

---

# Perfil de compostos voláteis de plantas de soja infestadas por múltiplos herbívoros

| **Fabio Corrêa Bueno**

UFSJ

| **Dalila Dominique Duarte Rocha**

UFSJ

| **Marcos Antônio Matiello Fadini**

UFSJ

| **Rodinei Augusti**

UFMG

| **Júlio Onésio Ferreira Melo**

UFSJ

# RESUMO

**Objetivo:** Investigou-se o perfil dos compostos voláteis emitidos por plantas de soja transgênica (Bt) M6210IPRO infestadas com *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) e *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera, Noctuidae) utilizando uma metodologia que não implicasse na maceração das folhas. **Métodos:** Para infestação das plantas, foram utilizados 100 fêmeas adultas ácaros de *T. urticae* por planta durante um dia e, em sequência, 2 lagartas de *A. gemmatalis* durante 36 horas. Os compostos voláteis produzidos, após infestação, foram analisados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. **Resultados:** A análise de componentes principais mostrou diferenças entre os grupos de compostos e explicou 77,5% da variação dos voláteis. Observou-se que existem diferenças químicas entre a emissão de compostos segundo o tipo de herbivoria, como a presença de geranil isovalerato somente em plantas limpas e em plantas infestadas com *T. urticae*, e a presença de linalol somente em plantas com infestações de *A. gemmatalis* e em plantas com *T. urticae* e *A. gemmatalis*, simultaneamente. **Conclusão:** Plantas de soja infestadas por *T. urticae*, de maneira simples e múltipla (*T. urticae* seguido por *A. gemmatalis*), acionam a produção de compostos voláteis que podem ser utilizados como pistas químicas para direcionar o forrageamento de inimigos naturais, como ácaros predadores ou parasitoides. As possíveis funções dos voláteis produzidos após herbivoria são discutidas.

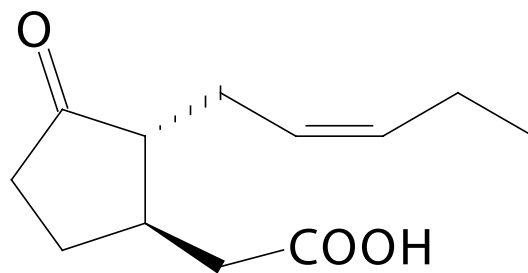
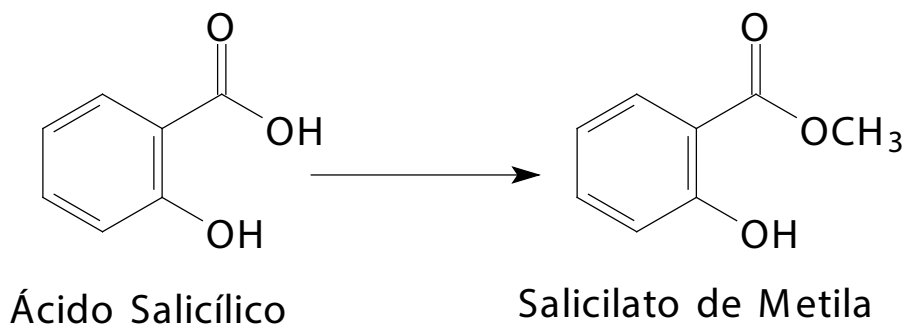
**Palavras-chave:** *Anticarsia Gemmatalis*, Micro-Extração em Fase Sólida, Múltiplos Ataque, *Tetranychus Urticae*, Química Verde.

## ■ INTRODUÇÃO

As plantas apresentam defesas constitutivas contra herbívoros, as quais são caracterizadas pela presença contínua de estruturas morfológicas ou substâncias químicas que dificultam a utilização de seus tecidos pelos artrópodes e podem, ainda, afetar negativamente parâmetros biológicos relacionados ao desenvolvimento e reprodução dos herbívoros (COLEY & BARONE, 1996). Essas estruturas podem ser encontradas em diferentes partes da planta e, normalmente, a sua distribuição variam de acordo com seu estágio fenológico (COLEY & BARONE, 1996).

As plantas também podem responder à herbivoria desencadeando vias metabólicas para indução de defesa (DICKE; VAN LOON & SOLER, 2009). A defesa induzida indireta é caracterizada pela emissão de compostos orgânicos voláteis (COVs) que atraem inimigos naturais dos artrópodes que manipulam os tecidos das plantas durante sua alimentação (POECKE & DICKE, 2004; LEITNER; BOLAND & MITHÖFER, 2005; AARTSMA *et al.*, 2017). A natureza química desses compostos difere em relação ao modo de alimentação dos herbívoros (DICKE; VAN LOON & SOLER, 2009), sendo que para os mastigadores, as plantas majoritariamente utilizam a rota do ácido jasmônico (AJ) e para os sugadores, a rota do ácido salicílico (AS) (Figura 1) (LEITNER; BOLAND & MITHÖFER, 2005; YONEYA & TAKABAYASHI, 2014; AARTSMA *et al.*, 2017). O AJ é sintetizado através da via octadecanóide após a liberação do ácido linolênico, a partir de biomembranas (HEIL, 2014), ao passo que o ácido salicílico (AS) e seu éster volátil, salicilato de metila (SAME), são produzidos a partir do ácido cinâmico por pelo menos duas rotas químicas (LEE; LEÓN & RASKIN, 1995). Uma envolve a descarboxilação da cadeia lateral do ácido cinâmico, em ácido benzóico seguido de 2 hidroxilações para AS. Alternativamente, o ácido cinâmico pode ser primeiro ácido 2-hidroxilado para o-coumarico e depois descarboxilado para AS (LEE; LEÓN & RASKIN, 1995).

**Figura 1.** Fórmula estrutural dos compostos: ácido salicílico (AS) e seu éster volátil, salicilato de metila (SAME) e; ácido jasmônico (AJ).



