, S.B.; TERHUNE, C.E. 2015. Form, Function, and Geometric Morphometrics. *The Anatomical Record*, 298:5–28.

CUENCA, M.A.G. 2007. A cultura do coqueiro - Importância econômica da cocoicultura no Brasil. Embrapa Tabuleiros Costeiros, Versão eletrônica: ISSN 1678-197X. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Coco/ACulturadoCoqueiro/importancia.htm>>. Acesso em: Janeiro de 2014.

DANJUMA, S.; THAOCHAN, N.; PERMKAM, S.; SATASOOK, C. 2014. Effect of temperature on the development and survival of immature stages of the carambola fruit fly, *Bactrocera carambolae*, and the Asian papaya fruit fly, *Bactrocera papayae*, reared on guava diet. *Journal of Insect Science*, 14(126):1-16.

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.

DEGEN, T.; DILLMANN, C.; MARION-POLL, F.; TURLINGS, T.C.J. 2004. High genetic variability of herbivore-induced volatile emission within a broad range of maize inbred lines. *Plant Physiology*, 135: 1928-1938.

DEGENHARDT, J.; GERSHENZON, J. 2000. Demonstration and characterization of (*E*)-nerolidol synthase from maize: a herbivore-inducible terpene synthase participating in (*3E*)-4,8-dimethyl-1,3,7-nonatriene biosynthesis. *Planta*, 210: 815-822.

DELFIN-GONZÁLEZ, H.; BOJÓRQUEZ-ACEVEDO, M.; MANRIQUE-SAIDE, P. 2007. Parasitoids of Fall Armyworm (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) from a Traditional Maize Crop in the Mexican State of Yucatan. *Florida Entomologist*, 90(4): 759-761.

DEVICARI, M.; LOPES, A.R.; SUESDEK, L. 2011. Dimorfismo sexual alar em *Aedes scapularis* (Diptera: Culicidae). *Biota Neotropica*, 11(2): 165-169.

DEWICK, P. M. 2002. *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*. 2 ed. Chichester: John Wiley and Sons. 507 p.

DICKE, M.; VAN LONN, J.J.A. 2000. Multitrophic effects of herbivore-induced plant volatiles in an evolutionary context. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 97: 237-249.

DICKE, M.; VET, L.E.M. 1999. Plant-carnivore interactions: Evolutionary and ecological consequences for plant, herbivore and carnivore. In: Olf, H., Brown, V.K., Drent, R.H. *Herbivores: between plants and predators*. Oxford: Blackwell Science. p. 483-520.

DICKE, M.; VAN BEEK, T.A.; POSTHUMUS, M.A.; BEN DOM, N.; VAN BOKHOVEN, H.; DE GROOT, A.E. 1990. Isolation and identification of volatile kairomone that affects acarine predator-prey interactions: involvement of host plant in its production. *Journal of Chemical Ecology*, 16: 381-396.

DOSS, R.P.; OLIVER, J.E.; PROEBSTING, W.M.; POTTER, S.W.; KUY, S.R.; CLEMENT, S.L.; WILLIAMSON, R.T.; CARNEY, J.R.; DEVILBISS, E.D. 2000. Bruchins-insect derived plant regulators that stimulate neoplasm formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97: 6218-6223.

DU, Y.; POPPY, G.M.; POWELL, W.; PICKETT, J.A.; WADHAMS, L.J.; WOODCOCK, C.M. 1998. Identification of semiochemicals released during aphid feeding that attract parasitoid *Aphidius ervi*. *Journal of Chemical Ecology*, 24: 1355-1368.

DUFFEY, S.S.; STOUT, M.J. 1996. Antinutritive and toxic components of plant defense against insects. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 32: 3-27.

FABRE, A.C.; CORNETTE, R.; HUYGHE, K.; ANDRADE, D.V.; HERREL, A. 2014. Linear Versus Geometric Morphometric Approaches for the Analysis of Head Shape Dimorphism in Lizards. *Journal of Morphology*, 275: 1016–1026

FACHOLI-BENDASSOLLI, M.C.N.; UCHÔA-FERNANDES, M.A. 2006. Comportamento sexual de *Anastrepha sororcula* Zucchi (Diptera, Tephritidae) em laboratório. Revista Brasileira de Entomologia, 50(3): 406-412.

