



Compostos orgânicos voláteis induzidos por herbivoria simulada em plantas de cana-de-açúcar

Volatile organic compounds induced by simulated herbivory in sugarcane plants

Demétrios José de Albuquerque Oliveira^{1*}, Thyago Fernando Lisboa Ribeiro², Karlos Antônio Lisboa Ribeiro Junior³, João Gomes da Costa⁴, Jaim Simões de Oliveira⁵, Henrique Fonseca Goulart^{6*}

¹Doutorando em Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, +55 82 999210821, demetriusufal@gmail.com ²Doutor em Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, +55 991879131, tlribeiro@gmail.com, ³Professor Visitante, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, +55 82 998292222, kalrj@qui.ufal.br, ⁴Pesquisador, Embrapa Alimentos e Territórios, Maceió, +55 82 91260682, joao-gomes.costa@embrapa.br, ⁵Professor Adjunto, Universidade Tiradentes, Maceió, +55 996557334, jaimsimoes@hotmail.com, ⁶Professor Adjunto, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, +55 82 99828097, fonsecagoulart@gmail.com

ARTIGO

Recebido: 04/02/2020
Aprovado: 08/06/2020

Palavras-chave:
Saccharum officinarum
Diatrea saccharalis
(Z)-jasmona
Defesa indireta de plantas

Key words:
Saccharum officinarum
Diatrea saccharalis
(Z)-jasmone
Indirect plant defense

RESUMO

A cana-de-açúcar é uma cultura de grande importância para a agricultura e economia brasileira. Essa cultura pode sofrer ataques de diversas pragas que causam danos econômicos severos no tocante a produtividade. No presente trabalho investigamos os Compostos Orgânicos Voláteis (COVs) liberados por plantas de cana-de-açúcar submetidas a dois tratamentos de herbivoria simulada. Na Herbivoria Simulada Única (HSU), a planta é danificada mecanicamente uma única vez, entretanto na Herbivoria Simulada Dupla (HSD), a planta é danificada mecanicamente por duas vezes. Os experimentos foram avaliados em três tempos diferentes (24, 48 e 72 horas). As plantas apresentaram diferentes perfis de COVs quando submetidas aos tratamentos. A (Z)-jasmona e a sulcatona foram emitidos em maior quantidade pelas plantas do tratamento HSD após 24 e 48 horas de indução sendo que 48 horas após a indução que esse composto apresentou diferença significativa em relação quantidade emitida pelas plantas do tratamento HSU. Esses achados fornecem uma indicação de que as plantas são capazes de implementar defesas contra o ataque de herbívoro, pela emissão de compostos que repelem insetos e atraem parasitóides e ou predadores.

ABSTRACT

Sugarcane is a crop of great importance for agriculture and the Brazilian economy. This crop can be attacked by several pests that cause severe economic damage in terms of productivity. This work aimed to investigate the volatile compounds released by sugarcane plants submitted to two treatments of simulated herbivory. In the Single Simulated Herbivory (SSH), the plant is mechanically damaged only once, however in the Double Simulated Herbivory (DSH), the plants are mechanically damaged twice. The experiments were evaluated at three different times (24, 48, and 72 hours). The plants presented different profiles of VOCs when submitted to the treatments. The (Z)-jasmone and sulcatone were emitted in greater quantity by the plants of the HSD treatment after 24 and 48 hours of induction, and 48 hours after the induction this compound showed a significant difference to the quantity emitted by the plants of the HSU treatment. These findings indicate that plants can implement defenses against herbivore attacks, by emitting compounds that repel insects and attract parasitoids and or predators.

INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar é uma monocotiledônea pertencente à família Poaceae. Seus atuais cultivares são híbridos interespecíficos, sendo que nas constituições genéticas participam as espécies *Saccharum officinarum*, *Saccharum spontaneum*, *Saccharum sinense*, *Saccharum barberi*, *Saccharum robustum* e *Saccharum edule* (JADOSKI et al.,

2010). Desde a sua introdução no Brasil a cana-de-açúcar tornou-se uma cultura de extrema importância para a agricultura e economia brasileira, sendo que na safra 2018/2019 uma produção de 620,44 milhões de toneladas e sendo estimado para a safra 2019/2020 uma produção de 622,27 milhões de toneladas. A exploração dessa cultura transformou o Brasil em um dos maiores produtores de açúcar e etanol do mundo (CONAB, 2020), porém essa cultura pode



sofre ataque de diversas pragas, fato que diminui seu potencial produtivo (FERREIRA et al., 2018). Dentre as pragas que atacam essa cultura destacam-se como as principais; a Broca da cana-de-açúcar (*Diatraea saccharalis*) (Fabricius 1794, Lepidoptera: Crambidae) e a Broca-gigante *Telchin licus* (Drury, 1773) (Lepidoptera: Castniidae) que causam perdas econômicas significativas (CRISTOFOLETTI et al., 2018; SILVA JUNIOR et al., 2008).