## (-) Ácido Jasmônico

A cultura da soja é alvo de ataques de múltiplos herbívoros, como várias espécies de lagartas e de ácaros praga (GUEDES *et al.*, 2007; ROGGIA *et al.*, 2008; MOSCARDI *et al.*, 2012; REZENDE *et al.*, 2014). A maior parte das pesquisas sobre os compostos voláteis que são acionados na emissão de defesa induzida indireta em soja, tradicionalmente, utilizam metodologias como a de SPME (sigla em inglês para microextração em fase sólida) (GOMES *et al.*, 2017). Nesse tipo de método é necessário previamente remover e macerar tecidos das plantas, e as análises discutem os efeitos das interações entre a planta e somente uma espécie de inseto (MORAES *et al.*, 2005; MICHEREFF *et al.*, 2011; CAI; KOZIEL & O'NEAL, 2015). Contudo, tais técnicas induzem uma resposta local em relação a emissão de defesas de plantas. Metodologias que avaliem a resposta sistêmica da planta, principalmente, após serem submetidas ao ataque por mais de um artrópode sem maceração de tecidos vegetais poderiam fornecer dados mais precisos (ZHANG *et al.*, 2009).

O ácaro-rajado *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) é uma espécie generalista e considerada praga primária de várias culturas (RAZMJOU; TAVAKKOLI & NEMATI, 2009). Infestações dessa espécie foram reportadas causando danos severos na cultura da soja em diversas regiões do Brasil (GUEDES *et al.*, 2007; REZENDE *et al.*, 2014). A lagarta da soja, *Anticarsia gemmatilis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) é uma praga considerada importante para essa cultura, com ocorrência em todas as regiões de seu cultivo no Brasil (MOSCARDI *et al.*, 2012). Roggia *et al.* (2008) mostrou que, além de insetos, há



diversas espécies de ácaros praga infestando plantações de soja durante sua fase vegetativa (ROGGIA, 2008).

O estudo dos voláteis sem a necessidade de causar danos físicos nas plantas (i. e. remoção de suas folhas e tecidos) após a manipulação por pelo menos dois artrópodes é fundamental para compreender as defesas das plantas, além de simular condições mais verossímeis às de campo (GIRON *et al.*, 2018) e de esclarecer o efeito das defesas induzidas nas interações tritróficas (i.e. planta, herbívoro, inimigos naturais) em paisagens nas quais os agroecossistemas estão inseridos (DICKE; VAN LOON & SOLER, 2009; PONZIO *et al.*, 2016; AARTSMA *et al.*, 2017). Nesse contexto, este trabalho investigou a emissão de compostos voláteis com utilização de uma técnica alternativa a metodologia padrão que utiliza contêiner de vidro, sob herbivoria múltipla de *T. urticae* e *A. gemmatalis* em plantas de soja.

## ■ MATERIAL E MÉTODOS

### Criações de *T. urticae* e obtenção de *A. gemmatalis*

Realizou-se a semeadura de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*) em vasos plásticos (6,3 L), contendo substrato (Terral Solo<sup>®</sup>), mantidos em gaiolas com tela anti-afídeos dentro de casa-de-vegetação da Universidade Federal de São João del-Rei, *Campus Sete Lagoas*, MG, com temperatura de 25 °C ± 5 para estabelecimento das criações de *T. urticae*.

As lagartas *A. gemmatalis* foram criadas pela equipe do Laboratório de Controle Biológico da Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas, MG. As lagartas foram alimentadas com dieta artificial (VILELA *et al.*, 2014). As mariposas foram alimentadas com solução açucarada (50%). As mariposas foram colocadas em gaiolas confeccionadas com tubos de PVC (30 cm de diâmetro e 20 cm de altura) para cópula e oviposição. Guardanapos contendo os ovos foram retirados e armazenados em sacos plásticos em temperatura controlada (25 ± 2 °C). Após eclosão, as larvas foram individualizadas em copos plásticos de 50 mL contendo dieta artificial, permanecendo ali até a fase de pupa.

### Semeadura e manutenção das plantas de soja

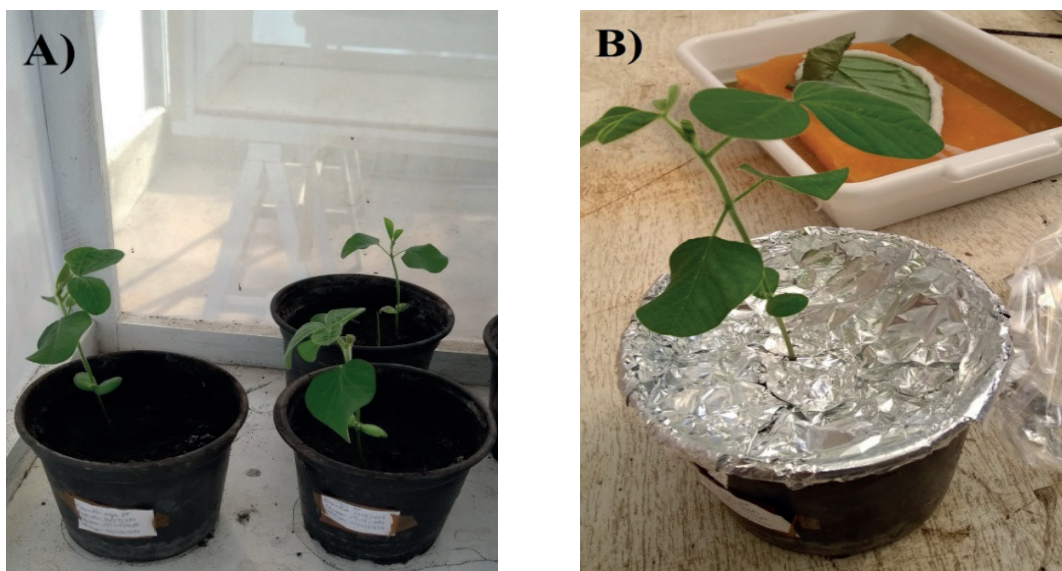
Utilizou-se vasos plásticos (1L) com 500 gramas de substrato Terral Solo<sup>®</sup> para a semeadura e manutenção de 100 plantas de soja M6210 IPRO, que expressam a proteína Cry1AC do *Bacillus thuringiensis* (Bt). Tal proteína é tóxica a lagartas quando estas se alimentam da planta. As plantas foram acondicionadas em gaiolas com tela anti-afídeos em casa-de-vegetação da Universidade Federal de São João del-Rei, *Campus Sete Lagoas*. A irrigação e demais tratos culturais foram realizados sempre que necessário. As plantas de soja foram





utilizadas para os experimentos ao atingirem o estágio de desenvolvimento V3. A terra dos vasos foi coberta com papel alumínio para suprimir a emissão de gases provenientes da interação entre planta, microbiota do solo e o solo. (Figura 2).

