

LÍVIA MARIA SILVA ATAÍDE

FATORES QUÍMICOS E COMPORTAMENTAIS ENVOLVIDOS NA  
ESCOLHA DE GENÓTIPOS DE *Solanum lycopersicon* POR FÊMEAS  
DE *Tuta absoluta*

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2009

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

A862f  
2009

Ataíde, Livia Maria Silva, 1983-

Fatores químicos e comportamentais envolvidos na escolha de genótipos de *Solanum lycopersicon* por fêmeas de *Tuta absoluta* / Livia Maria Silva Ataíde. – Viçosa, MG, 2009. xiii, 60f. : il (algumas col.) ; 29cm.

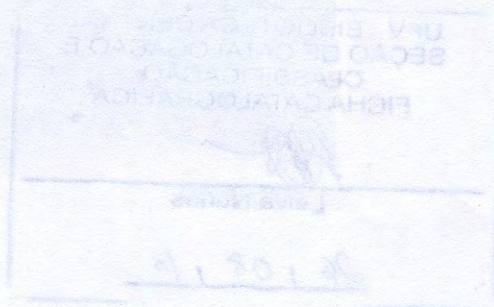
Orientador: Eraldo R. de Lima.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 51-60.

1. *Tuta absoluta* - Comportamento.
  2. *Solanum lycopersicon*. 3. Pragas agrícolas.
  4. Semioquímicos. 5. Lepidoptera. 6. Inseto - Comportamento.
- I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 595.78

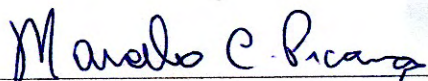


LÍVIA MARIA SILVA ATAÍDE

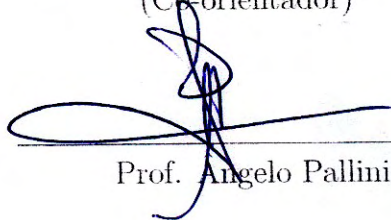
FATORES QUÍMICOS E COMPORTAMENTAIS  
ENVOLVIDOS NA ESCOLHA DE GENÓTIPOS DE *Solanum*  
*lycopersicon* POR FÊMEAS DE *Tuta absoluta*

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 24 de Julho de 2009



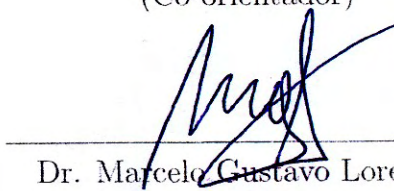
Prof. Marcelo Coutinho Picanço  
(Co-orientador)



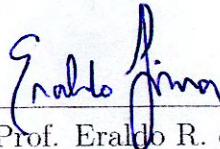
Prof. Angelo Pallini



Prof. Derly José H. da Silva  
(Co-orientador)



Dr. Marcelo Gustavo Lorenzo



Prof. Eraldo R. de Lima  
Orientador

Dedico esta conquista à Deus.  
Ào reconhecimento de minha mãe.  
Em gratidão ao meu pai.  
Ào carinho dos irmãos.  
Ào esforço de todos!!!

“Como produtores primários, as plantas verdes, são os sintetizadores e banqueiros da riqueza da bioquímica. Os herbívoros então, são os pobres, os saqueadores desta riqueza. Entretanto, isso não ocorre de maneira indiscriminada, pois cada herbívoro no curso de sua evolução tornou-se associado a uma planta em particular ou a uma constelação delas.” (Dethier, 1982)

## Agradecimentos

Agradeço sobretudo a presença de Deus que iluminando meus caminhos me mostrou que a fé torna concreta a realização de qualquer sonho.

Dedico esses dois anos de árduo trabalho especialmente a minha querida mãe, ao meu dedicado pai e a minha adorável vó Martha. Àos meus irmãos Gustavo e Guilherme pelo carinho e consideração pelo meu esforço. À presença e apoio dos tios, primos e parentes, em todos os momentos da vida. À esta minha LINDA família, muito obrigada!!!

Ào Daniel por vivenciar comigo as dificuldades, vencer os obstáculos, superar os problemas, curtir a felicidade e as alegrias da vida!!!

Um agradecimento especial ao empenho e dedicação do Prof. Eraldo, que me ajudando a superar minhas dificuldades me ensinou como alcançar meus objetivos. Agradeço também aos meus conselheiros, Prof. Marcelo C. Picanço, Prof. Derly José da Silva e Prof. Evaldo F. Vilela pela ajuda.

Àos colegas do laboratório, Wendel, Farah, Silvana, Amanda, Juliana e um agradecimento especial à Carla que compreensiva e dedicada, soube além de valorizar a amizade que construímos, a reconhecer nossa AFINIDADE. Um agradecimento especial também ao Paulo que como amigo me ajudou a desvendar os desafios da estatística...

Àos estagiários Gabriel, Deco, Fernando, Ana, pelo empenho em tornar possível a realização de meus experimentos. Ào Laboratório de Manejo Integrado de Pragas da UFV, assim como ao Prof. Eduardo Mizzobuti e laboratório. Ào CNPQ, CAPES, FAPEMIG e aos programas LATEX e R.

## Biografia

Lívia Maria Silva Ataíde, filha de Mônica Cristina Silva Mascarenhas e Geraldo Honório Oliveira Mascarenhas, nasceu em Belo Horizonte, Minas Gerais, em 18 de setembro de 1983. Em dezembro de 2005, graduou-se em Biologia, pelo Centro universitário Metodista Izabela Hendrix, Belo Horizonte-MG. Durante o período de graduação, de 2002 a 2005, foi estagiária da FUNASA (Fundação Nacional de Saúde), UFMG (Universidade Federal de Minas Gerais), FIOCRUZ (René Rachou) e CTRS (Central de Tratamento de Resíduos Sólidos). Após esse período lecionou por quase dois anos, disciplinas de Ciências e Biologia em escolas públicas de Belo Horizonte. Em agosto de 2007, foi aprovada no curso de Mestrado em Entomologia, na Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa-MG.

## Conteúdo

	Página
<b>Lista de Figuras</b> . . . . .	<b>vii</b>
<b>Lista de Tabelas</b> . . . . .	<b>ix</b>
<b>Resumo</b> . . . . .	<b>x</b>
<b>Abstract</b> . . . . .	<b>xii</b>
<b>1 Introdução Geral</b> . . . . .	<b>1</b>
<b>2 Capítulo I</b> . . . . .	<b>6</b>
2.1 Introdução . . . . .	7
2.2 Material e Métodos . . . . .	9
2.2.1 Obtenção de plantas de tomate . . . . .	9
2.2.2 Criação de <i>Tuta absoluta</i> . . . . .	10
2.2.3 Túnel de Vento . . . . .	12
2.2.4 Coleta de voláteis - “Headspace” . . . . .	15
2.2.5 Cromatografia Gasosa e Espectômetria de Massa (GC-MS) . . . . .	16
2.3 Resultados . . . . .	17
2.3.1 Comportamentos em Túnel de Vento . . . . .	17
2.3.2 Compostos voláteis . . . . .	18

2.4	Discussão . . . . .	23
<b>3</b>	<b>Capítulo II . . . . .</b>	<b>31</b>
3.1	Introdução . . . . .	32
3.2	Material e Métodos . . . . .	34
3.2.1	Obtenção de plantas de tomate . . . . .	34
3.2.2	Criação de <i>Tuta absoluta</i> . . . . .	35
3.2.3	Oviposição . . . . .	36
3.2.4	Oviposição em diferentes plantas . . . . .	37
3.2.5	Escolha por locais de oviposição . . . . .	38
3.3	Resultados . . . . .	40
3.3.1	Oviposição em diferentes plantas . . . . .	40
3.3.2	Escolha por locais de oviposição . . . . .	41
3.4	Discussão . . . . .	43
<b>4</b>	<b>Discussão Geral . . . . .</b>	<b>48</b>
<b>5</b>	<b>Referências . . . . .</b>	<b>51</b>

## Lista de Figuras

	Página
1	Túnel de Vento do Laboratório de Semioquímicos . . . . . 12
2	Sistema de aeração utilizado para coleta de voláteis de folhas de tomate . 16
3	Proporção de fêmeas acasaladas de <i>Tuta absoluta</i> que pousaram nos diferentes genótipos de <i>Solanum lycopersicon</i> em túnel de vento. O experimento foi conduzido a $25^{\circ}\text{C}\pm 5$ , UR de $70\pm 5\%$ ( $p=0,004$ , $gl=[1,63]$ ). . . . 18
4	A velocidade das fêmeas de <i>T. absoluta</i> em túnel de vento foi afetada pelo genótipo, alcançando mais rapidamente as fontes suscetíveis do que as resistentes. O experimento foi conduzido à temperatura de $25^{\circ}\text{C}\pm 5$ , UR de $70\pm 5\%$ ( $p=0,001797$ , $gl=[1,261]$ ). . . . . 20
5	Relação entre a abundância relativa do (+)-4-Careno extraído de folhas de tomate na resposta de fêmeas de <i>T. absoluta</i> em túnel de vento ( $p=0,003$ , $gl=[1,3]$ ). . . . . 20
6	Relação entre a atratividade dos terpenos totais para fêmeas de <i>T. absoluta</i> em túnel de vento, demonstrando que o aumento da abundância relativa destes compostos influenciou negativamente a atração das fêmeas ( $p=0,0153$ , $gl=[1,3]$ ). . . . . 21
7	Gaiola plástica utilizada nos experimentos de oviposição sem chance de escolha. Uma fêmea acasalada foi colocada na presença de cada um dos diferentes genótipos de <i>Solanum lycopersicon</i> . . . . . 37

- 8 Gaiola telada utilizada nos experimentos de oviposição com chance de escolha. Uma fêmea acasalada foi colocada na presença simultânea de cinco diferentes genótipos de *Solanum lycopersicon*. . . . . 39
- 9 Gaiola plástica utilizada nos experimentos de oviposição com chance de escolha. Uma fêmea acasalada foi colocada na presença simultânea de dois diferentes genótipos (um suscetível e um resistente) de *Solanum lycopersicon*. . . . . 39
- 10 Média de ovos colocados por fêmeas acasaladas de *T.absoluta* em cinco genótipos de *Solanum lycopersicon* oferecidos separadamente. O experimento foi conduzido a  $25^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$  e fotofase 12:12 hs. Os genótipos afetaram o número de ovos ( $p=0,06$ ),  $gl=[4,171]$ . . . . . 40
- 11 Proporção de ovos colocados por fêmeas acasaladas de *T.absoluta* ao oferecer simultaneamente os genótipos Santa Clara e BGH-674 de *Solanum lycopersicon*. O experimento foi conduzido a  $25^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$  e fotofase 12:12 hs. O número de ovos foi influenciado pelos genótipos ( $p=0,0252$ ,  $\chi^2_{[1,6]}=5,0059$ ). 42

## Lista de Tabelas

	Página
1 Abundância relativa (%) dos terpenos voláteis emitidos pelos diferentes genótipos de <i>Solanum lycopersicon</i> . . . . .	22

## Resumo

ATAÍDE, Livia Maria Silva, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2009.  
**Fatores químicos e comportamentais envolvidos na escolha de genótipos de *Solanum lycopersicon* por fêmeas de *Tuta absoluta*.** Orientador: Eraldo Rodrigues de Lima. Co-orientadores: Derly José Henriques da Silva, Evaldo Ferreira Vilela e Marcelo Coutinho Picanço.

Plantas superiores emitem uma grande variedade de compostos voláteis que podem ser percebidos por neurônios quimio-receptores especializados na antena do inseto. Fêmeas escolhem a planta hospedeira antes e durante a oviposição, evidenciando plantas resistentes e susceptíveis entre diferentes genótipos. Acredita-se que estímulos químicos produzidos pelas plantas de tomate devam regular suas relações interespecíficas com insetos-pragas, incluindo *Tuta absoluta*. Portanto, o objetivo deste estudo foi analisar, por meio de estudos de comportamento envolvendo técnicas de olfatométrica em túnel de vento, identificação dos voláteis de tomate mediante cromatografia gasosa, e testes de oviposição, os mecanismos envolvidos na localização e escolha de plantas resistentes e susceptíveis por *T. Absoluta*. Para a realização deste estudo foram cultivados em casa de vegetação, plantas de cinco genótipos de *Solanum lycopersicon*: quatro subamostras do Banco de Germoplasma de Hortaliças da UFV (BGH-674, BGH-1497, BGH-1708, BGH-489) e a variedade Santa Clara.

Em túnel de vento, foi avaliada a resposta de fêmeas acasaladas de *T. absoluta* a estes genótipos. Após essa análise inicial, verificou-se a presença de sete compostos químicos e sua provável influência na atratividade para as fêmeas. Considerando isso, a abundância relativa dos terpenos total variou entre os genótipos ( $p=0.0153$ ) e foi negativamente relacionada com atratividade para as fêmeas. Os experimentos de oviposição tiveram a finalidade de avaliar se fêmeas de *T. absoluta* seriam capazes de discriminar locais de oviposição e, portanto, realizar uma oviposição diferenciada entre os genótipos. Para isso, sempre foi confinada apenas uma fêmea acasalada dentro de cada gaiola, sendo realizados três tipos de experimentos de oviposição. O primeiro oferecendo oportunidade de escolha entre todos os genótipos, colocando todos eles dentro de uma mesma gaiola, o segundo, ao contrário, individualizando cada genótipo, sem proporcionar chance de escolha e o último contrastando dois desses genótipos (um resistente e o outro suscetível). Após 24 horas contou-se o número de ovos colocados pelas fêmeas. No entanto, observou-se que para o primeiro experimento ( $p=0,924$ ), o número de ovos não foi afetado pelo genótipo. No entanto, no segundo, essa diferença demonstrou-se marginalmente significativa ( $p=0,06$ ) e no terceiro, apenas para o contraste BGH-674/Santa Clara o número de ovos ovipositados foi maior na variedade Santa Clara ( $p=0,025$ ). Finalmente, tentando estabelecer uma relação entre os resultados de localização e oviposição, pode-se sugerir que os compostos voláteis são mais importantes do que as características morfológicas da folha, que parecem ter exercido uma menor influência na decisão de oviposição dessas fêmeas. Sendo assim, as subamostras BGH-1497, BGH-674 e BGH-1708 foram consideradas resistentes por antixenose e a sua utilização como ferramenta na seleção de plantas hospedeiras e no monitoramento de pragas demonstra-se promissora.

## Abstract

ATAÍDE, Livia Maria Silva, Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2009. **Behavioral and chemical factors involved in the choice of genotypes of *Solanum lycopersicon* by *Tuta absoluta* females.** Adviser: Eraldo Rodrigues de Lima. Co-Advisers: Derly José Henriques da Silva, Evaldo Ferreira Vilela and Marcelo Coutinho Picanço.