FANG, Y.; SUN, J.; ZHANG, Z. 2011. Response of *Brontispa longissima* to coconut palm (*Cocos nucifera*) leaf volatiles. Physiological Entomology, 36: 321–326.

FERREIRA, J.M.S.; FILHO, M.M. 2007. A cultura do coqueiro – Pragas e métodos de controle. Embrapa Tabuleiros Costeiros, Versão eletrônica: ISSN 1678-197X. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Coco/ACulturadoCoqueiro/pragas.htm>>. Acesso em: Janeiro 2014.

FERREIRA, J. M. S.; LINS, P. M. P. 2006. Pragas do coqueiro. In: FERREIRA, J. M. S.; FONTES H. R. Produção integrada de coco: identificação de pragas, doenças e desordens nutricionais e fisiológicas. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, p. 13-68.

FERREIRA, J.M.S.; LINS, P.M.P. 2002. Manejo integrado de pragas. In: LEAL, E.C.; WARWICK, D.R.N.; SARRO, F.B.; FERREIRA, J.M.S.; LINS, P.M.P.; ARAÚJO, R.P.C. Frutas do Brasil: coco fitossanidade. Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas, p. 63- 82.

FERREIRA, J.M.S.; LIMA, M.F.; SANTANA, D.L.Q.; MOURA, J.I.L.; SOUZA, L.A. 1998. Pragas do coqueiro. In: FERREIRA, J.M.S.; WARWICK, D.R.N.; SIQUEIRA, L.A. A cultura do coqueiro no Brasil. 2ª ed. Brasília: Embrapa-SPI; Aracaju: Embrapa-CPATC, p.189-267.

FERRY, N.; EDWARDS M.G.; GATEHOUSE J.A.; GATEHOUSE A.M.R. 2004. Plant-insect interactions: Molecular approaches to insect resistance. Current Opinion in Biotechnology, 15: 155-161.

FLETCHER, B.S. 1989. Ecology; life history strategies of tephritid fruit flies. In: ROBINSON, A.S.; HOOPER, G. Fruit Flies, their Biology, Natural Enemies and Control. World Crop Pests. Amsterdam: Elsevier, p. 195-208.

FOERSTER, L.A.; DOETZER, A.K.; AVANCI, M.R.F. 2001. Parasitóides larvais de *Mythimna (Pseudaletia) sequax* Franclemont e capacidade de parasitismo de *Glyptapanteles muesebecki* (Blanchard) em relação ao tempo de exposição, temperatura e densidade de hospedeiros. *Acta Biol. Paranaense*, 30: 139-149.

FORATTINI, O.P. 2002. *Culicidologia Médica*. São Paulo: EDUSP. 860p.

FORDYCE J.A.; AGRAWAL A.A. 2001. The role of plant trichomes and caterpillar group size on growth and defense of the pipevine swallowtail *Battus philenor*. *Journal of Animal Ecology*, 70: 997-1005.

FOUAD, H.A.; FARONI, L.R.D'A.; VILELA, E.F.; LIMA, E.R. 2013. Flight responses of *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae) to corn kernel volatiles in a wind tunnel. *Arthropod-Plant Interactions*, 7: 651–658.

FRANCOY, T.M.; IMPERATRIZ FONSECA, V.L. 2010. A morfometria geométrica de asas e a identificação automática de espécies de abelhas. *Oecologia Australis*, 14(1): 317-321.

GEERVLIET, J. B. F.; POSTHUMUS, M.A.; VET, L.E.M.; DICKE, M. 1997. Comparative analysis of headspace volatiles from different caterpillar infested or uninfested food plants of *Pieris* species. *Journal of Chemical Ecology*, 23(12): 2935-2954.

GODFRAY, H.C.J. 1994. *Parasitoids: Behavioural and Evolutionary Ecology*. New Jersey: Princenton University Press. 488p.

GOLS, R.; HARVEY, J.A. 2008. Plant-mediated effects in the Brassicaceae on the performance and behaviour of parasitoids. *Phytochemistry Reviews*, 8: 187-206.