**Figura 2. A)** Plantas de soja em desenvolvimento em gaiolas com tela anti-afídeos. **B)** Plantas de soja, em início de fase de desenvolvimento V3, em terra coberta com papel alumínio.



### Infestação das plantas, coleta e análise química dos voláteis

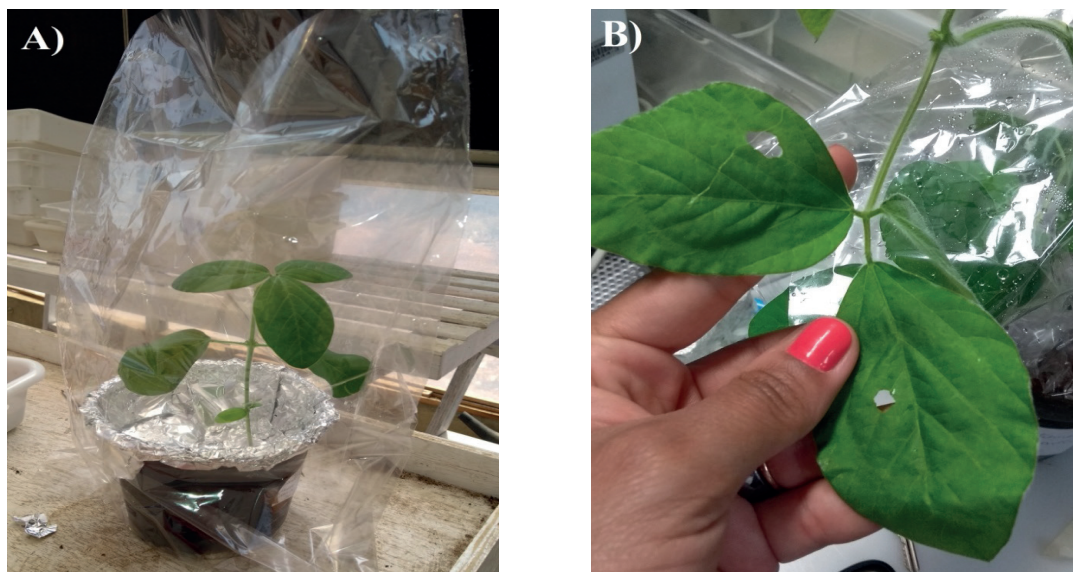
As plantas de sojas utilizadas no experimento foram divididas em grupos: plantas de soja limpas (S); plantas de sojas infestadas com ácaro-rajado, *Tetranychus urticae* (SA); plantas de sojas infestadas com 2 lagartas *Anticarsia gemmatilis* (SL); e plantas de sojas infestadas com por *T. urticae* + *A. gemmatilis* (SAL) na mesma planta. Infestações foram realizadas simultaneamente nas plantas de soja, com 100 ácaros fêmeas adultas de *T. urticae* por planta, durante 24 horas e/ou com duas lagartas de *A. gemmatilis* de quarto ínstar, durante 36 horas antes da amostragem (Figura 3).





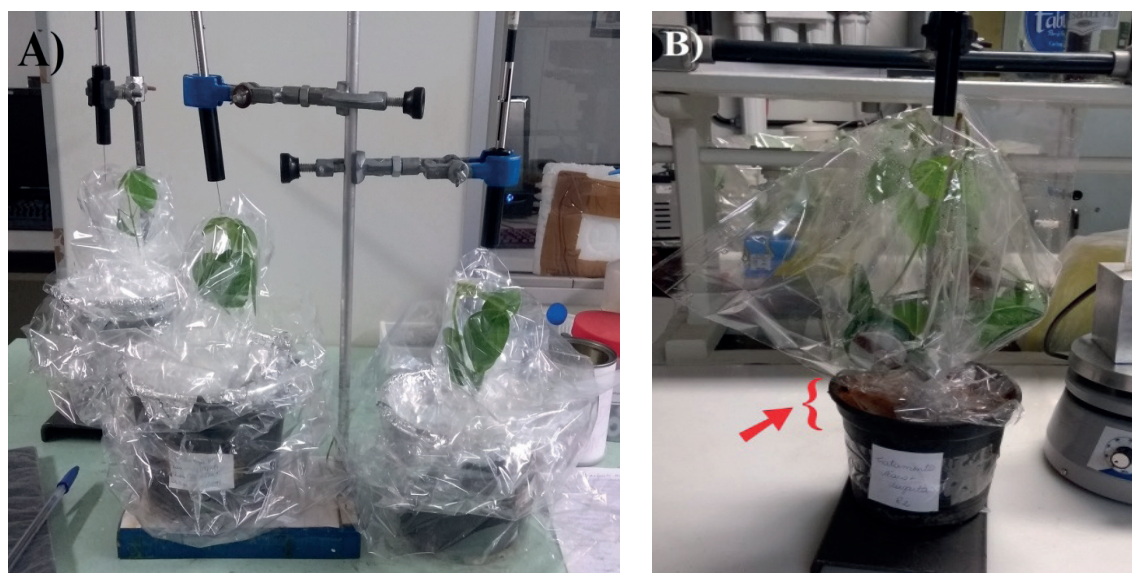


**Figura 3. A)** Planta de soja preparada para realização de infestação. **B)** Detalhe de sinais de herbivoria em folhas de planta de soja após infestação.