Higher plants release a wide variety of volatile compounds which are perceived by specialized neurons chemo-receptor in the insect antenna. Females choose host plants before and during oviposition showing susceptible and resistant plants between different genotypes. We believe that chemical stimuli produced by tomato plants should regulate, their interspecific relationship with pest insects, including *Tuta absoluta*. Therefore, the objective of this study was to carry out by behaviour studies involving olfatometry techniques in wind tunnel and chemical identification of plants volatiles in gas chromatography and ovipositions tests, the mechanisms involved in the selection of susceptible and resistant plants by *T. absoluta*. To carry out this study, were grown in a greenhouse five genotypes of *Solanum lycopersicon*: four subsamples of Vegetable Germplasm Bank of the UFV (BGH-674, BGH-1497, BGH-1708, BGH-489) and the variety Santa Clara. In the wind tunnel, the response of mated females of *T. absoluta* to this different genotypes was studied. After this first analysis, was examined the presence of seven chemical compounds and their likely

influence on the attractiveness to females. Considering this, the relative abundance of total terpenes varied among genotypes ( $p=0.0153$ ) and was negatively related to attractiveness to females. The oviposition test had the aim to assess whether females of *T. absoluta* would be able to discriminate oviposition sites, and thus accomplish different oviposition between the genotypes. For this, only a mated female was confined into every cage and were made three types of choice test. The first offering the opportunity to choose between all genotypes, putting them within a cage; the second, individualizing each genotype in small cages with no chance to choose and the third, contrasting two genotypes (one resistant and one susceptible). After 24 hours the number of eggs deposited by females were counted. However, it was observed that for the first experiment ( $p=0.924$ ), the number of eggs was not affected by genotype. In the second one, this difference was marginally significant ( $p=0.06$ ) and in the third experiment, only for the contrast Santa Clara/BGH-674 the number of eggs oviposited were bigger in the variety Santa Clara ( $p=0.025$ ). Finally, trying to establish a link between localization and oviposition it could be suggested that volatile compounds are more important than morphological characteristics of the leaf that would have had little influence on oviposition decision of females. Considering these results, the subsamples BGH-1497, BGH-674 and BGH-1708 were considered resistant to antixenosis and its use as a tool in the selection of host plants and pest monitoring shows to be interesting.

# 1 Introdução Geral

Plantas e insetos permanecem associados há milhões de anos e sua coexistência demonstra uma intrincada interdependência e interação, onde plantas necessitam de insetos polinizadores para sua reprodução e propagação, e os insetos fitófagos necessitam de plantas para seu desenvolvimento e proteção.

Uma planta hospedeira deve fornecer nutrientes para os insetos, que precisam assimilá-los e convertê-los em energia e substâncias necessárias para seu desenvolvimento. Assim, a qualidade nutricional que é diferente entre os tecidos, influencia em sua utilização pelos insetos resultando em uma alta especialização por diferentes plantas e partes da planta (Panda & Kush, 1995).

Considerando seu modo de vida estacionário, plantas produzem aleloquímicos, provenientes do seu metabolismo secundário, que podem atuar em sua defesa contra a herbivoria. Em meados do século passado, pela primeira vez, Fraenkel (1959) formalizou as diferenças entre metabólitos primários e secundários produzidos pelas plantas, bem como a importância ecológica dos metabólitos secundários, que passaram então a ser classificados como aleloquímicos. Atualmente, um aleloquímico pode ser definido como “um produto químico não nutricional que participa da interação entre dois indivíduos de espécies diferentes” (Dicke & Sabelis, 1992) e que “podem exercer efeitos negativos na fisiologia de herbívoros reduzindo seu desempenho biológico” (Schoonhoven *et al.*, 2005).

Otimizar a distribuição dos compostos químicos de defesa é outra importante estratégia utilizada pelas plantas contra o ataque de insetos fitófagos (Hamilton *et al.*, 2001). Como o nitrogênio é um dos mais importantes nutrientes presentes nas plan-

tas, tecidos mais jovens, nos quais sua quantidade é maior, são mais valiosos e tendem a serem mais protegidos. Portanto, a utilização da planta hospedeira não depende apenas da concentração dos nutrientes, mas principalmente do balanço entre esses nutrientes e os defensivos químicos (Panda & Kush, 1995).

Numerosos estudos citam que a resistência bioquímica é o mecanismo de defesa mais importante que as plantas possuem contra o ataque de herbívoros (Maxwell & Jennings, 1980), destacando-se três mecanismos principais: antixenose, antibiose e tolerância. Estes mecanismos de resistência são hereditários e tendem a tornar a planta inadequada para a utilização do inseto (Panda & Kush, 1995).

Alguns compostos químicos importantes na interação inseto-planta podem ser liberados na forma de voláteis. Também chamados de “green leaf volatiles” (GLVs) (Visser, 1986), estes podem atuar como atraentes ou repelentes (Reddy & Guerrero, 2000), estimulantes de oviposição ou alimentação e deterrentes (Bernays & Chapman, 1994). Espécies monófagas e oligófagas parecem ser mais sensíveis a compostos secundários deterrentes do que espécies polífagas (Chapman, 2003).

Uma mudança fisiológica e/ou genética na planta também pode afetar o comportamento e a biologia de um herbívoro. Por exemplo, uma planta sob estresse, seja ele causado por agentes bióticos (fisiologia, desenvolvimento e variações genotípicas em plantas, herbívoros) e abióticos, como estação do ano, luz e localização geográfica (Schoonhoven *et al.*, 1998), alteram o metabolismo de carbono e nitrogênio (Hamilton *et al.*, 2001) e conseqüentemente a produção de aleloquímicos, tornando-se mais ou menos atrativas para os insetos.

Acredita-se que nem todos os voláteis de plantas sejam detectados por um inseto em particular, mas apenas alguns deles, o qual a espécie foi evolutivamente adaptada a reconhecer (Visser, 1986). Isso não depende apenas das características da planta, mas também do sistema sensorial do inseto, que deve ser capaz de detectar e codificar

as informações percebidas (Dethier, 1982) e discriminar entre os estímulos presentes no ambiente (Visser, 1986).

Pode-se considerar, portanto, que a seleção de uma planta hospedeira envolve a escolha por uma determinada espécie e indivíduos dentro dessa espécie que sejam adequados para a alimentação, sobrevivência e desenvolvimento do herbívoro. No entanto, a seleção oferece dois problemas: o inseto deve estar apto a detectar e localizar seu hospedeiro a distância, e ao alcançá-lo, confirmar a adequabilidade da mesma com relação a sua qualidade (Bernays & Chapman, 1994). Sendo assim, pode-se dizer que, inicialmente, os insetos “localizam” seus hospedeiros a uma certa distância utilizando mecanismos visuais e olfatórios e, após o contato, “selecionam” seus hospedeiros através de mecanismos gustativos (Visser, 1986; Renwick & Chew, 1994). No entanto, a composição do odor percebido pelo inseto varia com relação à concentração, que é diferente, desde o instante em que o inseto está longe da fonte até o momento em que o inseto oviposita e/ou mastiga os tecidos da planta com suas peças bucais (Visser, 1986).

A traça do tomateiro *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) é um inseto oligófago neotropical que ataca solanáceas e desde 1960 tem sido considerada uma das principais pragas da cultura do tomateiro em muitos países da América do Sul. Atualmente, esse inseto-praga é encontrado em todo o território nacional, sempre em altos níveis de infestação proporcionando grandes prejuízos à agricultura, perdas que variam de 40 a 100% (Haji *et al.*, 1988; de Souza & Reis, 1992). Suas larvas minadoras alimentam-se do mesófilo foliar construindo galerias transparentes e podem, também, perfurar o caule e o broto terminal, danificar flores e frutos. Os tomates ficam mais suscetíveis, tornando-se, na maioria das vezes, inviáveis à comercialização e podem ocasionar a morte da planta (França & Castelo Branco, 1992; de Souza & Reis, 1992).

Atualmente, o tomateiro (*Solanum lycopersicon*) é uma das mais importantes hortaliças cultivadas no mundo, tanto por área como pelo seu valor comercial. Extremamente popular, os antioxidantes presentes no tomate são o principal alvo devido aos seus efeitos preventivos sobre algumas doenças crônicas como câncer e doenças do coração (Nonomura *et al.*, 2009). O Brasil está, hoje, entre os dez maiores produtores de tomate do mundo (FAO, 1994) e é considerada uma das poucas culturas em que pragas e doenças são igualmente importantes, podendo ser utilizada como hospedeira por cerca de 200 espécies de artrópodes, incluindo a traça-do-tomateiro.

O controle da traça-do-tomateiro tem sido feito, em geral, através de aplicações múltiplas de inseticida (Zambolim *et al.*, 2007). Além de onerar custos de produção, o uso excessivo de substâncias químicas provoca efeitos adversos sobre o ambiente, afeta negativamente predadores e parasitóides. Além disso, aumenta a possibilidade de desenvolvimento de populações de praga resistentes aos inseticidas (Guedes *et al.*, 1994). Considerando todos esses fatores e sua importância econômica, temas a respeito da ação de inseticidas, controle biológico, resistência de plantas e a biologia de *T. absoluta*, tem sido extensivamente estudados. Entretanto, pouca atenção tem sido dada aos mecanismos de localização e seleção da planta hospedeira. Em decorrência da importância da quimiorrecepção na seleção de plantas hospedeiras por insetos, acredita-se que estímulos químicos produzidos pelas plantas de tomate devam regular, ao menos parcialmente, suas relações interespecíficas com esse inseto-praga, os quais possibilitam sua resposta seletiva.

Considerando isso, (Oliveira, 2004) caracterizou 57 subamostras de *Solanum lycopersicon* do Banco de Germoplasma da UFV (BGH-UFV) quanto as possíveis causas químicas responsáveis pela resistência de *T. absoluta*. Através da liberação de adultos em estufa, concluiu que as subamostras BGH-674 e BGH-1497 não foram escolhidas ou atacadas por esse inseto e que a subamostra BGH-1708 também foi pouco

preferida. Posteriormente, (Castro Antônio, 2006) identificou utilizando experimentos de oviposição, que entre as 15 subamostras mais resistentes segundo Oliveira (2004), a BGH-1497 foi também a menos preferida. Com relação a subamostra mais preferida para oviposição, a BGH-489 foi apontada como muito suscetível, com suscetibilidade próxima a observada na variedade Santa Clara que tem sido apontada como “padrão de susceptibilidade” na resistência de plantas de tomate a fêmeas de *T. absoluta* (Ecole *et al.*, 1999, 2000; Giustolin *et al.*, 2002; Leite *et al.*, 2001; Suinaga *et al.*, 1999, 2004; Oliveira, 2004; Thomazini *et al.*, 2001).

Observa-se, portanto, que fêmeas de *T. absoluta* respondem diferentemente as subamostras de tomate do BGH-UFV e propõe-se determinar por meio de estudos comportamentais envolvendo técnicas de olfatométria em túnel de vento e oviposição, os prováveis mecanismos envolvidos nessa escolha. Assim, os genótipos escolhidos levaram em consideração os resultados obtidos por (Oliveira, 2004) e (Castro Antônio, 2006) quanto à preferência de fêmeas de *T. absoluta*. Por fim, os genótipos escolhidos foram agrupados em resistentes (subamostras BGH-674, BGH-1497, BGH-1708) e suscetíveis (subamostra BGH-489 e a variedade Santa Clara).

Essa dissertação foi dividida em dois capítulos, o Capítulo I, (i) aborda a resposta das fêmeas de *T. absoluta* a correntes de ar associadas aos voláteis emitidos pelas folhas de tomate de diferentes genótipos em túnel de vento, (ii) analisa a importância dos comportamentos desempenhados durante o voo na escolha de um hospedeiro e (iii) estuda as características químicas que podem estar envolvidas nesta escolha. O Capítulo II, aborda a discriminação de locais de oviposição por fêmeas de *T. absoluta*. Finalmente, na Discussão Geral, os resultados de localização e oviposição são relacionados considerando a importância dos compostos voláteis nesses dois sistemas.

## 2 Capítulo I

### Respostas de fêmeas acasaladas de *Tuta absoluta* à genótipos de tomate, *Solanum lycopersicon* em túnel de vento.

#### Resumo

Insetos utilizam receptores olfativos presentes em sua maioria na antena para reconhecer compostos voláteis liberados a distância pelo hospedeiro. Fêmeas de *Tuta absoluta* por serem oligófagas são extremamente seletivas em sua escolha. O objetivo deste estudo foi analisar em túnel de vento, a resposta de fêmeas acasaladas de *T. absoluta* à diferentes genótipos de *Solanum lycopersicon* (subamostras BGH-674, BGH-1497, BGH-1708, BGH-489 e a variedade Santa Clara). Além disso, através da elaboração de um etograma, foram observados os comportamentos desempenhados durante o voo e sua influência na “localização” de um hospedeiro. Considerando isso, apenas o comportamento de pouso das fêmeas foi influenciado pelo genótipo ( $p=0.004$ ,  $gl=[1,63]$ ), havendo uma preferência pelo genótipo Santa Clara. Além disso, também foi possível inferir que fêmeas encontram mais rapidamente as fontes suscetíveis ( $p=0.0001$ ,  $gl=[1,261]$ ). Nos demais comportamentos, antenação ( $p=0.329$ ,  $gl=[4,60]$ ), alçar voo ( $p=0.237$ ,  $gl=[4,60]$ ), voo desorientado ( $p=0.830$ ,  $gl=[4,60]$ ), voo orientado ( $p=0.664$ ,  $gl=[4,60]$ ) e aproximação ( $p=0.152$ ,  $gl=[4,60]$ ), as respostas das fêmeas não variaram entre os genótipos. Após essa análise comportamental, utilizando um Cromatógrafo Gasoso com Espectrômetro de Massa, verificou-se a presença de sete compostos químicos e sua provável influência na

resposta das fêmeas. Considerando isso, apenas para o composto (+)-4-carene pode-se estabelecer uma relação negativa de atratividade para as fêmeas, que diminuiu com o aumento da abundância relativa do mesmo ( $p=0.0028$ ). Além disso, a abundância relativa total dos terpenos variou entre os genótipos, sendo mais abundante nos resistentes do que nos suscetíveis ( $p=0.015$ ) que também foi negativamente relacionada com a atratividade para as fêmeas. Finalmente, as subamostras BGH-1497, BGH-674 e BGH-1708 foram considerados resistentes por antixenose e a sua utilização como ferramenta na seleção de plantas hospedeiras e no monitoramento de pragas demonstra-se promissora.

## 2.1 Introdução

Diversos estudos têm sido realizados com a finalidade de demonstrar o papel de compostos voláteis na orientação de mariposas aos seus hospedeiros. Em contraste com espécies polífagas, espécies monófagas e oligófagas são extremamente seletivas em sua escolha (Bernays & Chapman, 1994). Determinar a presença e a localização de plantas hospedeiras adequadas é uma tarefa difícil e por isso, requer de mecanismos de detecção sofisticados e depende de “como um inseto enxerga o mundo” (Dethier, 1982).

A seleção da planta hospedeira envolve a localização, o reconhecimento e a aceitação do hospedeiro. Um inseto inicialmente detecta e localiza o habitat de seu hospedeiro, para depois escolher uma espécie e dentro desta, um indivíduo (Ramaswamy, 1988; Fenemore, 1988). A cor e a forma da planta provavelmente desempenham um papel menor nessa localização por lepidópteros noturnos, apesar de existirem exceções (Renwick & Chew, 1994). No entanto, a localização de uma fonte depende de dois fatores principais: da presença de um odor atrativo e da detecção da direção do vento (Cardé & Willis, 2008).