GOLS, R.; ROOSJEN, M.; DIJKMAN, H.; DICKE, M. 2003. Induction of direct and indirect plant responses by jasmonic acid, low spider mite densities, or a combination of jasmônico acid treatment and spider mite infestation. *Journal of Chemical Ecology*, 29: 2651-2666.

GOUINGUENÉ, S.; ALBORN, H.; TURLINGS, T.C.J. 2003. Induction of volatile emissions in maize by different larval instars of *Spodoptera littoralis*. *Journal of Chemical Ecology*, 29: 145-162.

GREENEY, H.F.; WHITFIELD, J.B.; STIREMAN J.O. III; PENZ C.M.; DYER. L.E. 2011. Natural History of *Eryphanis greeneyi* (Lepidoptera: Nymphalidae) and Its Enemies, With a Description of a New Species of Braconid Parasitoid and Notes on Its Tachinid Parasitoid. *Annals of the Entomological Society of America*, 104(6): 1078-1090.

GRENIER, S. 1988. Applied biological control with tachinid flies (Diptera, Tachinidae): a review. *Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzenschutz und Umweltschutz*, 51:49–56.

HALITSCHKE, R.; SCHITTKO, U.; POHNERT, G.; BOLAND W., BALDWIN I.T. 2001. Molecular interactions between the specialist herbivore *Manduca sexta* (Lepidoptera: Sphingidae) and its natural host *Nicotiana attenuata*. III. Fatty acid-amino acid conjugates in herbivore oral secretions are necessary and sufficient for herbivore-specific plant responses. *Plant Physiology*, 125: 711-717.

HARVEY, J. A. 2005. Factors affecting the evolution of development strategies in parasitoid wasps: The importance of functional constraints and incorporating complexity. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 117: 1–13.

HARUTA, M.; MAJOR, I.T.; CHRISTOPHER, M.E.; PATTON J.J.; CONSTABEL C.P. 2001. A Kunitz trypsin inhibitor gene family from trembling aspen (*Populus tremuloides* Michx.): cloning, functional expression, and induction by wounding and herbivory. *Plant Molecular Biology*, 46: 347-359.

HASSELL, M.P.; MAY, R.M. 1973. Stability in insect host-parasite models. *Journal of Animal Ecology*, 42: 693-726.

HOBALLAH, M.E.F.; TURLINGS, T.C.J. 2005. The role of fresh versus old leaf damage in the attraction of parasitic wasps to herbivore-induced maize volatiles. *Journal of Chemical Ecology*, 31: 2003-2018.

HÖGNADÓTTIR, Á.; ROUSEFF, R.L. 2003. Identification of aroma active compounds in orange essence oil using gas chromatography–olfactometry and gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 998: 201–211.

IRWIN ME, SCHLINGER EI, THOMPSON FC. 2003. Diptera, true flies. In: GOODMAN, S.M.; BENSTEAD, J.P. *The Natural History of Madagascar*. Chicago and London: The University of Chicago Press, p. 692–702.

JANZEN, D. H.; HALLWACHS, W. 2009. Dynamic database for an inventory of the macro caterpillar fauna, and its food plants and parasitoids, of the Area de Conservacion Guanacaste (ACG), Northwestern Costa Rica. Disponível em: <<http://janzen.sas.upenn.edu/caterpillars/database.lasso>>. Acesso em Janeiro de 2014.

JIRAKANJANAKIT, N.; LEEMINGSAWAT, S.; DUJARDIN, J.P. 2008. The geometry of the wing of *Aedes (Stegomyia) aegypti* in isofemale lines through successive generations. *Infection Genetics and Evolution*, 8:414-421.

JIRAKANJANAKIT, N.; LEEMINGSAWAT, S.; THONGRUNGIAT, S.; APIWATHNASORN, C.; SINGHANIYOM, S.; BELLEC, C.; DUJARDIN, J.P. 2007. Influence of larval density or food variation on the geometry of the wing of *Aedes (Stegomyia) aegypti*. *Tropical Medicine & International Health*, 12 (11): 1354-1360.

JOACHIM-BRAVO, I.S.; GUIMARAES, A.N.; MAGALHAES, T.C.; NASCIMENTO, A.S. 2010. Performance of *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) in fruits: comparison of two laboratory populations. *Neotropical Entomology*, 39 (1): 9–14.