As plantas, ao sofrerem algum tipo de estresse biótico, são capazes de combater esse estresse por meio de mecanismos defensivos distintos (WAR et al., 2012) divididos em duas categorias, denominadas em diretos (CHEN, 2008), quando incidem diretamente sobre o inseto inimigo e indiretos (ALJBORY; CHEN, 2018), quando atua na atração inimigos naturais dos insetos ou permita que a planta se defenda de modo mais eficaz. Essas duas categorias são ainda divididas em mecanismo constitutivos (SHAO et al., 2019) e induzidos (ATAIDE et al., 2016). No mecanismo denominado constitutivo, as plantas usam as defesas já existentes como, fitoanticipinas (TIKU, 2020), tricomas e ceras cuticulares presentes no tecido foliar, esse tipo de defesa é independente do tipo de estresse. O mecanismo induzido depende de um estímulo externo (PAUDEL et al., 2019) como fitoalexina (RASHID et al., 2017) e compostos orgânicos voláteis (YANG et al., 2020) e não voláteis (KORTBEEK et al., 2019). Os voláteis emitidos por plantas quando sofrem herbivoria de insetos são denominados compostos orgânicos voláteis (COVs) induzidos por herbívoros, esses podem atuar na atração de inimigos naturais (DICKE; BALDWIN, 2010) como também na sinalização entre plantas vizinhas e entre partes da mesma planta (HIRAO et al., 2012). Em um outro mecanismo de defesa, logo após um primeiro estímulo ou indicação de estresse futuro, as plantas, devido ao armazenamento dessa informação de estresse, são capazes de responder de forma mais aprimorada, rápida e eficiente a ataques futuros. Esse sistema de defesa induzida é denominado como defesa de “memória”, estado de alerta ou efeito priming (CONRATH et al., 2006; HILKER et al., 2016; NÁVAROVÁ et al., 2013). Nesse estado pode ocorrer a transcrição de genes de defesa (FROST et al., 2008; PENG et al., 2011) e a produção de metabólitos secundários (HIRAO et al., 2012). O efeito priming é um processo que pode ser desencadeado por agentes patogênicos ou benéficos, (CONRATH, 2009; NÁVAROVÁ et al., 2013), fito hormônios, compostos orgânicos voláteis (HIRAO et al., 2012), oviposição de insetos (KIM et al., 2011), podendo ser ainda desencadeado pelo tratamento de sementes com elicitores de defesa de plantas (WESTMAN et al., 2019) se estendendo por intervalos de tempo curtos ou longos (HILKER et al., 2016) e podendo ser transmitido ao longo das gerações (RASMANN et al., 2012).

O entendimento da dinâmica de respostas a diferentes estímulos estressantes é importante para se entender como a planta é capaz de se defender de ataques de insetos herbívoros. Uma vez entendido esses mecanismos pode-se usar os COVs como uma ferramenta, em programas de melhoramento genético para aumentar a proteção de culturas contra ataques de insetos (TAMIRU et al., 2015) já que mesmo com uso de agrotóxicos, o ataque de insetos ainda causa perdas econômicas significativas na produção agrícola (OLIVEIRA et al., 2014). Esse tipo de abordagem é vantajosa para o desenvolvimento de uma agricultura mais sustentável uma vez que pode fornecer controle biológico de pragas e impedir

consequentemente o ataques de insetos herbívoros (PICKETT; KHAN, 2016)

Compreender o processo de resposta das plantas de cana-de-açúcar submetidas a herbivoria simulada utilizando os elicitores presentes no seu regurgito da broca-da-cana (*Diatraea saccharalis*) auxiliará a desenvolver ferramentas que permitirão o estabelecimento de cultivares que possam ser capazes de se defenderem de forma ágil e eficiente contra os estresses causados pelo ataque de insetos. Nesta perspectiva o presente trabalho teve como intuito identificar e verificar as variações nas emissões os COVs emitidos por plantas de cana-de-açúcar submetidas a herbivoria simuladas em diferentes tempos de indução.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção das plantas e dos insetos