Para obter sucesso nesse encontro, insetos utilizam a anemotaxia optomotora modulada por odor para voar contra o vento e em direção a uma fonte de odor (Kennedy & Marsh, 1974; Vickers & Baker, 1994). Esse comportamento de voo é mediado pela visão e no momento em que o inseto está voando, marca pontos fixos no solo e utiliza o fluxo dessas imagens que passam pelos seus olhos para determinar a direção do vento e assim sua velocidade (Kennedy & Marsh, 1974; Nottingham, 1988; Rucker & Haynes, 2004). Como resultado, um inseto encontra a pluma de odor a uma certa distância da planta e seu sistema olfatório responde aos estímulos detectados durante o voo (Chapman, 1999).

Um odor geralmente é uma mistura de compostos químicos (Bäckman *et al.*, 2001; Bengtsson *et al.*, 2001; Ansebo, 2004; Tasin, 2005) que desencadeiam uma reação comportamental específica: a orientação contra o vento (Cardé & Willis, 2008). Nesses casos, a abundância de compostos do começo ao fim da pluma será próxima aquela emitida pela fonte. Pacotes de odor podem assim persistir a muitos metros da origem da pluma e a favor do vento. Portanto, a navegação do inseto ao longo de uma pluma turbulenta encontra pacotes de odor espaçados com trechos de ar puro (Cardé & Willis, 2008; Vickers & Baker, 1994).

Um inseto reconhece seu hospedeiro utilizando receptores olfativos, que estão presentes em sua maioria, na antena e em menor número nos tarsos, probóscide e no aparelho ovipositor da maioria dos insetos, incluindo lepidópteros (Visser, 1986; Renwick & Chew, 1994). As sensilas olfativas são compostas por vários poros, sendo que após a sua adsorção na cutícula superficial, a molécula de odor difunde através dos poros para a hemolinfa da sensila e dali para os dendritos das células sensoriais, gerando impulsos nervosos que são subsequentemente conduzidos para o sistema nervoso central (SNC), onde ocorre uma integração entre os inúmeros inputs sensoriais captados (Visser, 1986; Bernays & Chapman, 1994).

Dentro do SNC ocorre uma integração entre os mecanismos olfativos e gustativos e informações físicas, tais como a cor da planta, a forma e a textura (Dethier, 1982; Renwick & Chew, 1994), embora a percepção de odores seja muito mais eficiente que as demais, pois muitos insetos desprovidos da visão são capazes de encontrar seu hospedeiro (Bernays & Chapman, 1994; Schoonhoven *et al.*, 1998). O balanço de estímulos positivos e negativos determina se uma planta é aceitável ou não para oviposição (Renwick & Radke, 1988; Renwick & Chew, 1994). Assim, pela combinação correta dos inputs sensoriais, a planta é reconhecida como hospedeira e ocorre a atração ou pouso. Entretanto, quando ocorre o contrário, a planta é reconhecida como não hospedeira e o inseto não pousa na planta (Bruce *et al.*, 2005).

O objetivo deste estudo foi avaliar a resposta das fêmeas de *T. absoluta* a correntes de ar associadas aos voláteis emitidos pelas folhas de tomate de diferentes genótipos em túnel de vento e analisar a importância dos comportamentos desempenhados durante o voo na escolha por um hospedeiro. Após essa análise inicial, utilizando um Cromatógrafo Gasoso com Espectrômetro de Massa, verificou-se a presença e/ou ausência de compostos voláteis que possam ter mediado essa resposta diferenciada das fêmeas pelos genótipos.

## **2.2 Material e Métodos**

### **2.2.1 Obtenção de plantas de tomate**

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Semioquímicos da Universidade Federal de Viçosa - UFV/MG entre maio de 2008 a março de 2009. Na fase inicial do projeto, cinco genótipos de *Solanum lycopersicon* (subamostras BGH 674, BGH 1497, BGH 1708, BGH 489 e a variedade Santa Clara), do Banco de Germoplasma da UFV foram cultivados em local aberto e isolado. Assim que possível

passaram a ser cultivados em casa de vegetação (5 x 10m) com temperatura de  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  e umidade relativa do ar de  $70\pm 10\%$ .

Inicialmente, as sementes das quatro subamostras (cedidas pelo Banco de Germoplasma de Hortaliças da UFV) foram semeadas em bandeja de isopor de 128 células, com substrato próprio para hortaliças (PlantMax, Eucatex Agro). Ao atingir um tamanho adequado contendo de duas a três folhas definitivas cada, foram transplantadas para vasos maiores de 5 litros, com o mesmo substrato e em seguida levados para uma casa de vegetação. Como o substrato contém poucos macro e micronutrientes, adicionou-se a solução “Ouro Verde” composto por NPK (15:15:20) a cada sete dias e “Café Viçosa da Mata” (10%K, 3%B, 10%Cu, 1%Mg, 10%S, 8,2%Zn) duas vezes durante o período de muda e uma vez a cada 40 dias. Ambos os produtos, solúveis em água foram utilizados nas proporções indicadas pelos respectivos fabricantes.

O fungicida Cercobin 700 PM foi aplicado no período de seca, entre os meses de junho e julho de 2008 para o controle de oídios nas folhas, bastando somente uma aplicação. Em janeiro de 2009, o inseticida Cartap BR 500 foi aplicado apenas uma vez para o controle de mosca-branca. Considerando isso, essas plantas não foram utilizadas para experimentação durante os 20 dias subsequentes a essa operação, respeitando o período residual destes dois produtos, seguindo as recomendações do Ministério da Agricultura (2009).

### **2.2.2 Criação de *Tuta absoluta***

Os ovos para o início da criação foram transferidos juntamente com as folhas de tomate da variedade Santa Clara para gaiolas de madeira com armação de tela, medindo 30x20x30 e acondicionadas em um sala com temperatura de ( $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ ), umidade relativa de  $70\pm 10\%$  e fotofase de 12 horas. Após a eclosão, as lagartas foram

alimentadas com folhas novas desta mesma variedade, substituídas periodicamente sempre que necessário. Na criação de *T. absoluta*, as lagartas foram mantidas em folhas de tomateiro com os pecíolos imersos em frascos de vidro contendo água com solução nutritiva "ouro verde" (na proporção recomendada pelo fabricante - 7g/L), para manter o turgor das folhas. Ao envelhecerem e se tornarem inadequadas para a alimentação, as folhas foram dispostas no fundo da gaiola de madeira, permitindo a migração das lagartas para o material renovado. Cerca de 7 a 11 dias após a eclosão das lagartas, finda a fase larval e considerando que as lagartas têm o hábito de abandonar as folhas verdes e buscar as folhas secas para empupar, as folhas secas foram cuidadosamente retiradas da gaiola.

Após a triagem das folhas, as pupas foram cuidadosamente retiradas de dentro das folhas e sexadas segundo método preconizado por Coelho & França (1987). Estas foram enviadas para uma outra sala de criação, sem presença de qualquer tipo de odor proveniente de plantas. As pupas macho e fêmea foram colocadas em gaiolas separadas. Dentro de cada gaiola foi fornecida solução açucarada (10%). Para a realização dos experimentos, foram utilizadas apenas fêmeas recém emergidas e acasaladas (Lima *et.al*, em preparação). Com o auxílio de uma lanterna com filtro vermelho, os acasalamentos foram observados entre a última hora da fase escura até as três horas seguintes da fase clara (Hickel, 1989). Considerando que alguns acasalamentos não foram observados, as fêmeas foram dissecadas para verificar a presença do espermatóforo, classificando-as como acasaladas e não acasaladas. Os resultados obtidos de fêmeas não acasaladas foram descartados. As fêmeas acasaladas de *T. absoluta* foram levadas ao túnel de vento para a experimentação entre a última hora da fase clara e a primeira hora da fase escura (Lima *et.al*, em preparação).



Figura 1: Túnel de Vento do Laboratório de Semioquímicos

### 2.2.3 Túnel de Vento

Experimentos em túnel de vento são realizados para estudar a orientação de insetos, como localização de fonte de odores, feromônios naturais ou sintéticos (Witzgall & Priesner, 1991). Devido aos problemas de interpretação dos resultados em olfatômetro, pesquisadores têm enfatizado a importância da execução de testes em túnel de vento para examinar comportamentos anemotáticos e assim simular condições naturais (Renwick & Chew, 1994). O túnel de vento do laboratório de Semioquímicos (3x1x1m) (Figura 1) é constituído por um ventilador, uma câmara de laminarização de fluxo de ar e um exaustor. A planta quando colocada em frente ao ventilador, proporciona o deslocamento do fluxo de ar em direção à fêmea e permite assim o voo livre em direção à fonte. Esta técnica objetiva revelar a influência dos compostos da planta no papel comportamental dos insetos.

A metodologia utilizada neste estudo foi baseada em estudos realizados em túnel de vento por Kennedy & Marsh (1974); Vickers & Baker (1994); Reddy & Guerrero (2000); Bengtsson *et al.* (2001); Tasin (2005); Ansebo (2004), com algumas adaptações necessárias para sua execução.

Antes da realização dos testes em túnel de vento, uma fumaça produzida pela reação de ácido clorídrico e amônia foi produzida para a observação da trilha da pluma de odor. A velocidade do vento e o local de inserção da planta e do inseto foram ajustadas. Sendo assim, o vento produzido pelo ventilador foi calibrado para 0,35 m/s e a distância entre planta e inseto foi fixada em 1,70m. Para o ajuste final do túnel de vento utilizou-se machos em resposta ao feromônio sexual de fêmeas virgens. Neste caso a frequência de resposta máxima (tocar na fonte) foi em torno de 90%.

As fêmeas foram testadas individualmente, posicionando-as sobre um suporte de ferro, dentro de um tubo de vidro (15x3cm) com as extremidades vedadas com tela. Na outra extremidade do túnel em frente ao ventilador foram colocados, individualmente, cada um dos genótipos. Antes da realização dos experimentos, as folhas foram pesadas a fim de se obter pesos semelhantes entre os genótipos. Dentro de um frasco de vidro (5x2cm) contendo água foram colocadas três a quatro folhas de cada genótipo, retiradas com aproximadamente 20 minutos de antecedência ao teste.

As fêmeas foram deixadas na sala do túnel para aclimação por pelo menos 1 hora antes da realização dos experimentos. Em um mesmo dia, em aproximadamente 1-2 horas, foram testados todos os genótipos procurando desta forma evitar possíveis erros experimentais em decorrência da variação diária de temperatura, umidade e pressão atmosférica.

As fêmeas foram colocadas uma a uma dentro do túnel no momento da observação. Para possibilitar a visualização e ao mesmo tempo evitar a interferência da luz na exibição dos comportamentos, a luminosidade foi previamente regulada. Sendo assim, foram deixadas acesas uma luz amarela localizada do lado de fora do túnel

e algumas lampadas vermelhas espalhadas ao redor do mesmo. A temperatura no interior do túnel foi de  $(23\pm 2^{\circ}\text{C})$  e umidade relativa do ar foi de  $(\text{UR de } 70\pm 5\%)$ .

Cada fêmea foi utilizada apenas uma vez e seu comportamento foi observado por até 2 minutos para cada fêmea, sendo criadas as seguintes categorias: parada (quando permaneceu imóvel dentro do tubo), antenação (quando a fêmea se posicionou na ponta do tubo de vidro), alçar voo (quando a fêmea saiu do tubo), voo desorientado (quando voou dentro do túnel sem seguir em direção a pluma de odor), voo orientado (quando a fêmea após antenar, voou em zigzag dentro da pluma de odor em direção à planta), aproximação (percorreu mais de 1,60m da distância em direção a planta) e finalmente, o pouso na fonte (após percorrer 1,70m de distância). Para as subamostras BGH-1497, BGH-489, BGH-674, BGH-1708 e a variedade Santa Clara, foram realizadas 79, 71, 76, 80 e 69 repetições, respectivamente. Considerando que o tempo gasto pelas fêmeas em túnel de vento também foi cronometrado, posteriormente, utilizando apenas os dados das fêmeas que pousaram na fonte foi calculada a velocidade média de encontro das plantas. Sendo assim, para obter esse cálculo de velocidade, a distância total (1,70m) foi dividida pelo tempo gasto por cada fêmea, considerando como tempo, o instante em que a fêmea foi liberada no túnel até o instante em que ela pousou na planta.

Foram feitas análises separadas para cada um dos comportamentos estudados, considerando-os como variável resposta ( $y$ ). Os genótipos foram analisados como variável explicativa ( $x$ ), observando sua influência na resposta das fêmeas testadas em um mesmo dia para o comportamento em questão, usando Modelagem Linear Generalizada (GLM). A verificação da distribuição dos dados e a adequabilidade da distribuição empregada, foi analisada visualmente no gráfico da distribuição dos resíduos.

Considerando isso, os resultados obtidos para cada comportamento analisado foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com distribuição Binomial, corrigidos para sobredispersão quando necessário. Foram analisados no programa estatístico livre “R” (R Development Core Team, 2006) considerando como significativo  $p < 0,05$ . Nos casos em que os genótipos influenciaram na resposta das fêmeas em túnel de vento, foram feitas análises de contraste entre as categorias da variável explicativa (x), afim de se evidenciar a real diferença entre elas. A simplificação do modelo foi inicialmente realizada retirando termos não significativos e posteriormente, uma nova ANOVA foi realizada obtendo um novo cálculo de significância para os termos restantes. Assim, novos modelos foram sendo construídos e testados e nos casos em que a significância foi semelhante, foi feito o amalgamento dos mesmos.

#### **2.2.4 Coleta de voláteis - “Headspace”**

Para a coleta de voláteis foram utilizadas três a quatro folhas de tomate dos respectivos genótipos de *Solanum lycopersicon*, com aproximadamente 90 dias de idade. As folhas foram retiradas com até 20 minutos de antecedência, pesadas e colocadas no interior de um frasco de vidro de 2 L hermeticamente fechado com junta esmerilhada (Figura 2). O método consiste em uma corrente de ar filtrado com carvão ativado que passa no interior do frasco de cima para baixo e posteriormente, em um filtro contendo 50 mg de um polímero adsorvente (Super Q) por meio de uma bomba de vácuo. O tubo contendo o carvão ativado e o filtro com Super Q são conectados ao frasco por meio de uma conexão com encaixe esmerilhado. O fluxo de ar foi regulado para 150mL/min e as coletas foram feitas durante 24 horas em sala climatizada, com extrator a 22°C com luminosidade de 0,5 lux para simular as condições do período de maior atração do inseto no campo. Ao final da coleta, a mistura foi eluída com um solvente (Agelopoulos & Pickett, 1998; Bengtsson *et al.*,



Figura 2: Sistema de aeração utilizado para coleta de voláteis de folhas de tomate (2001), no caso  $400\mu\text{l}$ , sendo realizadas seis repetições para cada um dos genótipos. Para conservação do material as amostras foram transferidas para microcapilares com 10, 20 e  $30\mu\text{l}$  fechadas nas duas extremidades e armazenados em congelador a  $-19^{\circ}\text{C}$ . Posteriormente, o conteúdo dos capilares foi submetido a análise de cromatografia gasosa com espectrômetria de massa.