JOHNE, A.B.; WEISSBECKER, B.; SCHÜTZ, S. 2006. Volatile Emissions from *Aesculus hippocastanum* Induced by Mining of Larval Stages of *Cameraria ohridella* Influence Oviposition by Conspecific Females. *Journal of Chemical Ecology*, 32: 2303–2319.

KANT, M.R.; AMENT, K.; SABELIS, M.W.; Haring, M.A.; Schuurink, R.C. 2004. Differential Timing of Spider Mite-Induced Direct and Indirect Defenses in Tomato Plants. *Plant Physiology*, 135: 483-495.

- KESSELMEIER, J.; STAUDT, M. 1999. Biogenic Volatile Organic Compounds (VOC): An Overview on Emission, Physiology and Ecology. *Journal of Atmospheric Chemistry*, 33: 23-88.
- KLINGENBERG, C.P. 2002. Morphometrics and the role of the phenotype in studies of the evolution of developmental mechanisms. *Gene*, 287: 3-10.
- LIMA, C. 1950. Insetos do Brasil: Lepidópteros, 2ª parte. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Agronomia. 420 p.
- MACQUART, J. 1846. Diptères exotique nouveaux ou peu connus. Supplement 1. Mémoires de la Société Royale des Sciences, de L'Agriculture et des Arts, Lille, 9 - 323.
- MARCICANO, M.D.L.; NIHEI, S.S.; LIMA, I.M.M. 2009. First Host Record for *Winthemia analis* (Macquart) (Diptera: Tachinidae: Exoristinae) in Brazil: *Brassolis sophorae laurentii* Stichel (Lepidoptera: Nymphalidae: Brassolinae). *Neotropical Entomology*, 38: 550-552.
- MARTINS, C.R.; JESUS JÚNIOR, L.A. 2011. Evolução da produção de coco no Brasil e o comércio internacional - Panorama 2010. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiro, 32 p.
- MATTIACCI, L.; DICKE, M.; POSTHUMUS, M.A. 1995. β -Glucosidase: an elicitor of herbivore induced plant odor that attracts host-searching parasitic wasps. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92: 2036-2040.
- MEINERS, T.; HILKER, M. 2000. Induction of plant synomones by oviposition of a phytophagous insect. *Journal of Chemical Ecology*, 26: 221-232.
- MORALES-VARGAS, E.R.; YA-UMPHAN, P.; PHUMALA-MORALES, N.; KOMALAMISRA, N.; DUJARDIN, J.P. 2010. Climate associated size and shape changes in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) populations from Thailand. *Infection Genetics and Evolution*, 10: 580-585.

MORATORE, C. 2009. Padrões genético-morfológicos em populações de *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). 81 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

MUMM R.; TIEMANN, T.; VARAMA, M.; HILKER, M. 2005. Choosy egg parasitoids: specificity of oviposition-induced pine volatiles exploited by an egg parasitoid of pine sawflies. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 115: 217–225.

NUNES, L.A.; ARAÚJO, E.D.; MARCHINI, L.C.; MORETI, A.C.C.C. 2012. Variation morphogeometrics of Africanized honey bees (*Apis mellifera*) in Brazil. *Iheringia, Série Zoologia*, 102(3): 321-326.

O'HARA, J. E. 2014. World genera of the Tachinidae (Diptera) and their regional occurrence. Version 8.0. Disponível em: <http://www.nadsdiptera.org/Tach/WorldTachs/Genera/Gentach_ver8.pdf>. Acesso em: Janeiro de 2014.

OLEKSA, A; TOFILSKI, A. 2015. Wing geometric morphometrics and microsatellite analysis provide similar discrimination of honey bee subspecies. *Apidologie*, 46: 49-60.

OLIVEIRA, M.S.; PAREJA, M. 2014. Attraction of a ladybird to sweet pepper damaged by two aphid species simultaneously or sequentially. *Arthropod-Plant Interactions*, 8: 547–555.

PARÉ, P.W.; TUMLINSON, J.H. 1997. Induced synthesis of plant volatiles. *Nature*, 385: 30-31.

PINTO-ZEVALLOS, D.M.; HELLÉN, H.; HAKOLA, H.; NOUHUYS, S.van; HOLOPAINEN, J.K. 2013. Induced defenses of *Veronica spicata*: Variability in herbivore-induced volatile organic compounds. *Phytochemistry Letters* 6: 653-656.