As plantas de cana-de-açúcar utilizadas no estudo foram da cultivar comercial SP 79 1011, fornecidas pela Usina Triunfo Agro-Industrial LTDA, situada na cidade de Boca da Mata, Alagoas, a 132 m de altitude e coordenadas geográficas de 09° 38' 27,6" de latitude sul e 36° 12' 12,6" de longitude oeste. Todo o material vegetal foi propagado vegetativamente (cortes no caule), plantando um pedaço de estaca em vasos de 0,5 L de plástico, utilizando-se solo de envasamento comercial. As plantas foram cultivadas em casa de vegetação a uma temperatura de 25 ± 2 ° C e umidade relativa controlada de 70%. As plantas foram regadas manualmente por 40 dias. Os insetos utilizados no estudo foram lagartas de *Diatraea saccharalis* fornecidos pelo setor de entomologia da Usina Triunfo Agro-Industrial LTDA. Esses insetos foram mantidos em dieta artificial também fornecida pelo mesmo setor da empresa. O experimento foi realizado no Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais (LPqRN) situado no Campus A. C. Simões na Universidade Federal de Alagoas.

Coleta e tratamento do regurgito

O regurgito foi coletado das lagartas de *D. saccharalis* no terceiro instar (12 dias após a eclosão). A coleta foi efetuada com o auxílio de pipetas micrométricas, pressionando-se levemente o dorso das lagartas. Imediatamente após a coleta, o regurgito foi armazenado em banho de gelo com o intuito de retardar à atividade enzimática, esse procedimento foi descrito por Mori et al. (2001), para preservar os compostos elicitores, da atividade enzimática responsável pela degradação dos compostos de interesse. A cada 50µL coletados o regurgito foi aquecido a 90°C por 10 min, para inativar as enzimas hidrolíticas (ALBORN et al., 2003) seguido da adição de tampão fosfato de sódio pH 8,0 para uma concentração final de 5 mM. Logo após, a amostra foi centrifugada a 20000xg por 15 min e a fração solúvel armazenada em tubos eppendorf de 1,5 mL à -80°C.

Herbivoria simulada

As plantas foram divididas em dois grupos de cinco indivíduos. Cada grupo foi submetido a um tratamento distinto. Em um dos grupos foi efetuada a herbivoria simulada única, ou seja, as plantas foram danificadas mecanicamente e submetidas a aplicação inicial de tampão fosfato e 72 horas após a aplicação do tampão aplicação de regurgito uma única vez, formando o grupo (HSU). No outro grupo foi efetuada a herbivoria simulada dupla, ou seja, as plantas foram danificadas mecanicamente e submetidas a aplicação do

regurgito duas vezes, uma vez imediatamente após o dano mecânico e outra vez após um período de 72 horas formando o grupo (HSD).

Inicialmente no grupo HSU três folhas cada planta foi danificada mecanicamente com o auxílio de uma “roda de aço dentada” de diâmetro de 1,9 cm e submetida a aplicação de 2 µL de fosfato de sódio 5 Mm, pH 8,0 dando um total de 6 µL por planta. De modo semelhante no grupo HSD três folhas de cada planta foram danificadas com o auxílio de uma “roda de aço dentada” e submetidas a aplicação de 2 µL de regurgito totalizando 6µL por planta.

Os grupos foram então colocados em diferentes casas de vegetação pertencentes ao LPqRN para evitar comunicação entre as plantas. Para se efetuar a segunda herbivoria simulada respeitou-se um período de aclimação das plantas de 72 horas. Depois desse período, mais uma vez foram feitos danos nas folhas das plantas dos dois grupos e aplicou-se 2 µL de regurgito nas folhas de cada planta do grupo HSU e nas folhas de cada planta do grupo HSD. Desse modo, no grupo HSU foi aplicado regurgito uma única vez e no grupo HSD foi aplicado regurgito duas vezes.

Coleta dos compostos orgânicos voláteis das plantas

As plantas tiveram seus voláteis coletados por meio do sistema de aeração. Para isso foram utilizadas sacolas Cooking Bags [poli(tereftalato de etileno – PET)], volume aproximado de 3,2 litros, tamanho aproximado de 25 x 38 cm e temperatura máxima suportada 200 °C (Sainsbury’s Supermarkets Ltd., London, UK) (STEWART-JONES; POPPY, 2006). As plantas contendo os diferentes tratamentos foram cobertas com essas sacolas, além disso tiveram seus vasos totalmente cobertos com papel alumínio para minimizar a contaminação das amostras com possíveis compostos voláteis oriundos do substrato. Para captura dos COVs foi utilizado o adsorvente Porapak Q (etilvinilbenzeno-divinilbenzeno), malha 50/80 (Supelco). O ar foi filtrado por meio de carvão ativado, foi bombeado para dentro do saco plástico a uma taxa de fluxo de 800 mL / min por planta. Tubos de vidro contendo Porapak Q foram inseridos na parte superior da sacola e o ar, contendo os