A coleta de *headspace* foi realizada segundo a metodologia proposta por Pereira *et al.*, (2017), com adaptações. Foi utilizado um invólucro de plástico para acondicionar as plantas e uma bomba de ar elétrica para insuflar o ar. Foi realizada a termo-selagem completa do invólucro e utilizado Teflon na base para impedir a saída do ar (Figura 4).

**Figura 4. A)** Plantas de soja acondicionadas em invólucros plásticos sendo bombeadas com ar por bomba elétrica. **B)** Detalhe da termo-selagem completa do invólucro com a utilização de Teflon na base.



Após exposição à herbivoria, foram utilizadas seringas estéreis para coletar os voláteis em cada tratamento, os quais foram transferidos para frascos de *headspace* (25 mL), identificados e lacrados (Figura 5).



**Figura 5. A)** Plantas de soja lacradas para a coleta dos voláteis. **B)** Coleta dos voláteis em planta de soja.



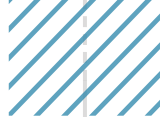
As amostras foram analisadas via sistema GC-MS no cromatógrafo a gás *Trace GC Ultra* (*Thermo Scientific, San Jose, CA*) acoplado a espectrômetro de massas *Polaris Q* (*Thermo Scientific, San Jose, CA*), com um analisador do tipo *ion-trap* em microextração em fase sólida (SPME) no modo *headspace* (MERKLE; KLEEBERG & FRITSCH, 2015,) no Laboratório de Química da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG (Figura 6). Utilizou-se a fibra semipolar polidimetilsiloxano/divinilbenzeno (PDMS/DVB) para exposição nos frascos a 60 °C por 20 minutos.

**Figura 6.** Cromatógrafo a gás *Trace GC Ultra* (*Thermo Scientific, San Jose, CA*) acoplado a espectrômetro de massas *Polaris Q* (*Thermo Scientific, San Jose, CA*).



As condições cromatográficas para coleta dos voláteis foram: temperatura do injetor = 200 °C; injeção em modo *splitless*; *splitless time* = 5 minutos; temperatura da fonte de íons = 200 °C; temperatura da interface = 275 °C. A temperatura de aquecimento do equipamento foi de 40 °C por 1 minuto, seguido de um gradiente de 5 °C min<sup>-1</sup> até 110 °C; manutenção da isoterma por 3 minutos; um novo gradiente de 7 °C min<sup>-1</sup> até 220 °C, temperatura na





qual manteve-se a isoterma por 1 minuto; e por fim, um gradiente de 12 °C min<sup>-1</sup> até 245 °C, temperatura na qual manteve-se a isoterma por 1 minuto (SILVA *et al.*, 2021, GARCIA *et al.*, 2021). O detector foi mantido no modo de varredura (*fullscan*, de 30 a 300), utilizando a técnica de ionização por impacto de elétrons (EI), com energia de 70 eV. A coluna cromatográfica utilizada foi a coluna capilar HP-5 MS (5 % fenil e 95 % metilpolisiloxano), contendo as seguintes dimensões: 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura de filme (*Agilent Techonolgies INC*, Alemanha).

Os compostos foram identificados através de comparações entre os espectros de massas presentes nas bibliotecas NIST/EPA/NIH (2005) com base nos valores de tempo de retenção obtidos do programa Xcalibur 1.4 (*Thermo Electron Corporation*).

### **Análises estatísticas**

Os resultados das porcentagens das áreas relativas de cada amostra foram submetidos à análise de componentes principais (PCA). Utilizou-se o programa R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2014) para realizar as análises de componentes principais (PCA) (CRAWLEY, 2013).

## **■ RESULTADOS**

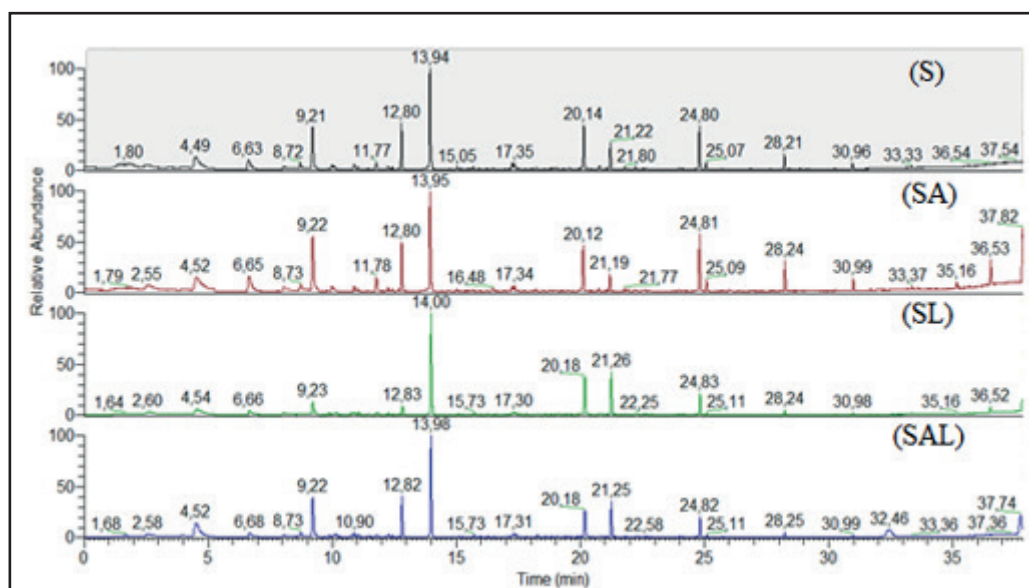
### **Parâmetros químicos**

Foram identificados oito compostos distintos, pertencentes aos derivados do ácido jasmônico e monoterpenóides, agrupados entre: a) produzidos por plantas limpas, plantas infestadas com ácaros ou ácaros e lagartas (canfeno e 2,6-Dimetil-7-octen-3-ol); b) produzido sob todas as condições (2-octenal); c) produzidos apenas em infestação de lagartas, com ou sem ácaros (lavandulol e carvomentol); d) produzido apenas por plantas limpas (dodeceno); e) produzido apenas por plantas limpas ou plantas infestadas apenas com ácaros (geranil isovalerato) e; f) produzido apenas por plantas infestadas apenas com lagartas (linalol). Os cromatogramas obtidos para cada amostra estão expostos na Figura 7. Quanto aos parâmetros químicos dos grupos funcionais, seus respectivos códigos de identificação PubChem® (CID), a presença/ausência e o tempo de retenção (TR), em minutos, dos compostos identificados, foram apresentados na Tabela 1.