### 2.2.5 Cromatografia Gasosa e Espectrômetria de Massa (GC-MS)

O conteúdo obtido através da aeração das folhas de tomate (genótipos BGH-674, BGH-1497, BGH-1708, BGH-489 e variedade Santa Clara), foi retirado dos capilares e analisados em um Cromatografo Gasoso acoplado a um Espectrômetro de Massa. Um CG (Agilent Technologies 7890A) equipado com uma coluna de sílica fundida (25 m x 0.32 mm DB-5) com  $5\mu\text{m}$  de espessura (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). O hélio foi usado como gás de arraste com pressão de 7,07 psi. Amostras de  $10\mu\text{l}$  foram injetadas no cromatógrafo no modo splitless. O forno foi programado a  $40^{\circ}\text{C}$  (por 3 minutos) a  $280^{\circ}\text{C}$  ( $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ), permanecendo nesta temperatura por

5 minutos. A temperatura foi então elevada a 300°C (10 min). A identificação preliminar dos compostos foi confirmada pela comparação da área dos picos e seus espectros de massa com os dados da biblioteca interna Nist05a.L. Posteriormente, os compostos foram selecionados levando em consideração sua presença em pelo menos quatro dos cinco genótipos em estudo e aceitando apenas aqueles com semelhança acima de 90%. Isso reduziu o número de compostos analisados e, portanto, foi feito um novo cálculo da área dos picos obtendo-se a porcentagem de cada um dos compostos para cada amostra. Assim, tornou-se possível estabelecer uma comparação entre a abundância relativa desses compostos e os genótipos estudados. Posteriormente, para cada um dos compostos foram realizadas análises de regressão linear considerando o cálculo de área dos picos (%) das amostras nos respectivos genótipos como variável explicativa (x) e como variável resposta (y) o resultado de frequência obtido pelo comportamento de pouso de *T. absoluta*, a fim de possibilitar uma análise da influência de tais compostos na resposta das fêmeas. Foram analisados no programa estatístico livre R (R Development Core Team, 2006) considerando como significativo  $p < 0,05$ .

## 2.3 Resultados

### 2.3.1 Comportamentos em Túnel de Vento

Os resultados obtidos em túnel de vento demonstraram que para os comportamentos de antenação ( $p=0,329$ ,  $gl=[4,60]$ ), alçar voo ( $p=0,237$ ,  $gl=[4,60]$ ), voo desorientado ( $p=0,830$ ,  $gl=[4,60]$ ), voo orientado ( $p=0,664$ ,  $gl=[4,60]$ ) e aproximação ( $p=0,152$ ,  $gl=[4,60]$ ), as respostas das fêmeas não variaram entre os genótipos. Portanto, dos seis tipos de comportamentos observados, apenas o comportamento de pouso foi influenciado pelos odores emitidos pelos diferentes genótipos ( $p=0,004$ ,  $gl=[1,63]$ ). Observou-se que fêmeas de *T. absoluta* foram capazes de discriminar os

genótipos em túnel de vento e que existe uma acentuada preferência pelo genótipo Santa Clara (Figura 3). Além disso, também foi possível inferir que a velocidade de encontro da fonte por estas fêmeas foi diferenciada entre os genótipos ( $p=0,0001$ ,  $gl=[1,261]$ ). Através do cálculo de velocidade média das fêmeas, pode-se observar que as fêmeas alcançam mais rapidamente as fontes suscetíveis (BGH-489 e Santa Clara) do que as resistentes (BGH-674, BGH-1497, BGH-1708) (Figura 4).

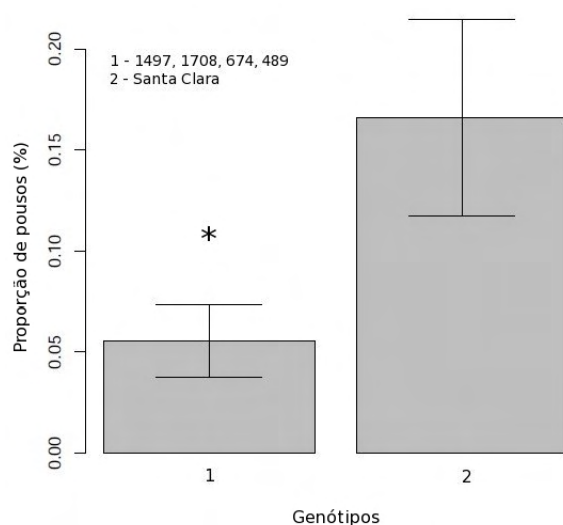


Figura 3: Proporção de fêmeas acasaladas de *Tuta absoluta* que pousaram nos diferentes genótipos de *Solanum lycopersicon* em túnel de vento. O experimento foi conduzido a  $25^{\circ}\text{C}\pm 5$ , UR de  $70\pm 5\%$  ( $p=0,004$ ,  $gl=[1,63]$ ).

### 2.3.2 Compostos voláteis

Dentre os picos de compostos voláteis encontrados nos cromatogramas, sete terpenóides foram escolhidos de acordo com sua abundância. No entanto, observa-se na Tabela 1 que o monoterpeno  $\beta$ -pineno, não foi encontrado na subamostra BGH-1497 e o sesquiterpeno  $\alpha$ -cariofileno não foi encontrado na variedade Santa Clara. Apesar disso, apenas para o composto (+)-4-Careno pode-se estabelecer uma relação significativa negativa entre a atração das fêmeas de *T. absoluta* com a presença deste

composto ( $p=0,0028$ ,  $gl=[1,3]$ ). Isso pode ser observado na Figura 5 em que a atração das fêmeas diminui com o aumento deste composto. Com relação aos demais compostos voláteis,  $\alpha$ -felandreno ( $p=0,8304$ ,  $gl=[1,3]$ ),  $\beta$ -felandreno ( $p=0,4088$ ,  $gl=[1,3]$ ),  $\alpha$ -pineno ( $p=0,723$ ,  $gl=[1,3]$ ), cariofileno ( $p=0,2525$ ,  $gl=[1,3]$ ),  $\beta$ -pineno ( $p=0,2655$ ,  $gl=[1,3]$ ) e  $\alpha$ -cariofileno ( $p=0,3654$ ,  $gl=[1,3]$ ), a resposta das fêmeas não foi afetada pelos respectivos compostos. A Tabela 1, também mostra que a concentração dos terpenos variou entre os genótipos, sendo encontrados em maiores concentrações nos resistentes do que nos suscetíveis ( $p=0,0153$ ,  $gl=[1,3]$ ). Além disso, o aumento da abundância relativa dos terpenos foi negativamente relacionada com a atração das fêmeas (Figura 6), ou seja, a medida que a abundância relativa desses VOCs aumenta, a atração diminui.

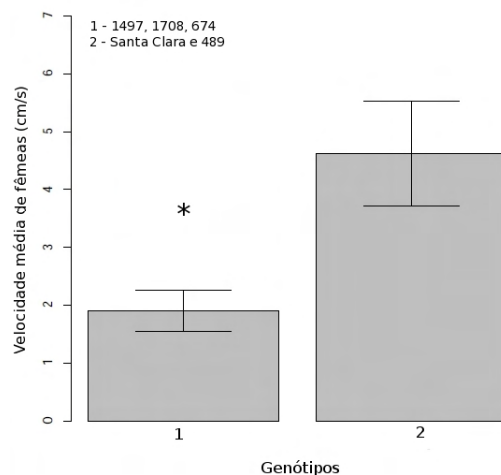


Figura 4: A velocidade das fêmeas de *T. absoluta* em túnel de vento foi afetada pelo genótipo, alcançando mais rapidamente as fontes suscetíveis do que as resistentes. O experimento foi conduzido à temperatura de  $25^{\circ}\text{C}\pm 5$ , UR de  $70\pm 5\%$  ( $p=0,001797$ ,  $gl=[1,261]$ ).

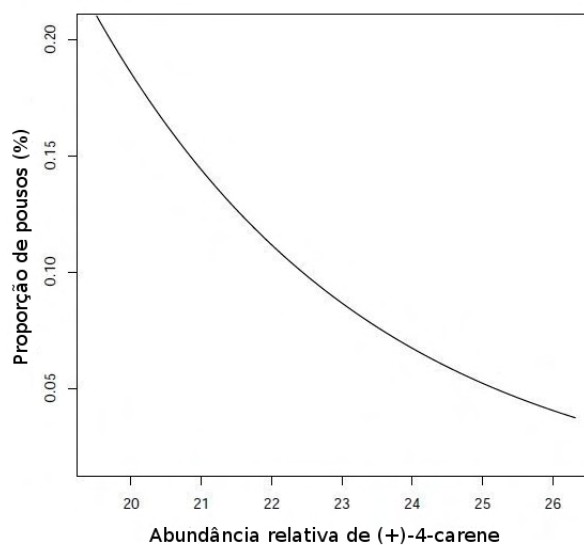


Figura 5: Relação entre a abundância relativa do (+)-4-Careno extraído de folhas de tomate na resposta de fêmeas de *T. absoluta* em túnel de vento ( $p=0,003$ ,  $gl=[1,3]$ ).

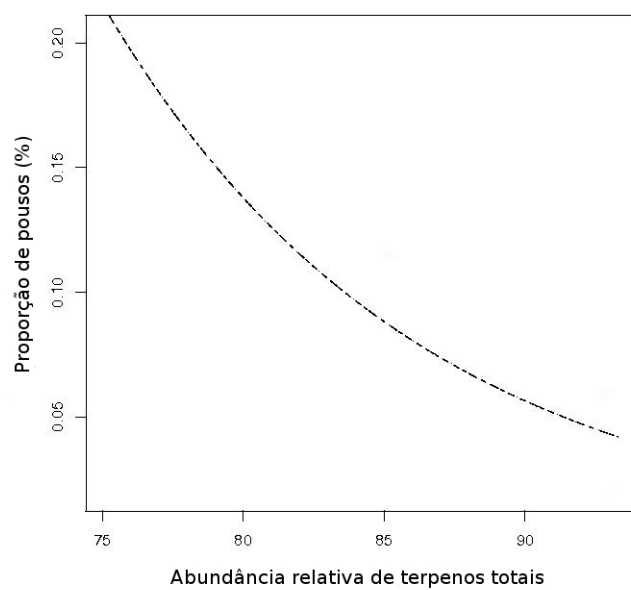


Figura 6: Relação entre a atratividade dos terpenos totais para fêmeas de *T. absoluta* em túnel de vento, demonstrando que o aumento da abundância relativa destes compostos influenciou negativamente a atração das fêmeas ( $p=0,0153$ ,  $gl=[1,3]$ ).

Tabela 1: Abundância relativa (%) dos terpenos voláteis emitidos pelos diferentes genótipos de *Solanum lycopersicon*

Genotypes	$\beta$ -felandreno	$\alpha$ -pineno	$\beta$ -pineno	cariofileno	$\alpha$ -felandreno	(+)-4-careno	$\alpha$ -cariofileno	emissão total
BHG-1708	55,07	3,58	0,58	4,87	3,99	24,22	0,7	93,01
BGH-674	43,3	4,88	0,18	2,58	3,49	25,28	0,28	79,99
BGH-1497	53,29	3,56	NI <sup>2</sup>	5,75	3,78	26,32	0,61	93,31
BGH-489	49,03	4,03	0,17	7,46	4,02	19,51	1,02	85,24
Santa Clara	46,7	3,59	0,52	0,18	3,77	20,38	NI <sup>2</sup>	75,14
P value	0,4088	0,723	0,2655	0,2525	0,8304	0,0028 <sup>1</sup>	0,3654	0,0153 <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Houve significância entre os termos. <sup>2</sup>Não identificado para este composto.

## 2.4 Discussão

Fêmeas de *T. absoluta* discriminaram plantas de genótipos suscetíveis e resistentes em túnel de vento, demonstrando uma acentuada preferência pelo genótipo Santa Clara (Figura 3). Apesar das lagartas de *T. absoluta* terem sido criadas nesta mesma variedade, ao considerar que os adultos foram isolados e mantidos sem contato com qualquer tipo de odor de plantas e que, além disso, essa variedade tem sido considerada por diversos autores como uma planta hospedeira de ótima qualidade (Ecole *et al.*, 1999, 2000; Giustolin *et al.*, 2002; Leite *et al.*, 2001; Suinaga *et al.*, 1999, 2004; Oliveira, 2004; Thomazini *et al.*, 2001), descarta-se a possibilidade de que esta preferência das fêmeas seja um resultado do aprendizado das lagartas e que isso tenha interferido nos resultados dos experimentos.

Considerando que este inseto é oligófago e noturno, é provável que os compostos voláteis detectados durante o voo, tenham sido determinantes para a escolha e agilidade com que as fêmeas encontraram seus hospedeiros. Ao permanecer dentro da pluma durante o voo, fêmeas de lepidópteros reagem rapidamente a detecção de odor (Cardé & Willis, 2008). Em *T. absoluta* esse encontro foi relativamente rápido, quando comparado com outras mariposas como machos de *Cadra cautella* (Lepidoptera: Crambidae), por exemplo, que alcançam sua fonte em  $\approx 10$  min/seg (Cardé & Willis, 2008).

Considerando ainda que a abundância relativa dos compostos foi menor nos genótipos suscetíveis e que fêmeas alcançam mais rapidamente essas fontes (BGH-489 e variedade Santa Clara) (Figura 4) pode-se então sugerir uma relação entre a resposta de fêmeas com a abundância de terpenos, pois sabe-se que compostos que normalmente atraem um inseto, podem exercer repelência em altas concentrações e ainda, que a ação desses repelentes pode ocorrer apenas próximo a fonte (Visser, 1986). Isso poderia explicar também porque ao se aproximarem de plantas

resistentes, as fêmeas frequentemente rodearam a planta antes de pousar e na maioria dos casos voaram a favor ou contra o vento. Nesses casos, em 90% das vezes, as fêmeas de *T. absoluta* voaram a favor do vento e pousaram no lado oposto do túnel. Esse padrão de comportamento de voo em túnel de vento também já foi observado por outras mariposas, como por exemplo, com *Manduca sexta* (Lepidoptera: Sphingidae) (Bernays & Chapman, 1994). Outra explicação para esse resultado, seria que antes de aceitar uma planta como adequada para oviposição, a fêmea permanece voando próximo a ela, simplesmente para continuar acumulando mais estímulos positivos a cada vez que ela se aproxima, com a finalidade de estimular o pouso (Finch & Collier, 2000).

A seleção de plantas hospedeiras por fêmeas de *T. absoluta*, poderia ser explicada pela teoria de pousos “apropriados/inapropriados” (Finch & Collier, 2000), que defende a idéia de que a decisão de pousar e ficar numa planta é determinada primeiramente pelos compostos químicos que um inseto detecta via quimiorreceptores, mas não apenas por esse motivo. Deve-se lembrar que um inseto pode continuar a procura por uma espécie específica, antes de aceitar a primeira planta que ele encontrar. Considerando isso, para encontrar uma fonte o inseto pode utilizar duas estratégias: a primeira consiste na excitação do inseto que o coloca em ponto de alçar voo como resposta a um estímulo, percebido por seus quimiorreceptores (Bernays & Chapman, 1994). Esse comportamento desempenhado por fêmeas de *T. absoluta* é facilmente reconhecido em túnel de vento, que ainda dentro do tubo, interrompem qualquer movimento, exibem antenação em forma de “V” por alguns segundos e logo em seguida se excitam balçando as asas e alçam voo na direção contrária a pluma. Considerando que os resultados de resposta das fêmeas no comportamento de antenação ( $p=0,329$ ) e alçar voo ( $p=0,237$ ) não foram afetados pelos genótipos, pode-se supor que os compostos voláteis liberados por essas plantas não foram determinantes

para inibir as fêmeas de exibirem esse comportamento em túnel de vento. Além disso, pode-se estabelecer uma relação entre a exibição deste comportamento com o simples fato de detecção da direção do vento. Isso porque ao perceber um odor um inseto geralmente utiliza inicialmente a direção do vento que o permite direcionar seus movimentos em direção a planta (Cardé & Willis, 2008).