COVs coletados a uma vazão de 400 mL / min para cada planta. Ao final da aeração, os tubos contendo COVs foram dessorvidos com 700 µL de hexano e as amostras armazenadas a -20 °C até serem utilizadas para análises. As coletas foram realizadas nos tempos de 24, 48 e 72 horas, sendo realizados em cinco repetições para cada tratamento.

A cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas

Os extratos obtidos na aeração foram analisados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC/MS QP 2010 Plus) (SHIMADZU), usando uma coluna Nist-05 (30 m × 0,25 mm d., Espessura de filme 0,25 µm) e hélio como gás de arraste. A temperatura do forno foi ajustada para iniciar a 50 °C e subir para 250 °C a uma taxa de 5°C / min, com as temperaturas do injetor e do detector fixadas em 250 °C. A fonte de ionização utilizada foi o impacto de elétrons (IE) com 70 eV (elétron-volts), com a temperatura do detector da fonte de íons a 200 °C. A temperatura da interface foi de 250 °C, os valores de fragmentação registrados foram de varredura de 35 m / z a 500 m / z e o tempo total de execução foi de 46,5 minutos. Os compostos foram identificados por comparação de seus espectros de massa com as bibliotecas comerciais NIST08, NIST08s e WILEY229.

Análise estatística

Os dados quantitativos dos COVs emitidos pelas plantas dos dois grupos foram submetidos a testes de normalidade Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk e, como não foram normais, foram submetidos ao teste de Wilcoxon-Mann-Whitney (p <0,05). As análises foram realizadas utilizando o software GENES (CRUZ, 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As plantas de cana-de-açúcar submetidas aos tratamentos HSD e HSU emitiram um total de 12 COVs (tabela 1). Esses COVs apresentaram variações nas suas quantidades relativas em relação aos dois tratamentos nos três tempos estudados (figuras 1, 2 e 3).

Tabela 1. Média percentual da área dos picos de compostos voláteis emitidos por plantas de cana-de-açúcar submetidas aos tratamentos de herbivoria simulada.

Compostos	TR	Média Percentual da Área					
		HSD			HSU		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Sulcatona	15,353	23745,8	137641,6	52157,2	-	89020,0	-
Octanal,	15,839	-	32489,2	12018,6	-	40938,2	49348
Limoneno	16,978	-	67197,2	26809,4	-	56295,0	226141,4
Undecano	18,752	232332,8	126232,2	159119,4	42617,3	264376,8	227860,7
Dodecano	20,968	196443	225051	83721,8	196463	245319,6	-
(Z)-Jasmona,	24,412	89278,2	79663,6	71843,6	25450,8	684058,4	-
1,4-diacetilbenzeno	25,178	60208,2	26056,6	15341,4	42716,6	54735,8	78567,4
(E)-geranilacetona	25,470	71961,8	181758,6	33551,6	203954,2	159852,2	64284,2
Norfitano	29,581	126171,2	-	6082	72386,7	36189,8	16101,8
Heneicosano	31,243	23301,1	10779,1	19074,6	6030,6	3378,1	31365,2
Ácido ftálico	31,788	222163	260855,2	71853,6	244118,8	152893	191922,6
Esqualeno	44,294	471457,8	542345	176612	773177,6	-	1018454,4

TR = tempo de retenção; HSD = herbivoria simulada dupla; HSU = herbivoria simulada única

Um total de 6 compostos no total foram emitidos em maior concentração pelas plantas do tratamento HSD 24 horas após a indução. Não foi possível observar diferença significativa entre as quantidades de todos os compostos emitidos pelas plantas dos dois tratamentos. Desse modo apenas para (E)-geraniacetona $p = 0,05$ observou-se significância estatística para diferença na quantidade emitida pelas plantas do tratamento HSU (figura 1). Trabalhos anteriores demonstraram que, em resposta a herbivoria, plantas tendem a emitir maiores quantidade de COVs do que em plantas sem infestação (MARTINS; ZARBIN, 2013). Nossos resultados demonstraram que a exposição das plantas ao tratamento HSD aumenta a quantidade de COVs logo após o ferimento da planta (24 horas) e que essa quantidade vai diminuindo ao longo do tempo, como pode ser observado nas plantas do tratamento HSD 48 horas (figura 2). Nossas constatações sugerem que as plantas podem responder a herbivoria simulada aumentando o número de compostos emitidos nas primeiras horas após a indução.