**Figura 7.** Cromatogramas obtidos utilizando a fibra PDMS/DVB, dos compostos orgânicos voláteis (COVs) identificados em plantas de soja (M6210IPRO), sendo: Plantas de soja limpas (S); infestadas com ácaro-rajado, *Tetranychus urticae* (SA); infestadas com 2 lagartas *Anticarsia gemmatalis* (SL); e por *T. urticae* + *A. gemmatalis* (SAL) na mesma planta.



**Tabela 1.** Compostos orgânicos voláteis (COVs) identificados em plantas de soja (M6210IPRO), sendo: Plantas de soja limpas (S); infestadas com ácaro-rajado, *Tetranychus urticae* (SA); infestadas com 2 lagartas *Anticarsia gemmatalis* (SL); e por *T. urticae* + *A. gemmatalis* (SAL) na mesma planta.

Nº	COVs	Fórmula	CID	TR	S	SA	SL	SAL
<b>Monoterpenos</b>								
1	Canfeno*	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	6616	9,99	X	X		X
2	Lavandulol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	5464156	10,79			X	X
3	Carvomentol	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O	86850	15,07			X	X
4	2,6-Dimetil-7-octen-3-ol	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O	565253	21,20	X	X		X
5	Linalol*	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	6549	21,26			X	
6	Geraniol Isovalerato	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	5362830	18,19	X	X		
<b>Jasmonato</b>								
7	2-Octenal*	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O	5283324	10,07	X	X	X	X
8	Dodeceno*	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub>	8183	10,88(S) 11,08(SL)	X			

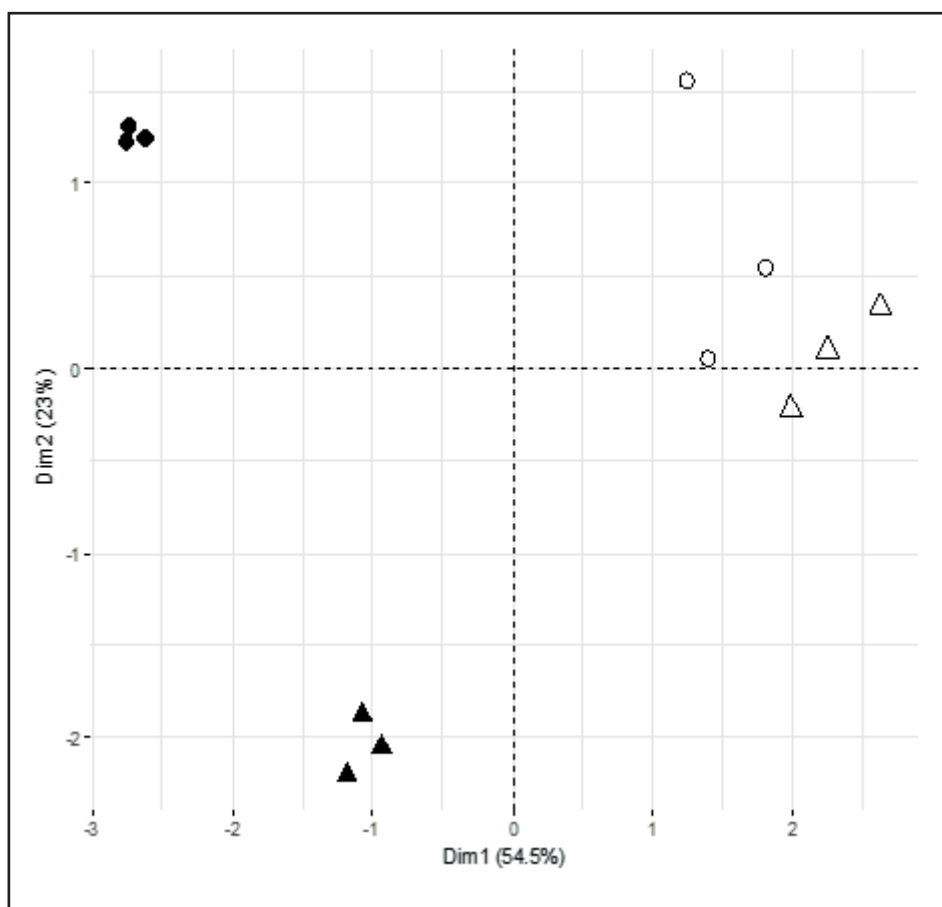
\*Compostos orgânicos voláteis citados em literatura em plantas de soja.

A PCA dos parâmetros químicos referentes à composição de voláteis em folhas de soja limpas e com as respectivas infestações explicou 77,5 % da variação dos dados. As amostras das três plantas infestadas com *A. gemmatalis* e por herbivoria múltipla de *T. urticae* e *A. gemmatalis* agruparam-se em posições distintas, indicando que houve diferença entre os compostos voláteis emitidos em ambas as situações, ao passo que as amostras das plantas limpas se aproximaram daquelas com infestação de *T. urticae* (Figura 8).