A segunda estratégia para encontrar um fonte de odor consiste na orientação que ocorre após levantar vôo. Fêmeas de *T. absoluta* exibem resposta optomotora para localizar um hospedeiro, exibindo zigzags em túnel de vento em direção a planta. Esse comportamento também tem sido observado em outras mariposas, como *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae)(Tasin, 2005). Antes de pousar, as fêmeas se orientam pelo odor carregado pelo vento e enquanto for estimulada, voará contra o vento em zigzag (Kennedy & Marsh, 1974). Caso a fêmea perca a pluma de odor e não consiga se reorientar irá voar para uma direção qualquer. Uma estratégia utilizada por mariposas para reencontrar uma pluma perdida no qual o deslocamento contra o vento se cessa, consiste em fazer zigzags cada vez mais largos perpendiculares a linha de direção do vento (Cardé & Willis, 2008) e diminuir sua velocidade. Observações do voo de fêmeas de *T. absoluta* em túnel de vento, permitem sugerir que o padrão de resposta é similar ao de machos coespecíficos, pois ambos exibem voos em zigzag característicos quando voam em direção a uma fonte de odor. Esse padrão de comportamento é programado no sistema nervoso do inseto e continua enquanto ele for estimulado pelo odor carregado pelo vento.

Ambos os comportamentos de voo orientado ( $p=0,664$ ) e voo desorientado ( $p=0,830$ ) também não foram afetados pelos genótipos. Inferir um motivo pelo qual todos esses padrões de comportamento ocorrem, é um dos maiores entraves do entendimento da relação entre manobras de orientação de vôo e os padrões de encontro do odor (Cardé & Willis, 2008). Uma planta hospedeira emite um grande número de

semioquímicos potenciais e é difícil estabelecer o significado comportamental destes odores no reconhecimento de plantas hospedeiras pela maioria dos insetos (Hansson *et al.*, 1999). Outro problema é que não se consegue estabelecer facilmente como as manobras de um inseto correspondem aos padrões de encontro dos trechos de odor (Cardé & Willis, 2008). Inicialmente, tentativas de liberar uma fêmea de *T. absoluta* e inserir dois genótipos ao mesmo tempo no túnel de vento, foram realizadas e, posteriormente, descartadas por dificultar ainda mais essa visualização e interpretação. O problema em adotar essa metodologia é não deixar de considerar que a adição de uma planta pode ocasionar uma obstrução física, camuflagem, mascaramento de odor e repelência química ocasionada por ambas as plantas (Finch & Collier, 2000). Portanto, a metodologia foi modificada para possibilitar a observação dos comportamentos desempenhados pelas fêmeas.

Fêmeas de *T. absoluta* e de outras mariposas noturnas como por exemplo, um outro gelechídeo, *Phthorimaea operculella*, não iniciam seu comportamento de procura antes do pôr do sol. Isso sugere a probabilidade de que componentes visuais desempenhem um papel menos significativo nesse comportamento, sugerindo novamente que os compostos voláteis são mais importantes na localização do hospedeiro (Fenimore, 1988). Entretanto, como sabemos que a morfologia da planta (forma, tamanho e cor) é uma característica que também auxilia na localização por um hospedeiro (Visser, 1986; Renwick & Chew, 1994; Masante-Roca *et al.*, 2007) e que não se sabe até o momento da importância da visão desta localização por fêmeas de *T. absoluta*, seria interessante realizar experimentos semelhantes aos de Rucker & Haynes (2004). Neste trabalho, os autores provocaram uma mutação nos olhos de machos, que impossibilitou o voo em túnel de vento, mas não seu deslocamento na direção da fonte. Entretanto, caminhando sobre o solo, eles exibiram comportamentos de zigzag similares a indivíduos normais. Isso sugere que esse movimento possa ser um resultado da

natureza de um sinal intermitente que o inseto recebe, uma propriedade do sistema nervoso central ou mesmo ambas as sugestões.

Outro experimento realizado por Masante-Roca *et al.* (2007) escondendo partes da planta impossibilitando que fêmeas se guiassem pela visão, demonstra que elas iniciam o voo em busca da fonte, mas pousam menos em plantas escondidas do que em partes de planta visíveis, concluindo que a visão é importante na escolha de um hospedeiro a curtas distâncias. Rojas & Wyatt (1999) observaram em túnel de vento que o tamanho e a forma da fonte influenciam o pouso de fêmeas de *Mamestra brassicae* (Lepidoptera: Noctuidae). Prokopy & Owens (1983) demonstraram que moscas de raiz do repolho utilizam principalmente recursos visuais para encontrar seus hospedeiros. Entretanto, como comprovado por Kennedy & Marsh (1974); Nottingham (1988); Vickers & Baker (1994); Rucker & Haynes (2004); Cardé & Willis (2008), isso não exclui a orientação anemotática.

Analisando os resultados obtidos por Oliveira (2004) e Castro Antônio (2006) pode-se sugerir que fêmeas de *T. absoluta* em casa de vegetação, discriminaram os voláteis liberados pelos acessos e guiadas pelos odores, após o pouso realizaram a oviposição. Isso suporta a hipótese de que não foram encontrados ovos e minas nos acessos BGH-1497 e BGH-674, por serem resistentes por antixenose, pois a presença de compostos repelentes podem ter ocasionado a não preferência das fêmeas ou das lagartas por esses acessos. A utilização dos ORNs para o reconhecimento desses compostos repelentes pode ter fornecido ao inseto mais plasticidade para se adaptar a alguma mudança na emissão de um volátil proveniente de sua planta hospedeira (Bruce *et al.*, 2005). Pode-se concluir, portanto, que componentes voláteis liberados pelas plantas estão envolvidos na atração ou pouso de fêmeas de *T. absoluta* acasaladas na busca por seus hospedeiros.

Apenas a concentração de (+)-4-careno foi afetada pelo genótipo e sua concentração foi mais alta nos resistentes do que nos suscetíveis. Pode-se sugerir que devido aos problemas de infestação de moscas-brancas e fungos isso possa ter contribuído para a indução da liberação diferenciada deste composto. Sabe-se que a composição e a concentração dos compostos voláteis (VOCs) liberados pelas plantas influencia a atração de insetos (Bruce *et al.*, 2005) e plantas podem ainda alterar a expressão desses compostos devido a vários tipos de estress (Karban & Baldwin, 1997). A indução de defesas diretas e indiretas através das injúrias provocadas na planta (Sidney *et al.*, 2008), seu estado fisiológico e as condições climáticas (Cysne *et al.*, 2005) podem refletir em mudanças no comportamento de herbívoros (Masante-Roca *et al.*, 2007). Isso porque, todos esses fatores podem contribuir para uma variação do perfil dos voláteis e ocasionar diferenças comportamentais nos insetos.

Relacionando a abundância total de terpenos liberados por plantas suscetíveis e resistentes, a abundância dos voláteis nos genótipos suscetíveis foi menor, o que sugere que plantas resistentes alocam mais compostos para defesa. Andersson *et al.* (1980) estudaram pela primeira vez o perfil de compostos voláteis liberados após a indução de defesas indiretas a partir de danos mecânicos provocados em folhas de tomate *L. hirsutum*, *L. esculentum* e *L. peruvianum*. Após extirpar as folhas desses tomates, identificaram os seguintes voláteis:  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno,  $\alpha$ -terpinoleno,  $\alpha$ -thujeno,  $\alpha$ -terpineno, limoneno,  $\beta$ -felandreno,  $\rho$ -cimeno,  $\beta$ -cariofileno, humeno,  $\delta$ -elemeno e  $\gamma$ -terpineno. Corroborando com Andersson *et al.* (1980), Buttery *et al.* (1987) também encontrou em *L. esculentum* uma composição semelhante, obtendo como o composto mais abundante o  $\beta$ -felandreno, seguido do (+)-2-careno. Comparando folhas intactas com folhas danificadas, observou que dois aldeídos (E)-2-hexanal e (Z)-3-hexenal foram encontrados em concentrações baixas nas folhas intactas e que após três minutos de dano a sua concentração aumentou consideravelmente.

Concluiu que esses dois compostos seriam os principais responsáveis pelo “aroma da folha do tomate” juntamente com cariofileno, eugenol, 1,8-cineole,  $\beta$ -felandreno, humeno e linalol.

Farag & Pare (2002) também observaram que folhas de *L. esculentum* após dano por herbivoria também tiveram um aumento significativo nos níveis dos terpenos, incluindo o  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pinene, (+)-2-carene e  $\beta$ -felandreno. Sánchez-Hernández *et al.* (2006) testando a preferência de oviposição de *Manduca sexta* (Lepidoptera: Sphingidae) e *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae), verificaram que em plantas com menor taxa de emissão de VOCs e conseqüentemente de terpenos, são encontrados mais ovos. Sugerem que isso possa ser devido a necessidade em evitar plantas hospedeiras que atraem predadores, assim favorecendo a sobrevivência de sua prole.

Como o composto  $\beta$ -cariofileno não foi identificado no presente estudo, sugere-se que isso possa ter acontecido devido ao dano mecânico ocasionado pela extirpação do pecíolo, exercido nas folhas antes de utilizá-las na aeração. Isso porque Sánchez-Hernández *et al.* (2006) investigando o aumento da liberação de voláteis com o ataque de insetos e dano mecânico, observaram que ocorreu um aumento considerável na liberação do  $\beta$ -cariofileno após dano por herbivoria, mas não após dano mecânico. Corroborando com esses resultados, após submeterem Maes & Debergh (2003) folhas de *L. esculentum* a luminosidade contínua constataram que a concentração de  $\beta$ -cariofileno caiu consideravelmente, o que não aconteceu em plantas não estressadas que sempre mantiveram altos níveis de concentração de  $\beta$ -cariofileno.

Atualmente, a importância de técnicas eletrofisiológicas na elucidação do papel dos semioquímicos no comportamento de insetos tem sido enfatizadas, particularmente para insetos cujo os quimiorreceptores são acessíveis (Bruce *et al.*, 2005). Considerando isso, seria interessante realizar técnicas comportamentais e eletrofi-

siológicas para confirmar a importância desses compostos voláteis na atração ou repelência de fêmeas de *T. absoluta*.

Os terpenos identificados no presente estudo, corroboram com os descritos como responsáveis pelo “aroma” das folhas de tomate, sugerindo que independente do seu habitat natural, existe uma notável tendência dessas plantas biosintetizarem terpenóides, incluindo mono e sesquiterpenos. Alguns trabalhos sobre os possíveis compostos de folha envolvidos na resistência de tomateiros a *T. absoluta* já foram investigados. Entretanto, a maioria deles foram realizados a partir de extratos hexânicos (Ecole *et al.*, 1999, 2000; Suinaga *et al.*, 1999, 2004) e a maioria dos compostos voláteis considerados importantes na composição do “aroma da folha” (Andersson *et al.*, 1980; Buttery *et al.*, 1987; Smith *et al.*, 1996) não foram relatados. Além disso, os terpenos de espécies do gênero *Solanum* têm recebido atenção pela sua promissora utilização no melhoramento de plantas visando resistência a insetos pragas.

### 3 Capítulo II

#### Oviposição de *Tuta absoluta* em genótipos de *Solanum lycopersicon*

##### Resumo

Após localizar um hospedeiro, os insetos através da percepção de contato das características físicas e químicas da folha, determinam a adequabilidade da mesma para oviposição. A aceitação da planta para oviposição é evidente pela deposição de um ou mais ovos. Considerando isso, o objetivo deste estudo foi avaliar se fêmeas de *T. absoluta* seriam capazes de discriminar sítios de oviposição e, portanto, realizar uma oviposição diferenciada entre os genótipos. Para isso, foram escolhidos cinco genótipos de *Solanum lycopersicon*, dentre eles, três resistentes (subamostras BGH-674, BGH-1497, BGH-1708) e dois suscetíveis (subamostra BGH-489 e a variedade Santa Clara). Para a realização dos experimentos, foi sempre confinada apenas uma fêmea dentro de cada gaiola, sendo feitos três tipos de testes de oviposição. O primeiro oferecendo oportunidade de escolha entre todos os genótipos, colocando todos eles dentro de uma mesma gaiola, o segundo, ao contrário, individualizando cada genótipo dentro de pequenas gaiolas, sem proporcionar chance de escolha e o terceiro contrastando dois desses genótipos (um resistente e o outro suscetível). Após 24 horas contou-se o número de ovos depositados pelas fêmeas e observou-se que para o primeiro ( $p=0,924$ ) e segundo ( $p=0,06$ ) experimento, o número de ovos não foi afetado pelo genótipo. No terceiro experimento, apenas para o

contraste BGH-674/Santa Clara verificou-se que o número de ovos depositados em Santa Clara foi significativamente maior do que no acesso BGH-674 ( $p=0,025$ ). A partir desses resultados, não foi possível estabelecer uma relação de preferência entre os genótipos. Pode-se sugerir que características morfológicas como a presença de tricomas, a espessura da folha e compostos químicos presentes na cera da folha teriam pouca influência na oviposição de fêmeas. Além disso, não se descarta a hipótese de que uma diminuição no custo do tempo de procura pelas fêmeas seja uma estratégia adaptativa, pois após a eclosão, as lagartas podem migrar em busca de um outro hospedeiro. Entretanto, como este trabalho não avaliou tais características, estudos futuros avaliando essas diferenças entre os genótipos devem ser realizados a fim de se estabelecer uma relação entre as características da folha e o número de ovos colocados pelas fêmeas *T. absoluta*.

### 3.1 Introdução

Na localização de hospedeiros, a escolha por diferentes locais de oviposição por insetos herbívoros, ocorre usando uma seqüência de diferentes fases comportamentais (Hilker & Meiners, 2002) e é guiada pela detecção de compostos voláteis liberados pelos hospedeiros (Bernays & Chapman, 1994; Hilker & Meiners, 2002). Após localizar um hospedeiro a distância e chegar até a planta, um inseto precisa confirmar a adequabilidade da mesma e decidir se aceitará ou não aquela planta (Dethier, 1982; Bernays & Chapman, 1994). Além do olfato, a quimiorrecepção de contato, a mecanorrecepção e a visão também são consideradas extremamente importantes (Bernays & Chapman, 1994). Neste processo a visão pode estar envolvida tanto na localização do habitat quanto na do hospedeiro (Ramaswamy, 1988).