POPHOF, B.; STANGE, G.; ABRELL, L. 2005. Volatile Organic Compounds as Signals in a Plant–Herbivore System: Electrophysiological Responses in Olfactory Sensilla of the Moth *Cactoblastis cactorum*. *Chemical Senses*, 30(1): 51-68.

PRATISSOLI, D.; VIANNA, U.R.; REIS, E.F.; ANDRADE, G.S.; SILVA, A.F. 2005. Influência da densidade de ovos de *Spodoptera frugiperda* em alguns aspectos biológicos de três espécies de *Trichogramma*, *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, 4:1-7.

QUIROZ, A.; PETTERSSON, J.; PICKETT, L.J.; WADHAMS, L.J.; NIEMEYER, H.M. 1997. Semiochemicals mediating spacing behavior of bird cherry-oat aphid *Rhopalosiphum padi* feeding on cereals. *Journal of Chemical Ecology*, 23(11): 2599-2607.

R Development Core Team (2014) R: a language and environment for statistical computing. R foundation for statistical computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. <http://www.r-project.org>.

REINHARD, H. J. 1931. Revision of the American parasitic flies belonging to the genus *Winthemia*. *Proceedings of the United States National Museum*, 79: 1-54.

ROHLF, F.J.; MARCUS, L.F. 1993. A Revolution in Morphometrics. *Tree*, 8(4): 129-132.

ROSS, G.N.; FALES, H.M.; LLOYD, H.A.; JONES, T.; SOKOLOSKI, E.A.; MARSHALL-BATTY, K.; BLUM, M.S. 2001. Novel chemistry of abdominal defensive glands of nymphalid butterfly *Agraulis vanilla*. *Journal of Chemical Ecology*, 27(6): 1219-1228.

RUSZCZYK, A.; RIBEIRO, J.C. 1998. Mortalidade dos parasitoides *Spilochalcis morleyi* (Hymenoptera, Chalcididae) e *Xanthozona melanopyga* masculinas de *Brassolis sophorae* (Lepidoptera, Nymphalidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 58: 34-37.

SAFARALIZADEH, M.H.; KARIMPOUR, Y. 2007. Some Biological Characteristics of *Nyssia graecarius* (Lepidoptera: Geometridae) in Urmia Region. *Journal of the Entomological Research Society*, 9(3): 1-6.

SALAMANCA, J.; PAREJA M.; RODRIGUEZ-SAONA C.; RESENDE A.L.S.; SOUZA B. 2015. Behavioral responses of adult lacewings, *Chrysoperla externa*, to a rose-aphid-coriander complex. *Biological Control*, 80: 103-112.

SCOTT, T.W.; AMERASINGHE, P.H.; MORRISON, A.C.; LORENZ, L.H.; CLARK, G.G.; STRICKMAN, D.; KITTAYAPONG, P.; EDMAN, J.D. 2000. Longitudinal studies of *Aedes aegypti* in Thailand and Puerto Rico: blood-feeding frequency. *Journal of Medical Entomology*, 37: 89-101.

SILVA, V.S. 2002. Regeneração *in vitro* de embriões de *Cocus nucifera* L. 72 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de São Paulo: Escola Superior de Agricultura “Luiz Queiroz”, Piracicaba.

SILVEIRA, B.E. 2011. Morfometria geométrica comparativa de asas de Sarcophagidae (Diptera) de interesse forense: uma ferramenta eficaz para a identificação? 59p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

SIGNORETTI, A.G.C.; PEÑAFLORES, M.F.G.V.; BENTO, J.M.S. 2012. Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), Female Moths Respond to Herbivore-Induced Corn Volatiles. *Neotropical Entomology*, 41:22–26.

STIREMAN, J.O.; O’HARA, J.E.; WOOD, D.M. 2006. Tachinidae: evolution, behavior, and ecology. *Annual Review of Entomology*, 51, 525–555.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. 2002. *Plant Physiology*. 3 ed. Sunderland: Sinauer Associates. 690 p.

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

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.