**Figura 8.** Análise de componentes principais (PCA) dos compostos voláteis presentes em plantas de soja sem infestação (○), soja infestada com *T. urticae* (Δ); soja infestada com *A. gemmatilis* (●) e soja infestada com *T. urticae* + *A. gemmatilis* (◻) detectados via CG/MS.

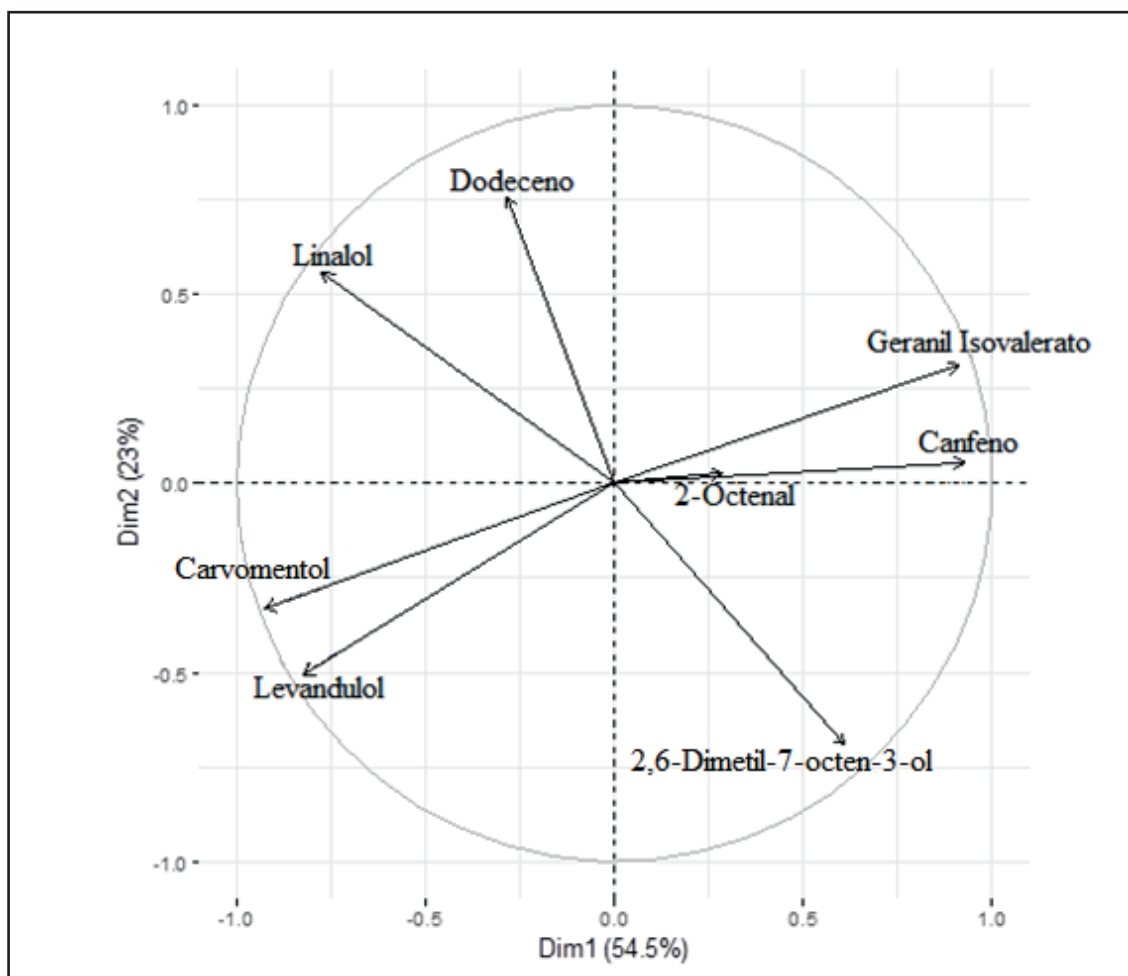


A Figura 9 mostra a representação vetorial da contribuição dos compostos para a formação dos grupos, na qual os monoterpênicos levandulol e carvomentol mostram-se predominantes em infestações múltiplas (ácaros + lagartas). As plantas de soja infestadas com as lagartas ativaram a rota do ácido jasmônico, produzindo dodeceno, e também a rota do isopreno, produzindo linalol.





**Figura 9.** Análise de componentes principais (PCA) dos compostos voláteis presentes em plantas de soja detectados via CG/MS.

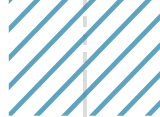


## ■ DISCUSSÃO

Os compostos canfeno, 2-octenal, dodeceno e linalol, encontrados no presente estudo, também foram identificados em plantas de soja em vários trabalhos ao avaliarem a emissão de compostos voláteis (ROSARIO *et al.*, 1984; LIU; NORRIS & LYNE, 1989; DAMIANI *et al.*, 2000; BOUE *et al.*, 2003; BOER; POSTHUMUS & DICKE, 2004; MORAES *et al.*, 2005; ZHU & PARK, 2005; ROSTÁS & EGGERT, 2008; MICHEREFF *et al.*, 2011; CAI; KOZIEL & O'NEAL, 2015). Além disso, os compostos 2-octenal, dodeceno e 2,6-dimetil-7-octen-3-ol, derivados do jasmonato, também sugerem fortemente a emissão de defesa induzida indireta, uma vez que a rota do jasmonato foi descrita como uma das principais rotas químicas de voláteis (HEIL, 2014).

Na análise dos voláteis de plantas de soja limpas, o composto dodeceno, encontrado exclusivamente nesta amostra, também foi descrito em outra cultivar de soja (PI 227687) por Liu; Norris & Lyne (1989), que atribuíram a presença deste composto à repelência da lagarta *Trichoplusia ni* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) e conseqüentemente, a atração da *T. ni* pela cultivar Davis à ausência deste composto. O composto dodeceno é indicado como sendo





uma molécula de sinalização para a localização do hospedeiro pelo herbívoro. Em condições de infestação, a planta interrompe a produção desse composto, beneficiando o herbívoro dessa infestação e dificultando a colonização da planta por outros herbívoros.