Entre mariposas, além de uma ampla variedade de estímulos químicos, os estímulos visuais e tácteis também são conhecidos por influenciar a escolha por locais

de oviposição. A avaliação de contato é realizada por receptores tarsais que também desempenham um importante papel na aceitação do hospedeiro ou rejeição de um não-hospedeiro. Entretanto, a textura da planta parece ser um fator mais crítico para mariposas, do que para borboletas, na avaliação de um potencial local de oviposição (Renwick & Chew, 1994). Os tricomas e cêra presentes na superfície da folha também exercem papel importante na seleção da planta hospedeira para oviposição (Hilker & Meiners, 2002).

A percepção de contato de características físicas e químicas da folha determina a adequabilidade da mesma para oviposição (Renwick & Chew, 1994). A aceitação da planta para oviposição é evidente pela deposição de um ou mais ovos. Entretanto, o número de ovos depositados é altamente variável e depende não somente do resultado da avaliação sensorial, mas também do estado fisiológico do indivíduo e experiência (Bernays & Chapman, 1994). Numa perspectiva evolucionária, a aceitação pode ser considerada uma decisão crucial que terá consequências diretas sobre a sobrevivência da prole (Renwick & Chew, 1994; Schoonhoven *et al.*, 2005).

A oviposição também pode ser influenciada por compostos produzidos por insetos da mesma espécie ou por insetos de espécies diferentes. Machos podem escolher a planta hospedeira e influenciar as fêmeas, utilizando feromônios (Hilker & Meiners, 2002). A qualidade nutricional da planta hospedeira é um fator determinante para insetos herbívoros, por exemplo, em alguns pulgões, que tem sua fecundidade aumentada em decorrência de um aumento da disponibilidade de nitrogênio (N) no floema. Caso contrário, ao encontrar um hospedeiro de baixa qualidade, uma fêmea pode modificar seu comportamento de oviposição através da redução na postura dos ovos por planta (Thompson & Pellmyr, 1991), tamanho e o conteúdo nutricional. Portanto, alguns insetos avaliam a qualidade da planta hospedeira para tomar decisões sobre o número e a qualidade dos ovos a serem depositados (Roitberg *et al.*,

1999; Awmack & Leather, 2002). Entretanto, é provável que se a fêmea estiver no fim da vida ela irá depositar todos seus ovos (Roitberg *et al.*, 1999).

Em estudos realizados com alguns lepidópteros, o número de compostos identificados como estimulantes de oviposição tem crescido nos últimos anos. Outros estudos têm fornecido informações sobre o envolvimento de classes de compostos químicos com a seleção de plantas hospedeiras para oviposição (Renwick & Chew, 1994). O objetivo deste estudo foi verificar se fêmeas de *T. absoluta* são capazes de discriminar genótipos de tomate que possuem características diferentes entre si.

## 3.2 Material e Métodos

### 3.2.1 Obtenção de plantas de tomate

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Semioquímicos da Universidade Federal de Viçosa - UFV/MG entre maio de 2008 a março de 2009. Na fase inicial do projeto, cinco genótipos de *Solanum lycopersicon* (subamostras BGH 674, BGH 1497, BGH 1708, BGH 489 e a variedade Santa Clara), do Banco de Germoplasma da UFV foram cultivados em local aberto e isolado. Assim que possível passaram a ser cultivados em casa de vegetação (5 x 10m) com temperatura de  $25\pm 2^\circ\text{C}$  e umidade relativa do ar de  $70\pm 10\%$ .

Inicialmente, as sementes das quatro subamostras (cedidas pelo Banco de Germoplasma de Hortaliças da UFV) foram semeadas em bandeja de isopor de 128 células, com substrato próprio para hortaliças (PlantMax, Eucatex Agro). Ao atingir um tamanho adequado contendo de duas a três folhas definitivas cada, foram transplantadas para vasos maiores de 5 litros, com o mesmo substrato e em seguida levados para uma casa de vegetação. Como o substrato contém poucos macro e micronutrientes, adicionou-se uma solução de “Ouro Verde” composto por NPK (15:15:20) a cada sete dias e “Café Viçosa da Mata” (10%K, 3%B, 10%Cu, 1%Mg, 10%S, 8,2%Zn)

duas vezes durante o período de muda e uma vez a cada 40 dias. Ambos os produtos, solúveis em água foram utilizados nas proporções indicadas pelos respectivos fabricantes.

O fungicida Cercobin 700 PM precisou ser aplicado no período de seca, entre os meses de junho e julho de 2008 para o controle de oídios nas folhas, bastando somente uma aplicação. Em janeiro de 2009, o inseticida Cartap BR 500 foi aplicado apenas uma vez para o controle de mosca-branca. Considerando isso, essas plantas não foram utilizadas para experimentação durante os 20 dias subsequentes a essa operação, respeitando o período residual destes dois produtos, seguindo as recomendações do Ministério da Agricultura (2009).

### **3.2.2 Criação de *Tuta absoluta***

Os ovos para o início da criação foram transferidos juntamente com as folhas de tomate da variedade Santa Clara para gaiolas de madeira com armação de tela, medindo 30x20x30 e acondicionadas em um sala com temperatura de  $(25\pm 2^\circ\text{C})$ , umidade relativa de  $70\pm 10\%$  e fotofase de 12 horas. Após a eclosão, as lagartas foram alimentadas com folhas novas desta mesma variedade, substituídas periodicamente sempre que necessário. Na criação de *T. absoluta*, as lagartas foram mantidas em folhas de tomateiro com os pecíolos imersos em frascos de vidro contendo água com solução nutritiva de ouro verde (na proporção recomendada pelo fabricante - 7g/L). O objetivo foi de revigorar as folhas e mantê-las utilizáveis por tempo prolongado. Ao se tornarem inadequadas para a alimentação, as folhas foram dispostas no fundo da gaiola de madeira, permitindo a migração das lagartas para o material renovado. Cerca de 7 a 11 dias após a eclosão das lagartas, finda a fase larval e considerando que as lagartas têm o hábito de abandonar as folhas verdes e buscar as folhas secas para empupar, as folhas secas foram cuidadosamente retiradas da gaiola.

Após a triagem das folhas, as pupas foram cuidadosamente retiradas de dentro das folhas e sexadas segundo método preconizado por Coelho & França (1987). Estas foram enviadas para uma outra sala de criação, sem presença de qualquer tipo de odor proveniente de plantas. As pupas de macho e fêmea foram colocadas em gaiolas separadas. Dentro de cada gaiola foi fornecida solução açucarada (10%). Para a realização dos experimentos, foram utilizadas apenas fêmeas acasaladas e recém emergidas (Lima *et.al*, em preparação). Com o auxílio de uma lanterna com filtro vermelho, os acasalamentos foram observados entre a última hora da fase escura até as três horas seguintes da fase clara (Hickel, 1989). Em contraste com o acasalamento, fêmeas de *Tuta absoluta* foram levadas ao túnel de vento para a experimentação entre a última hora da fase clara e a primeira hora da fase escura (Lima *et.al*, em preparação). Isso impossibilitou a observação de alguns acasalamentos e as fêmeas foram dissecadas, para verificar a presença do espermatóforo, classificando-as como acasaladas e não acasaladas. Os resultados obtidos de fêmeas não acasaladas, foram descartados.

### 3.2.3 Oviposição

Para a realização dos testes de oviposição foram utilizados apenas folíolos das folhas do terço superior das plantas. No experimento sem oferecer chance de escolha, avaliando a não-preferência de *T. absoluta*, cada um dos genótipos foi testado individualmente. Nos experimentos com chance de escolha, foi avaliada a preferência das fêmeas contrastando inicialmente em um mesmo ambiente todos os cinco genótipos e, posteriormente, apenas dois genótipos (um resistente e um suscetível).

### 3.2.4 Oviposição em diferentes plantas

Foram coletados pequenos folíolos das folhas de cada genótipo do terço superior, deixando-os com os pecíolos imersos em água dentro de pequenos vidros (1 x 1 x 0.2cm). Para os experimentos, utilizou-se fêmeas com um e/ou dois dias de vida, acasaladas no dia anterior. Apenas uma fêmea e um folíolo de cada genótipo foram confinados dentro uma gaiola de 7 x 7 x 2cm, (Figura 7). Desta maneira, permaneceram, durante 24 horas em cada gaiola, um folíolo correspondente a cada um dos genótipos, uma fêmea acasalada e um algodão com solução açucarada 10%. Após esse período foi feita a contagem dos ovos, sendo realizadas 35 repetições para cada um dos cinco genótipos.

Os dados obtidos a partir desses resultados foram submetidos à uma análise de variância (ANOVA) com distribuição Poisson, corrigidos para sobredispersão quando necessário. O número de ovos de *T. absoluta* encontrados em cada um dos folíolos foi considerado como variável resposta ( $y$ ) e como variável explicativa o genótipo (sub-amostras BGH-674, BGH-1497, BGH-1708, BGH-489 e a variedade Santa Clara). Foram analisados no programa estatístico livre “R” (R Development Core Team, 2006) considerando como significativo  $p < 0,05$ .



Figura 7: Gaiola plástica utilizada nos experimentos de oviposição sem chance de escolha. Uma fêmea acasalada foi colocada na presença de cada um dos diferentes genótipos de *Solanum lycopersicon*.

### 3.2.5 Escolha por locais de oviposição

Em uma mesma gaiola a preferência de oviposição foi analisada oferecendo todos os cinco genótipos (BGH-674, BGH-1497, BGH-1708, BGH-489 e a variedade Santa Clara). Da mesma forma que no experimento anterior, apenas uma fêmea acasalada foi confinada dentro de uma gaiola (20 x 10 x 10cm) com solução açucarada 10%, durante 24 horas (Figura 8). Após esse período foi realizada a contagem dos ovos depositados pela fêmea nos respectivos genótipos.

Para análises dos resultados, foram usados modelos mistos (pacote lem4) para evitar a pseudorepetição presente em experimentos de escolha. Foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA), com modelagem binomial e corrigidos para sobredispersão no programa estatístico livre “R”.

Devido a inconclusividade dos resultados do teste de escolha anterior, posteriormente, foram realizados experimentos oferecendo apenas dois acessos em mesmo ambiente. Para tanto, uma fêmea acasalada foi colocada no interior de potes de plástico de 10 x 7 x 7cm (Figura 9) contendo dois folíolos correspondentes a dois tipos diferentes de plantas. Foram realizados dois tipos de experimentos, no primeiro contrastou-se a variedade suscetível padrão Santa Clara com cada um das três subamostras resistentes (BGH-674, BGH-1497, BGH-1708). Portanto, foram testados três tipos de contrastes: 674/Santa Clara, 1497/Santa Clara e 1708/Santa Clara, com 47 repetições para cada contraste. No segundo experimento, o mesmo procedimento anterior foi adotado, porém contrastando o acesso BHG-489 com cada um dos três resistentes com 37 repetições para cada contraste. Neste caso, os contraste foram: 674/489, 1497/489 e 1708/489. Esses resultados foram igualmente analisados no programa estatístico livre “R”, submetidos a uma análise de variância (ANOVA), com modelagem binomial, corrigidos para sobredispersão e utilizando modelos mistos.



Figura 8: Gaiola telada utilizada nos experimentos de oviposição com chance de escolha. Uma fêmea acasalada foi colocada na presença simultânea de cinco diferentes genótipos de *Solanum lycopersicon*.



Figura 9: Gaiola plástica utilizada nos experimentos de oviposição com chance de escolha. Uma fêmea acasalada foi colocada na presença simultânea de dois diferentes genótipos (um suscetível e um resistente) de *Solanum lycopersicon*.

### 3.3 Resultados

#### 3.3.1 Oviposição em diferentes plantas

Observou-se nos testes sem oferecer chance de escolha, que as fêmeas de *T. absoluta* ovipositaram mais ovos na variedade Santa Clara, sugerindo uma preferência marginalmente significativa entre os genótipos ( $p=0,06$ ,  $gl=[4,171]$ ), (Figura 10).

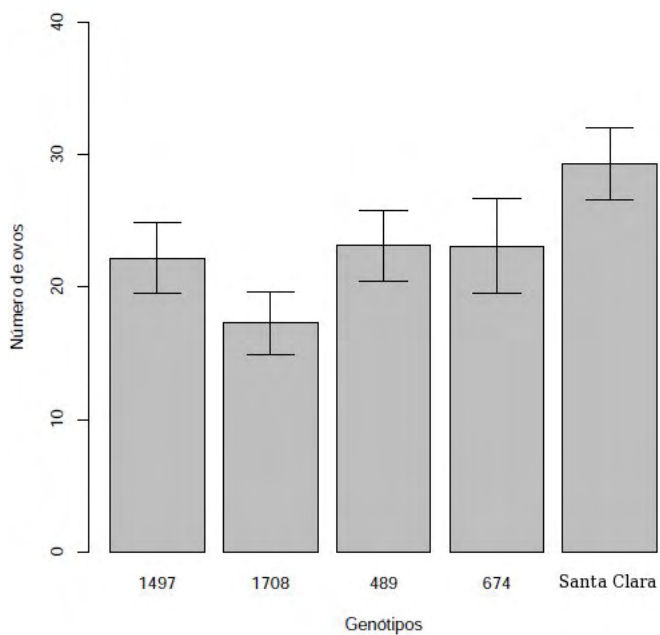


Figura 10: Média de ovos colocados por fêmeas acasaladas de *T. absoluta* em cinco genótipos de *Solanum lycopersicon* oferecidos separadamente. O experimento foi conduzido a  $25^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$  e fotofase 12:12 hs. Os genótipos afetaram o número de ovos ( $p=0,06$ ),  $gl=[4,171]$ .

### 3.3.2 Escolha por locais de oviposição

Com relação ao teste de preferência de fêmeas, oferecendo chance de escolha e oviposição nos cinco genótipos, observa-se que o número de ovos ovipositados pelas fêmeas também não foi influenciado pelos genótipos ( $p=0,9240$ ,  $\chi^2_{[1,6]}=1,4028$ ). Portanto, não foi possível estabelecer qualquer relação de preferência de oviposição entre os genótipos suscetíveis e resistentes.

O primeiro experimento contrastando a variedade Santa Clara com as subamostras resistentes (BGH-674, BGH-1497, BGH-1708), demonstrou diferenças na postura de ovos, sendo que no contraste 674/Santa Clara, a preferência por oviposição foi significativamente maior em Santa Clara (Figura 11), com  $p=0,0252$ ,  $\chi^2_{[1,6]}=5,0059$ .

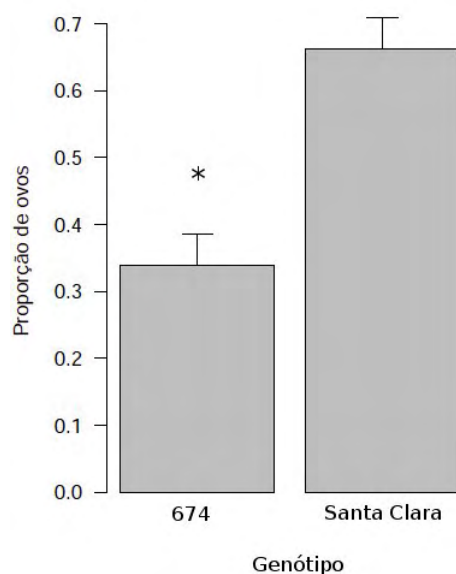


Figura 11: Proporção de ovos colocados por fêmeas acasaladas de *T. absoluta* ao oferecer simultaneamente os genótipos Santa Clara e BGH-674 de *Solanum lycopersicon*. O experimento foi conduzido a  $25^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$  e fotofase 12:12 hs. O número de ovos foi influenciado pelos genótipos ( $p=0,0252$ ,  $\chi^2_{[1,6]}=5,0059$ ).