TANG, R.; ZHANG, J.P.; ZHANG, Z.N. 2012. Electrophysiological and Behavioral Responses of Male Fall Webworm Moths (*Hyphantria cunea*) to Herbivory-Induced Mulberry (*Morus alba*) Leaf Volatiles. *PLoS One*, 7(11): e49256.

TASIN, M.; BÄCKMANN, A.-C.; BENGTSSON, M.; IORIATTI, C.; WITZGALL, P. 2006. Essential host plant cues in the grapevine moth. *Naturwissenschaften*, 93: 141–144.

TURLINGS, T.C.J.; WÄCKERS, F. 2004. Recruitment of predators and parasitoids by herbivore- injured plants. *Advances in Insect Chemical Ecology*, 2: 21-75.

TURLINGS, T.C.J.; ALBORN, H.T.; LOUGHRIN, J.H.; TUMLINSON, J.H. 2000. Volicitin, an elicitor of maize volatiles in oral secretion of *Spodoptera exigua*: isolation and bioactivity. *Journal of Chemical Ecology*, 26: 189-202.

TURLINGS, T.C.J.; LENGWILLER, U.B.; BERNASCONI, M.L.; WECHSLER, D. 1998. Timing of induced volatile emissions in maize seedlings. *Planta*, 207: 146-152.

TURLINGS, T.C.J.; LOUGHRIN, J.H.; MCCALL, P.J.; ROSE, U.S.R.; LEWIS, W.J.; TUMLINSON, J.H. 1995. How Caterpillar-damaged plants protect themselves by attracting parasitic wasps. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92: 4169-4174.

TURLINGS, T.C.J.; TUMLINSON, J.H. 1992. Systemic chemical signaling by herbivore-injured corn. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89: 8399-8402.

TURLINGS, T.C.J.; TUMLINSON, J.H. 1991. Do parasitoids use herbivore-induced plant chemicals defenses to locate hosts? *Florida Entomologist*, 74: 42-50.

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

TURLINGS, T.C.J.; TUMLINSON, J.H.; LEWIS, W.J. 1990. Exploitation of herbivore-induced plant odors by host seeking parasitic wasps. *Science*, 250: 1251-1253.

TSUDA, Y.; TAKAGI, M. 2001. Survival and development of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera:Culicidae) larvae under a seasonally changing environment in Nagasaki, Japan. *Environmental Entomology*, 30: 855-860.

UEFUNO, M.; OZAWA, R.; TAKABAYASHI, J. 2014. Prohydrojasmon treatment of lima bean plants reduces the performance of two-spotted spider mites and induces volatiles. *Journal of Plant Interactions*, 9(1): 69-73.

VET, L.E.; DICKE, M. 1992. Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. *Annual review of entomology*, 37(1): 141-172.

WEI, J.-N.; ZHU, J.; KANG, L. 2006. Volatiles released from bean plants in response to agromyzid flies. *Planta*, 224: 279–287

WEKESA, J.W.; BROGDON, W.G.; HAWLEY, W.A. BESANSKY, N.J. 1998. Flight tone of field-collected populations of *Anopheles gambiae* and *An. arabiensis* (Diptera: Culicidae). *Physiological Entomology*, 23(3): 289-294.

XUEFEI, L.U.; DEYAN, G.E.; LIN, X.I.A.; HUANG, C; YANG, Q. Geometric morphometric study of the skull shape diversification in Sciuridae (Mammalia, Rodentia). *Integrative Zoology*, 9: 231–245.

ZAMITH, A.P.L. 1962. Anatomia morfológica, externa e interna da lagarta e do adulto da *Brassolis sophorae Laurentii* STICHEL, 1925. Reunião anual da S.B.P.C., Curitiba, 431-451.

ZANETTI, R.; VILELA, E.F.; ZANUNCIO, J.C.; MOURA, J.I.L. 1999. Búsqueda de alimento y marcación de trillo por larvas de *Brassolis sophorae* (Lepidoptera: Nymphalidae) en condiciones naturales. *Revista de Biología Tropical*, 47(4): 1035-1038.

ZARBIN, P.H.G.; FERREIRA, J.T.B., LEAL, W.S. Metodologias gerais empregadas no isolamento e identificação estrutural de feromônios de insetos. *Química Nova*, São Paulo, v. 22, n. 2, 1999.