Shimoda & Dicke (1999), ao avaliarem a resposta do ácaro *Phytoseiulus persimilis* aos voláteis de feijão em baixa densidade de *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) (2 lagartas por planta) e alta densidade (100 lagartas por planta) observaram preferência ao primeiro e repelência do predador ao último grupo. Entretanto, ao não remover as fezes das lagartas, os predadores não preferiram este tratamento, o que indica que os voláteis das fezes das lagartas mediaram essa preferência. Tal observação é pertinente pelo fato de que as fezes das lagartas permaneceram nas folhas das plantas de soja durante o experimento, logo, os voláteis dessas fezes foram, provavelmente, também coletados.

O composto linalol, encontrado em plantas infestadas com *A. gemmatalis*, também foi encontrado em plantas de soja com infestação por *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) (ROSTÁS & EGGERT, 2008). Este composto pode ser chave a expressão de defesa induzida indireta e auxiliar no direcionamento de inimigos naturais por plantas infestadas com presas. O linalol não foi produzido por plantas de soja infestadas com lagartas que foram previamente expostas à herbivoria de ácaros. Isso sugere que algum mecanismo de regulação de emissão de voláteis ocorreu durante a infestação por ácaros herbívoros.

Rostás & Eggert (2008), ao avaliarem a emissão de voláteis em plantas de soja após herbivoria por *S. frugiperda* detectaram diferenças qualitativas e quantitativas dos compostos em relação ao tempo, fase de crescimento, órgão da planta e idade da folha, e que o estágio vegetativo emite maiores quantidades de compostos do que no estágio reprodutivo.

Os demais compostos não haviam sido relatados em plantas de soja. Os resultados encontrados na cromatografia corroboram aos encontrados na análise de PCA do presente estudo, uma vez que os compostos voláteis provenientes da infestação por *T. urticae* e em plantas limpas assemelham-se de tal forma que favoreceu a formação de apenas um grupo, ao passo que plantas infestadas por *A. gemmatalis* e por ambos herbívoros (*T. urticae* e *A. gemmatalis* na mesma planta) apresentam diferenças qualitativas e quantitativas mais acentuadas, agrupando-os em posições distintas.

Diante das informações apresentadas, pode-se afirmar que a herbivoria altera o perfil químico dos voláteis emitidos em plantas de soja e estes, possivelmente, caracterizam a ativação da defesa induzida indireta. Além disso, torna-se evidente a viabilidade do uso da metodologia não invasiva utilizada para a extração desses voláteis.





## ■ CONCLUSÃO

O presente artigo é o pioneiro na investigação dos voláteis de soja com a utilização de uma metodologia que não implica no maceramento das folhas. Sendo assim é possível afirmar que os compostos encontrados foram realmente emitidos após a manipulação dos herbívoros sem as possíveis interferências de danos mecânicos causados no processo de maceração. Ademais, futuros estudos podem ser desenvolvidos como testes de preferência de inimigos naturais para esclarecer o forrageamento em situações de campo.

## ■ AGRADECIMENTOS

À Empresa Ríber Sementes, pelas sementes de soja doadas.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG)

## ■ REFERÊNCIAS

1. AARTSMA, Y. *et al.* Herbivore-induced plant volatiles and tritrophic interactions across spatial scales. **New Phytologist**, v. 216, p. 1054–1063, 2017. Doi: 10.1111/nph.14475
2. BOER, J.G.; POSTHUMUS, M.A. Identification of volatiles that are used in discrimination between plants infested with prey or nonprey herbivores by a predatory mite. **Journal of Chemical Ecology**, v. 30(11), p. 2215-2230, 2004. Doi: 10.1023/B:JOEC.0000048784.79031.5e
3. BOUE, S.M. *et al.* Identification of volatile compounds in soybean at various developmental stages using solid phase microextraction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51(17), p. 4873-4876, 2003. Doi: 10.1021/jf030051q
4. CAI, L.; KOZIEL, J.A.; O'NEAL, M.E. Studying plant–insect interactions with solid phase microextraction: Screening for airborne volatile emissions response of soybeans to the soybean aphid, *Aphis glycines* Matsumura (Hemiptera: Aphididae). **Chromatography**, v. 2(2), p. 265-276, 2015. Doi: 10.3390/chromatography2020265
5. COLEY, P.D.; BARONE, J.A. Herbivory and plant defenses in tropical forests. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 27(1), p. 305–335, 1996. Doi: 10.1146/annurev.ecolsys.27.1.305
6. CRAWLEY, M.J. **The R Book**. 2nd edn. Chichester: JohnWiley & Sons Ltd, 2013. 975 p. ISBN: 978-0-470-97392-9
7. DAMIANI, P. *et al.* Clean recovery and HRGC-MS/HRGC FTIR identification of volatiles from soybean (*Glycine max*). **Italian Journal of Food Science**, v. 12(2), p. 175–182, 2000.
8. DICKE, M.; VAN LOON, J.J.A.; SOLER, R. Chemical complexity of volatiles from plants induced by multiple attack. **Nature Chemical Biology**, v. 5(5), p. 317–324, 2009. Doi: 10.1038/nchembio.169
9. GIRON, D. *et al.* Promises and challenges in insect–plant interactions. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 166, p. 319-343, 2018. Doi: 10.1111/eea.12679 .