Nos demais contrastes, 1497/Santa Clara,  $p=0,4615$ ,  $\chi^2_{[1,6]}=0,5423$  e 1708/Santa Clara,  $p=0,3731$ ,  $\chi^2_{[1,6]}=0,7933$  não foram observadas diferenças na postura de ovos, sugerindo não haver preferência de oviposição por nenhum desses dois genótipos.

No segundo experimento foi contrastado a subamostra BGH-489 com as resistentes (BGH-674, BGH-1497, BGH-1708). Observa-se, que o contraste 674/489,  $p=0,9669$ ,  $\chi^2_{[1,6]}=0,0017$ , o contraste 1497/489,  $p=0,5799$ ,  $\chi^2_{[1,6]}=0,3064$  e o contraste 1708/489,  $p=0,1026$ ,  $\chi^2_{[1,6]}=2,6644$  não se diferenciaram quanto a postura de ovos por fêmeas de *T. absoluta*, sugerindo não haver preferência de oviposição por nenhuma dessas subamostras.

### 3.4 Discussão

Os resultados dos experimentos de oviposição demonstraram que fêmeas de *T. absoluta*, quando confinadas em gaiolas, ovipositam indiscriminadamente em todos os genótipos. Sabe-se que fêmeas buscam locais de oviposição levando em consideração o risco de predação e a qualidade do hospedeiro para o maximizar o desenvolvimento de sua prole (Thompson & Pellmyr, 1991; Schoonhoven *et al.*, 1998; Awmack & Leather, 2002). Diversos estudos têm enfatizado a importância adaptativa do comportamento de fêmeas de ovipositar em diferentes genótipos. Randlkofer *et al.* (2007) em experimentos de campo e laboratório, levantaram a hipótese de que um fitófago (no caso um besouro desfoliador) pode aumentar as chances de sobrevivência de sua prole, ovipositando em plantas de diferentes espécies. Concluíram que a mistura de odores pode afetar negativamente a localização dos ovos pelo predador e pode representar uma vantagem seletiva para esse besouro.

Testando a hipótese de “processamento da informação”, Janz & Nylin (1997) demonstraram que existe um custo elevado para uma fêmea especialista discriminar entre genótipos de baixa e alta qualidade nutricional. Neste contexto, pode-se supor que o mais importante é a fêmea se guiar pela abundância de plantas e o tempo disponível para oviposição do que pela qualidade da planta para maximizar o desempenho de sua prole. Por esse motivo, embora generalistas ovipositarem indiscriminadamente em diversas plantas, suas larvas podem migrar para um outro local de alimentação em busca de um hospedeiro de qualidade. A mobilidade da larva e a eficiência da alimentação também podem ser visto como uma adaptação aos padrões de oviposição das fêmeas. Desta forma, esta “coevolução” entre a diminuição do custo de procura pelas fêmeas e essa estratégia das lagartas, pode resultar em fêmeas que ovipositarem em vários hospedeiros e lagartas adaptadas a localizar um hospedeiro de

melhor qualidade. Considerando isso, essa hipótese também poderia explicar o fato das fêmeas de *Tuta absoluta* terem ovipositado em todos os genótipos.

Acredita-se que as fêmeas de *T. absoluta* tenham ovipositado a maioria de seus ovos dentro do período adotado. Resultados de estudos de padrão de oviposição indicam que fêmeas depositam seus ovos dentro de 24 horas após o acasalamento. Andrews *et al.* (1980) observou que fêmeas de *Amyelois transitella* (Lepidoptera: Pyralidae) acasalam na primeira noite após sua eclosão e ovipositam quase todos seus ovos na segunda noite. Em laboratório, fêmeas de um e dois dias tem seu pico de acasalamento e até 24 horas após, ovipositam a maioria dos ovos, declinando esse número rapidamente após esse período (Landolt & Curtis, 1992).

Para todos os experimentos de oviposição, sempre foi colocada apenas uma fêmea por repetição, para evitar mascarar alguma variação na preferência de oviposição que podem ocorrer entre fêmeas. Um erro comum observado em estudos de preferência, que não permite uma interpretação clara dos padrões de preferência de oviposição entre indivíduos de uma população é colocar um grupo de fêmeas e a planta a ser testada em um único pote e contar o número total de ovos. A competição entre as fêmeas por locais de oviposição pode levar a uma distribuição mais uniforme dos ovos o que não ocorre quando as fêmeas são testadas individualmente (Thompson & Pellmyr, 1991).

Apesar deste trabalho não ter avaliado as características morfológicas dos genótipos estudados, sabe-se que a oviposição de fêmeas também pode ser afetada pela aparência, pela cor, forma, posição (Renwick & Chew, 1994; Rojas & Wyatt, 1999) e textura da folha (Honda, 1995). Além disso, sabe-se também que alguns fatores mais específicos podem ocasionar uma mudança no perfil de voláteis da planta e afetar a escolha da fêmea por sítios de oviposição. Por exemplo, a idade da planta, seu estado fisiológico, a densidade entre elas (Finch & Collier, 2000; Bruce *et al.*, 2005),

além de fatores abióticos como a estação do ano (Bengtsson *et al.*, 2001), intensidade luminosa, fotoperíodo, ou temperatura (Casado *et al.*, 2008) e a ocorrência de ataque prévio (Thompson & Pellmyr, 1991).

Existe uma preferência de oviposição por fêmeas de *T. absoluta* por folhas da porção superior de plantas de tomate. Inicialmente observado por Haji *et al.* (1988) e confirmado, posteriormente por Labory *et al.* (1999); Gomide *et al.* (2001), o terço superior, onde existem folhas mais jovens é considerado o melhor para oviposição, por terem maior quantidade de nitrogênio (Labory *et al.*, 1999). Isso porque a qualidade nutricional de plantas hospedeiras é importante para fêmeas na escolha de indivíduos específicos dentro de uma população de hospedeiros (Thompson & Pellmyr, 1991; Honda, 1995). Por exemplo, alta quantidade de nitrogênio foliar parece favorecer a oviposição de *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae) e por *Mycalesis perseus* (Lepidoptera: Nymphalidae).

Interessantemente, observou-se que antes de ovipositar, fêmeas de *T. absoluta* utilizam seu ovipositor para escanear a superfície da folha, provavelmente para obter informações sensoriais por mecanorrecepção sobre a adequabilidade de um substrato (Ramaswamy, 1988). Borboletas fêmeas de *P. polyxenes*, por exemplo, fazem essa avaliação através do “escaneamento” da superfície da folha utilizando seus tarsos dotados de receptores sensoriais quimiotácteis (Honda, 1995). Acredita-se que esse comportamento seja realizado para liberar os compostos químicos presentes na superfície da folha, que são detectados pelos quimiorreceptores. Esse comportamento de escaneamento da superfície também já foi observado em algumas mariposas, como por exemplo, em *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) e *Busseola fusca* (Lepidoptera: Noctuidae) que utilizam seu ovipositor e analisam as características da folha antes da oviposição (Ramaswamy, 1988).

A textura da superfície da planta parece ser importante na escolha por locais de oviposição (Renwick & Chew, 1994; Calatayud *et al.*, 2008). Embora espécies de mariposas prefiram ovipositar em superfícies lisas, a maioria delas, incluindo dois membros da família Gelechiidae: *Phthorimaea operculella* e *Anarsia lineatella* (Sidney *et al.*, 2008), preferem superfícies rugosas ou pubescentes (Ramaswamy, 1988). Pode-se sugerir que isso seja devido ao aumento da probabilidade de retenção de seus ovos na folha (Bernays & Chapman, 1994; Renwick & Chew, 1994; Sidney *et al.*, 2008), principalmente durante períodos de chuva (Ramaswamy, 1988). Outra explicação seria a facilidade de escanear a folha após prender melhor seu tarso antes de ovipositar (Ramaswamy, 1988). Como o contrário também pode ocorrer, Calatayud *et al.* (2008) observaram que no caso de *Busseola fusca*, as fêmeas ovipositam mais em variedades não pubescentes e menos rígidas e gastam mais tempo no desempenho de alguns comportamentos, como: caminhar, antenação e varredura. Outro comportamento desempenhado por mariposas é tocar a superfície da folha com sua antena, que pode ser a primeira forma de sentir “gosto” pelo possível substrato de oviposição Rojas *et al.* (2000).

A seleção de locais de oviposição também pode ser afetada por injúrias no hospedeiro. Por isso, não se descarta a possibilidade de infestação prévia ocasionada por mosca-branca e oídios ter afetado o perfil de voláteis liberados pelas plantas na arena experimental. Alguns exemplos da interação adulto-imaturo no comportamento de oviposição de mariposas sugerem que os voláteis de plantas associados a infestação larval ou substâncias geradas pela sua contaminação podem atuar como repelentes e inibir a oviposição (Honda, 1995). O contrário também pode ocorrer, como por exemplo, o gelechídeo *Anarsia lineatella*, que prefere ovipositar em frutos de pêssigo injuriados, devido as mudanças qualitativas e quantitativas ocasionadas no “blend” de voláteis. Labory *et al.* (1999) verificou que um híbrido de tomate suscetível com

baixo teor de 2-TD foi pouco atacado provavelmente por ter sofrido infestação prévia por um ácaro.

Os resultados obtidos demonstraram uma fraca relação de preferência entre os genótipos. Sendo assim, sugere-se que características morfológicas como a presença de tricomas, a espessura da folha e compostos químicos presentes na cera da folha teriam pouca influencia na oviposição destas fêmeas. Entretanto, como este trabalho não avaliou tais características, sugere-se a realização de estudos futuros avaliando essas diferenças entre os genótipos a fim de se estabelecer uma relação entre características da folha e o número de ovos colocados por fêmeas de *T. absoluta*.

## 4 Discussão Geral

Relacionando os resultados dos dois capítulos desta dissertação, percebe-se que existe uma forte indicação de que a pequena variação obtida nos experimentos de oviposição de *T. absoluta* entre os genótipos não é devida as características da planta que fêmeas reconhecem após o contato e sim aos voláteis que são reconhecidos antes e durante a localização das plantas. Isso sugere que traços que determinam a eficiência da fêmea em localizar um hospedeiro através dos voláteis liberados pelas folhas foram selecionados ao longo do tempo evolutivo para conferir inicialmente uma vantagem adaptativa para a fêmea e não somente aos seus descendentes. Apesar disso, não se descarta a possibilidade dessas diferenças terem ocorrido, devido a procedimentos laboratoriais, tipo e quantidade de dano por herbivoria, condições climáticas e o tipo de substrato utilizado (Casado *et al.*, 2008). Um outro problema comum nos testes de oviposição, pode ser devido à saturação dos voláteis liberados na arena experimental dentro das 24 horas (Mahroof & Phillips, 2007).

O estudo comportamental desses insetos pode contribuir inicialmente para selecionar genótipos resistentes e suscetíveis a este inseto praga e, posteriormente, permitir que os compostos voláteis envolvidos em sua atração e/ou repelência sejam identificados e isolados, possibilitando sua utilização na agricultura. Neste contexto, torna-se possível que um inseto seja direcionado a uma outra planta que não seja um cultivo ou ainda, usar voláteis de plantas não hospedeiras para mascarar odores de plantas hospedeiras (Schoonhoven *et al.*, 1998; Khan *et al.*, 2000; James, 2003; Ansebo, 2004). Esses compostos podem então ser empregados como semioquímicos atuando na dispersão de fêmeas, tornando plantas hospedeiras menos atrativas,

e no melhoramento genético de plantas, através da introdução de genes em cultivares, visando à resistência. Além disso, podem também ser usados em sinergismo com feromônios sexuais e em sistemas de “push-pull”. Neste sistema, as pragas são atraídas e retidas em plantas armadilhas (“pull”) plantadas em fileiras na borda do cultivo, enquanto plantas repelentes (“push”) previnem que ocorra uma infestação. Essa técnica está sendo empregada com sucesso em países da África como o Kenya, Tanzânia e Uganda e o lucro de um produtor pode ser aumentado em três a quatro vezes. Entretanto, o uso efetivo de tais estratégias requer um apurado entendimento do processo de seleção e aceitação da planta hospedeira pelo inseto (Calatayud *et al.*, 2008).

A utilização de compostos voláteis no controle de pragas ainda é uma técnica recente e um emprego para esses compostos seria atrair predadores e parasitóides e elaborar técnicas para retirar um inseto de uma cultura. Além disso, o emprego de voláteis pode tornar o controle de pragas mais barato (entre 0,1 e 5% do custo de um feromônio comum), pode aumentar a eficácia do feromônio e diminuir a quantidade necessária (Reddy & Guerrero, 2000). Assim, voláteis de plantas, incluindo terpenos, podem desenvolver um papel principal, afetando o comportamento de machos e fêmeas, atuando como atraentes e estimulantes diretos e como potenciais sinergistas de feromônios sexuais para machos (Mahroof & Phillips, 2007).

Esse trabalho forneceu a primeira evidência de que fêmeas de *T. absoluta* guiadas por compostos voláteis, liberados por plantas de tomate, são capazes de localizar sua planta hospedeira. Sugere-se que após a localização da planta hospedeira, a aceitação ou não da mesma é pouco influenciada pelas características da planta que atuam após o contato. Entretanto, como este trabalho não avaliou tais características, estudos futuros avaliando essas diferenças entre os genótipos devem ser realizados a fim de se estabelecer uma relação entre as características da folha e o número

de ovos colocados pelas fêmeas. Nesse contexto, as subamostras BGH-1497, BGH-1708 e BGH-674 de *S. lycopersicon* foram considerados resistentes por antixenose. A utilização dessas subamostras como ferramenta na seleção de plantas hospedeiras e no monitoramento de pragas demonstra-se promissora. No entanto, os motivos pelas quais essas mudanças comportamentais são ocasionadas, precisam ser investigados antes de sua implementação em programas de controle de pragas.

## 5 Referências

- Agelopoulos, N. G. & Pickett, J. A. (1998). Headspace analysis in chemical ecology: effects of different sampling methods on ratios of volatile compounds present in headspace samples. *Journal of Chemical Ecology*, 24, 1161–1172.
- Andersson, B. A.; Holman, R. T.; Lundgren, L. & Stenhagen, G. (1980). Capillary gas chromatograms of leaf volatiles. a possible aid to breeders for pest and disease resistance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28, 985–989.
- Andrews, K. L.; Barnes, M. M. & Josserand, S. A. (1980). Dispersal and oviposition by navel orangeworm moth. *Environ. Entomol.*, 9, 525–529.
- Ansebo, L. (2004). *Odor perception in the codling moth Cydia pomonella L.* Ph.D. thesis, Swedish University of Agricultural Sciences.
- Awmack, C. S. & Leather, S. R. (2002). Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annual Review of Entomology*, 47, 817–844.
- Bengtsson, M.; Backman, A. C.; Liblikas, I.; Ramirez, M. I.; Borg-Karlson, A. K.; Ansebo, L.; Anderson, P.; Lofqvist, J. & Witzgall, P. (2001). Plant odor analysis of apple: Antennal response of codling moth females to apple volatiles during phenological development. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 49, 3736–3741.
- Bernays, E. A. & Chapman, R. F. (1994). *Host-plant selection by phytophagous insects*. Chapman & Hall.

- Bruce, T. J. A.; Wadhams, L. J. & Woodcock, C. M. (2005). Insect host location: a volatile situation. *Trends in Plant Science*, 10, 269–274.
- Buttery, R. G.; Ling, L. C. & Light, D. M. (1987). Tomato leaf volatile aroma components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 35, 1039–1042.
- Bäckman, A. C.; Bengtsson, M.; Borg-Karlson, A. K.; Liblikas, I. & Witzgall, P. (2001). Volatiles from apple (*Malus domestica*) eliciting antennal responses in female codling moth *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae): effect of plant injury and sampling technique. *Zeitschrift für Naturforsch.*, 56, 262–268.
- Calatayud, P. A.; Ahuya, P. O.; Wanjoya, A.; Le Rue, B.; Silvain, J. F. & Frerot, B. (2008). Importance of plant physical cues in host acceptance for oviposition by *Busseola fusca*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 126, 233–243.
- Cardé, R. T. & Willis, M. A. (2008). Navigational strategies used by insects to find distant, wind-borne sources of odor. *Journal of Chemical Ecology*, 34, 854–866.
- Casado, D.; Gemenó, C.; Avilla, J. & Riba, M. (2008). Diurnal variation of walnut tree volatiles and electrophysiological responses in *Cydia pomonella* (Lepidoptera : Tortricidae). *Pest Management Science*, 64, 736–747.
- Castro Antônio, A. (2006). *Herança Genética da resistência a Tuta absoluta em acessos de tomateiro do Banco de Germoplasma de Hortaliças da UFV*. Master's thesis, Universidade Federal de Viçosa.
- Chapman, R. F. (1999). It's all in the neurones. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 91, 259–265.
- Chapman, R. F. (2003). Contact chemoreception in feeding by phytophagous insects. *Annual Review of Entomology*, 48, 455–484.

- Coelho, M. C. F. & França, F. H. (1987). Biologia, quetotaxia e descrição da pupa e adulto da traça do tomateiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 22, 129–135.
- Cysne, J. B.; Canuto, K. M.; Pessoa, O. D. L.; Nunes, E. & Silveira, E. (2005). Leaf essential oils of four piper species from the state of ceará - northeast of brazil. *Journal of Brazilian Chemical Society*, 16, 1378–1381.
- de Souza, J. C. & Reis, P. R. (1992). Traça-do-tomateiro: histórico, reconhecimento, biologia, prejuízos e controle. *Belo Horizonte: Epamig*, 38, 19.
- Dethier, V. (1982). Mechanism of Host-Plant Recognition. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 31, 49–56.
- Dicke, M. & Sabelis, M. W. (1992). Costs and benefits of chemical information conveyance: proximate and ultimate factors. *Insect Chemical Ecology: an Evolutionary Approach (B.D. Roitberg and M.B. Isman)*. Chapman & Hall, New York, USA, 1, 122–155.
- Ecole, C. C.; Picanço, M. C.; Jham, G. N. & Guedes, R. N. C. (1999). Variability of *Lycopersicon hirsutum* f. *typicum* and possible compounds involved in its resistance to *Tuta absoluta*. *Agricultural and Forest Entomology*, 1, 249–254.
- Ecole, C. C.; Picanço, M. C.; Moreira, M. D. & Magalhães, S. T. (2000). Componentes químicos associados à resistência de *Lycopersicon hirsutum* f. *typicum* a *Tuta absoluta* meyrick (lepidoptera: Gelechiidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 29, 327–337.
- FAO (1994). Diretrizes de política agrária e desenvolvimento sustentável para a pequena produção familiar: versão preliminar. *Brasília: FAO/INCRA*, 1, 98.
- Farag, M. A. & Pare, P. W. (2002). C6-green leaf volatiles trigger local and systemic voc emissions in tomato. *Phytochemistry*, 61, 545–554.

- Fenemore, P. G. (1988). Host-plant location and selection by adult potato moth, *Phthorimaea-Operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae) - A Review. *Journal of Insect Physiology*, 34, 175–177.
- Finch, S. & Collier, R. H. (2000). Host-plant selection by insects - a theory based on "appropriate/inappropriate landings" by pest insects of cruciferous plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 96, 91–102.
- Fraenkel, G. S. (1959). The raison d'Être of secondary plant substances. *Science, New Series*, 129, 1466–1470.
- França, F. H. & Castelo Branco, M. (1992). Ocorrência da traça-do-tomateiro (*Scrobipalpuloidea absoluta*) em solanáceas silvestres no Brasil central. *Horticultura Brasileira*, 10, 6–10.
- Giustolin, T. A.; Vendramim, J. D. & Parra, J. R. P. (2002). Número de instares larvais de *Tuta Absoluta* (meyrick) em genótipos de tomateiro. *Scientia Agricola*, 59, 393–396.
- Gomide, E. V. A.; Vilela, E. F. & Picanço, M. C. (2001). Comparação de procedimentos de amostragem de *Tuta absoluta* (meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) em tomateiro estaqueado. *Neotropical Entomology*, 30, 697–705.
- Guedes, R. N. C.; Picanço, M. C.; Matioli, A. L. & Rocha, R. M. (1994). Efeito de inseticidas e sistemas de condução do tomateiro no controle de *Tuta absoluta* (meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 23, 321–325.
- Haji, F. N. P.; Parra, J. R. P.; Silva, J. P. & Batista, J. G. S. (1988). Biologia da traça-do-tomateiro sob condições de laboratório. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 23, 107–110.

- Hamilton, J.; A., Z.; E, D. & Berenbaum, M. (2001). Carbon nutrient balance hypothesis (cnb): Its rise and fall. *Ecology Letters*, 4, 86–95.
- Hansson, B. S.; Larsson, M. C. & Leal, W. S. (1999). Green leaf volatile-detecting olfactory receptor neurones display very high sensitivity and specificity in a scarab beetle. *Physiological Entomology*, 24, 121–126.
- Hickel, E. R. (1989). *Comportamento de atração sexual e acasalamento da traça-do-tomateiro, Scrobipalpula absoluta*. Master's thesis, Universidade Federal de Viçosa.
- Hilker, M. & Meiners, T. (2002). *Chemoecology of insect eggs and egg deposition*. Oxford, UK, Blackwell Publishing.
- Honda, K. (1995). Chemical basis of differential oviposition by lepidopterous insects. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 30, 1–23.
- James, D. G. (2003). Synthetic herbivore-induced plant volatiles as field attractants for beneficial insects. *Environmental Entomology*, 32(5), 977–982.
- Janz, N. & Nylin, S. (1997). The role of female search behaviour in determining host plant range in plant feeding insects : a test of the information processing hypothesis. *Proceedings of the Royal Society of London*, 264, 701–707.
- Karban, R. & Baldwin, I. T. (1997). *Induced Responses to Herbivory*. University of Chicago Press.
- Kennedy, J. & Marsh, D. (1974). Pheromone-regulated anemotaxis in flying moths. *Science*, 184, 999–1001.
- Khan, Z. R.; Pickett, J. A.; van den Berg, J.; Wadhams, L. J. & Woodcock, C. M. (2000). Exploiting chemical ecology and species diversity: Stem borer and striga control for maize and sorghum in africa. *Pest Management Science*, 56, 957–962.

- Labory, C. R. G.; Santa-Cecília, L. V. C.; Maluf, W. R.; Cardoso, M. G.; Bearzotti, E. & Souza, J. C. (1999). Seleção indireta para teor de 2-tridecanona em tomateiros segregantes e sua relação com a resistência à traça-do-tomateiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 34, 733–740.
- Landolt, P. J. & Curtis, C. E. (1992). Mating frequency of female navel *Orange-worm moths* (Lepidoptera: Pyralidae) and patterns of oviposition with and without mating. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 64, 414–420.
- Leite, G. L. D.; Picanco, M. C.; Guedes, R. N. C. & Zanuncio, J. C. (2001). Role of plant age in the resistance of *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum* to the tomato leafminer *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Scientia Horticulturae*, 89, 103–113.
- Maes, K. & Debergh, P. C. (2003). Volatiles emitted from in vitro grown tomato shoots during abiotic and biotic stress. *Plant Cell*, 75, 73–78.
- Mahroof, R. M. & Phillips, T. W. (2007). Orientation of the cigarette beetle, *Lasioderma serricornis* f. (Coleoptera: Anobiidae) to plant-derived volatiles. *Journal of Insect Behavior*, 20, 99–115.
- Masante-Roca, I.; Anton, S.; Delbac, L.; Dufour, M.-C. & Gadenne, C. (2007). Attraction of the grapevine moth to host and non-host plant parts in the wind tunnel: effects of plant phenology, sex, and mating status. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 122, 239–245.
- Maxwell, F. G. & Jennings, P. R. (1980). *Breeding plants resistant to insects*. Wiley & Sons.

Ministério da Agricultura, P. e. A. (2009). *Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA. Coordenação-Geral de Agrotóxicos e Afins/DFIA/SDA. Coordenação-Geral de Agrotóxicos e Afins/DFIA/SDA.*

Nonomura, T.; Xu, L.; Wada, M.; Kawamura, S.; Miyajima, T.; Nishitomi, A.; Kakutani, K.; Takikawa, Y.; Matsuda, Y. & Toyoda, H. (2009). Trichome exudates of *Lycopersicon pennellii* form a chemical barrier to suppress leaf-surface germination of *Oidium neolycopersi conidia*. *Plant Science*, 176, 31–37.

Nottingham, S. F. (1988). Host-plant finding for oviposition by adult cabbage root fly, *Delia radicum*. *Journal of Insect Physiology*, 34, 227–234.

Oliveira, F. A. (2004). *Antixenose em acessos de tomateiro do Banco de Germoplasma de Hortaliças da UFV a Tuta absoluta e suas possíveis causas químicas*. Master's thesis, Universidade Federal de Viçosa.

Panda, N. & Kush, G. S. (1995). *Host plant resistance to insects*. CAB International.

Prokopy, R. J. & Owens, E. D. (1983). Visual detection of plants by herbivorous insects. *Annual Review of Entomology*, 28, 337–364.

R Development Core Team (2006). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0.

URL <http://www.R-project.org>

Ramaswamy, S. B. (1988). Host finding by moths: Sensory modalities and behaviours. *Journal of Insect Physiology*, 34, 235–249.

Randlkofer, B.; Obermaier, E. & Meiners, T. (2007). Mothers choice of the oviposition site: balancing risk of egg parasitism and need of food supply for the progeny with an infochemical shelter? *Chemoecology*, 17, 177–186.

- Reddy, G. V. P. & Guerrero, A. (2000). Behavioral responses of the diamond-back moth, *Plutella xylostella*, to green leaf volatiles of *Brassica oleracea capitata*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 6025–6029.
- Renwick, J. A. A. & Chew, F. S. (1994). Oviposition Behavior in Lepidoptera. *Annual Review of Entomology*, 39, 377–400.
- Renwick, J. A. A. & Radke, C. D. (1988). Sensory cues in host selection for oviposition by the cabbage butterfly, *Pieris rapae*. *Journal of Insect Physiology*, 34, 251–257.
- Roitberg, B. D.; Robertson, I. C. & Tyerman, J. G. A. (1999). Vive la variance: a functional oviposition theory for insect herbivores. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 91, 187–194.
- Rojas, J. C. & Wyatt, T. D. (1999). Role of visual cues and interaction with host odour during the host-finding behaviour of the cabbage moth. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 91, 59–65.
- Rojas, J. C.; Wyatt, T. D. & Birch, M. C. (2000). Flight and oviposition behavior toward different host plant species by the cabbage moth, *Mamestra brassicae* (L.) (Lepidoptera : Noctuidae). *Journal of Insect Behavior*, 13, 247–254.
- Rucker, C. N. & Haynes, K. F. (2004). Impairment of optomotor anemotaxis in yellow-eyed mutant cabbage looper moths, *Trichoplusia ni*. *Journal of Insect Behavior*, 17, 437–442.
- Schoonhoven, L. M.; Jermy, T. & Loon, J. J. A. V. (1998). *Insect-plant biology: from physiology to evolution*. Chapman & Hall.
- Schoonhoven, L. M.; van Loon, J. J. A. & Dicke, M. (2005). *Insect-Plant Biology*. Oxford University Press.

Sidney, M.; Brown, K.; Judd, G. J. R. & Gries, G. (2008). Stimuli affecting selection of oviposition sites by female peach twig borer, *Anarsia lineatella* Zeller (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of Applied Entomology*, 132, 538–544.

Smith, R. M.; Marshall, J. A.; Davey, M. R.; Lowe, K. C. & Power, J. B. (1996). Comparison of volatiles and waxes in leaves of genetically engineered tomatoes. *Phytochemistry*, 43, 753–758.

Suinaga, F. A.; Picanço, M.; Jham, G. N. & Brommonschenkel, S. H. (1999). Causas químicas de resistência de *Lycopersicon peruvianum* (L.) a *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 28, 313–321.

Suinaga, F. A.; Picanço, M. C.; Moreira, M. D.; Semeão, A. A. & de Magalhães, S. T. V. (2004). Resistência por antibiose de *Lycopersicon peruvianum* à traça do tomateiro. *Horticultura Brasileira*, 22, 281–285.

Sánchez-Hernández, C.; López, M. G. & Délano-Frier, J. P. (2006). Reduced levels of volatile emissions in jasmonate-deficient spr2 tomato mutants favour oviposition by insect herbivores. *Plant, Cell and Environment*, 29, 546–557.

Tasin, M. (2005). *Sex, wine and chemical communication in Grapevine moth Lobesia botrana*. Ph.D. thesis, Swedish University of Agricultural Sciences.

Thomazini, A. P. B. W.; Vendramim, J. D.; Brunherotto, R. & Lopes, M. T. R. (2001). Efeito de genótipos de tomateiro sobre a biologia e oviposição de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Neotropical Entomology*, 30, 283–288.

Thompson, J. N. & Pellmyr, O. (1991). Evolution of oviposition behavior and host preference in Lepidoptera. *Annual Review of Entomology*, 36, 65–89.

- Vickers, N. J. & Baker, T. C. (1994). Visual feedback in the control of pheromone-mediated flight of *Heliothis virescens* males (lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Insect Behavior*, 7, 605–632.
- Visser, J. H. (1986). Host Odor perception in phytophagous insects. *Annual Review of Entomology*, 31, 121–144.
- Witzgall, P. & Priesner, E. (1991). Wind-tunnel study on attraction inhibitor in male of *Coleophora laricella* (lepidoptera: Coleophoridae). *Journal of Chemical Ecology*, 37, 1355–1362.
- Zambolim, L.; Lopes, C. A.; Picanço, M. C. & Costa, H. (2007). *Manejo Integrado de Doenças e Pragas: Hortaliças*. Viçosa: UFV.