10. García, Y. M. *et al.* Optimization of extraction and identification of volatile compounds from *Myrciaria floribunda*. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 52, n. 3, e20207199, 2021
11. GOMES, L.C. *et al.* Allergenic Fragrances Analysis in Brazilian Perfumes by Headspace Solid Phase Microextraction and Gas Chromatography-Mass Detector (HS-SPME-GC-MS). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 28(11), p. 2136-2145, 2017. Doi: 10.21577/0103-5053.20170062
12. GUEDES, J.V.C. *et al.* Ácaros associados à cultura da soja no Rio Grande do Sul. **Neotropical Entomology**, v. 36(2), p. 288-293, 2007.
13. HEIL, M. Herbivore-induced plant volatiles : targets, perception and unanswered questions. **New Phytologist**, v. 204(2) p. 297-306, 2014. Doi: 10.1111/nph.12977
14. LEE, H.I.; LEÓN, J.; RASKIN, I. Biosynthesis and metabolism of salicylic acid. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 92(10), p. 4076-4079, 1995. Doi: 10.1073/pnas.92.10.4076
15. LEITNER, M.; BOLAND, W.; MITHÖFER, A. Direct and indirect defences induced by piercing-sucking and chewing herbivores in *Medicago truncatula*. **New Phytologist**, v. 167(2), p. 597-606, 2005. Doi: 10.1111/j.1469-8137.2005.01426.x
16. LIU, S.H.; NORRIS, D.M.; LYNE, P. Volatiles from the foliage of soybean, *Glycine max*, and Lima Bean, *Phaseolus lunatus*: Their behavioral effects on the insects *Trichoplusia ni* and *Epilachna varivestis*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. (2), p. 496-501, 1989. Doi: 10.1021/jf00086a050
17. MERKLE S.; KLEEBERG, K.K.; FRITSCH, J. Recent developments and applications of solid phase microextraction (SPME) in food and environmental analysis - A review. **Chromatography**, v. 2(3), p. 293-381, 2015. Doi: 10.3390/chromatography2030293
18. MICHEREFF, M.F.F. *et al.* Volatiles mediating a plant herbivore natural enemy interaction in resistant and susceptible soybean cultivars. **Journal of Chemical Ecology**, v. 37(3), p. 273-385, 2011. Doi: 10.1007/s10886-011-9917-4
19. MORAES, M.C.B. *et al.* Induced volatiles in soybean and pigeon pea plants artificially infested with the neotropical brown stink bug, *Euschistus heros*, and their effect on the egg parasitoid, *Telenomus podisi*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 115(1), p. 227-237, 2005. Doi: 10.1111/j.1570-7458.2005.00290.x
20. MOSCARDI, F. *et al.* Artrópodes que atacam as folhas da soja. **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga** 1ª ed. Embrapa Soja, v. 91(1), p. 213-334, 2012. Doi: 10.1111/tpj.13545
21. PEREIRA, L. *et al.* Non-invasive quantification of ethylene in attached fruit headspace at 1 p.p.b. by gas chromatography–mass spectrometry. **The Plant Journal**, v. 91, p. 172–183, 2017.
22. POECKE, R.M.; DICKE, M. Indirect defence of plants against herbivores: using *Arabidopsis thaliana* as a model plant. **Journal of Plant Biology**, v. 6(4), p. 387-401, 2004. Doi: 10.1055/s-2004-820887
23. PONZIO, C. *et al.* Volatile-mediated foraging behaviour of three parasitoid species under conditions of dual insect herbivore attack. **Animal Behaviour**, v. 111 p. 197-206, 2016. Doi:10.1016/j.anbehav.2015.10.024

24. R DEVELOPMENT CORE TEAM. A Language and Environment for Statistical Computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, 2014. Available at: <http://www.r-project>.
25. RAZMJOU, J.; TAVAKKOLI, H.; NEMATI, M. Life history traits of *Tetranychus urticae* Koch on three legumes (Acari: Tetranychidae). **Mun. Ent. Zool.**, v. 4 (1), p. 204-211, 2009.
26. REZENDE, J.M. *et al.* Mites from Cerrado fragments and adjacent soybean crops: does the native vegetation help or harm the plantation? **Experimental and Applied Acarology**, v. 64(4), p. 501-518, 2014. Doi: 10.1007/s10493-014-9844-5
27. ROGGIA, S. *et al.* Spider mites associated to soybean in Rio Grande do Sul, Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43(3), p. 295-301, 2008. Doi: 10.1590/S0100-204X2008000300002
28. ROSARIO, R. *et al.* Comparison of headspace volatiles from winged beans and soybeans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 32(5), p. 1011-1015, 1984. Doi: 10.1021/jf00125a015
29. ROSTÁS, M.; EGGERT, K. Ontogenetic and spatio-temporal patterns of induced volatiles in *Glycine max* in the light of the optimal defence hypothesis. **Chemoecology**, v. 18(1), p. 29-38, 2008. Doi: 10.1007/s00049-007-0390-z
30. SHIMODA, T.; DICKE, M. Volatile stimuli related to feeding activity of nonprey caterpillars, *Spodoptera exigua*, affect olfactory response of the predatory mite *Phytoseiulus persimilis*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 25(7), p. 1585-1595, 1999. Doi: 10.1023/A:1020888816525
31. SILVA, C. J. *et al.* Water Stress-Induced Changes in the Physiology of *Callistemon viminalis*, Essential Oil Composition and Predicted Biological Activity. **Advances in Agricultural and Life Sciences 5**. Zittau Germany, Weser Books. 2021, cap. 7, p. 125-149.
32. VILELA, M. *et al.* Metodologia para criação e manutenção de *Helicoverpa armigera* em laboratório. **EMBRAPA: Brasília**, 7p, 2014. (Circular técnica, ISSN 1679-1150).
33. YONEYA, K.; TAKABAYASHI, J. Plant communication mediated by airborne signals: ecological and plant physiological perspectives. **Plant Biotechnology Journal**, v. 31(5), p. 409-416, 2014. Doi: 10.5511/plantbiotechnology.14.0827a
34. ZHANG, P.J. *et al.* Whiteflies interfere with indirect plant defense against spider mites in Lima bean. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106(50), p. 21202-21207, 2009. Doi: 10.1073/pnas.0907890106
35. ZHU, J.W.; PARK, K.C. Methyl salicylate, a soybean aphid-induced plant volatile attractive to the predator *Coccinella septempunctata*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 31(8), p. 1733-1746, 2005. Doi: 10.1007/s10886-005-5923-8