Smith e Beck (2013) demonstraram que plantas não danificadas e danificadas mecanicamente por diferentes métodos emitiram 28 COVs diferentes. Em plantas de *Trifolium pratense* (L.) a quantidade COVs emitidos pelas plantas danificadas mecanicamente em condições de laboratório foi 21 compostos, já em condições de campo as plantas danificadas mecanicamente emitiram um total de 15 compostos (KIGATHI et al., 2009). Em trabalho com plantas da subtribo *Centaureinae* (Asteraceae) um total de 49 COVs foram emitidos (SMITH; BECK, 2015). Esses resultados indicam que a quantidade de COVs emitidos por plantas submetidas ao dano mecânico é bastante variável e dependente das condições experimentais e da espécie de planta estudada.

Após 48 horas de indução as plantas do tratamento HSU emitiram 9 compostos voláteis em maior quantidade contra apenas 3 compostos emitidos pelas plantas do tratamento HSD (figura 2). Entre os 9 emitidos pelas plantas HSU apenas ácido ftálico $p = 0,04$ e esqualeno $p = 0,05$ apresentaram diferença significativa. Nas plantas HSD, dos 3 compostos emitidos em maior quantidade apenas a (Z)-jasmona $p = 0,02$ apresentou diferença significativa. A liberação de (Z)-jasmona ocorre em plantas promovendo a atração de polinizadores (MATTHES et al., 2010; RÖSE AND TUMLINSON, 2005). Sendo também

liberada após a herbivoria por insetos em diversas plantas, (LOUGHRIN et al., 1995; Pará and TUMLINSON, 1997; RÖSE AND TUMLINSON, 2004). Nas plantas, a (Z)-jasmona é sintetizada a partir do ácido α -linolênico (AL) através de duas vias biossintéticas usando o ácido jasmônico (AJ) e o ácido iso-12-oxo-fitodienólico (iso-OPDA) como principais intermediários (DĄBROWSKA; BOLAND, 2007; MATSUI et al., 2017) sugerindo que ao menos a via dependente de ácido jasmônico está sendo ativada. A (Z)-jasmona demonstrou ser repelente a pulgões *Sitobion avenae* (Fabricius) (Homoptera: Aphididae) em plantas de trigo (BRUCE et al., 2003) e ao pulgão *Nasonovia ribis-nigri*. Esse composto teve efeito em dois agentes de controle natural dos pulgões *Phorodon humuli*, *Metopolophium dirhodum* e *Nasonovia ribis*, demonstrando ser atrativo para o predador *Coccinella septempunctata* (Coleoptera: Coccinellidae) e quando aplicado em *Vicia faba* tornou essas plantas mais atrativa para o parasitoide *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Braconidae) (BIRKETT et al., 2000). Corroborando com nossos resultados, que mostraram que (Z)-jasmona teve maior emissão nas plantas do tratamento HSD 24 e 72 horas, esse composto foi liberado quando secreções orais de larvas de *Manduca sexta*, foram aplicadas a folhas de plantas do gênero *Nicotina* danificadas mecanicamente (LOU; BALDWIN, 2003), sugerindo que em nosso estudo esse composto pode ser um importante mecanismo na defesa das plantas em resposta ao tratamento HSD.

Após 72 horas de indução as plantas do tratamento HSD emitiram 3 compostos voláteis em maior concentração em relação as plantas do tratamento HSU que emitiram apenas 9. Os voláteis sulcatona, dodecano e (Z)-jasmona foram emitidos em maior quantidade pelas plantas do tratamento HSD (figura 3). Estudos anteriores indicaram que a identidade de voláteis não se alterou com o passar do tempo e que essa constância está relacionada com especificidade de resposta da planta (PAUDEL TIMILSENA et al., 2020). Em nosso estudo observamos variação no número e na identidade dos COVs emitidos após herbivoria simulada dupla, já que COVs inicialmente emitidos em maior quantidade no tratamento HSD tiveram sua quantidade diminuída ou deixaram de ser emitidos com o passar do tempo, sugerindo que a efetividade da resposta varia ao longo dos dias.

Figura 1. Áreas média dos picos de COVs de plantas submetidas aos tratamentos HSU (Herbivoria simulada única) e HSD (Herbivoria simulada dupla) após 24 horas de indução.

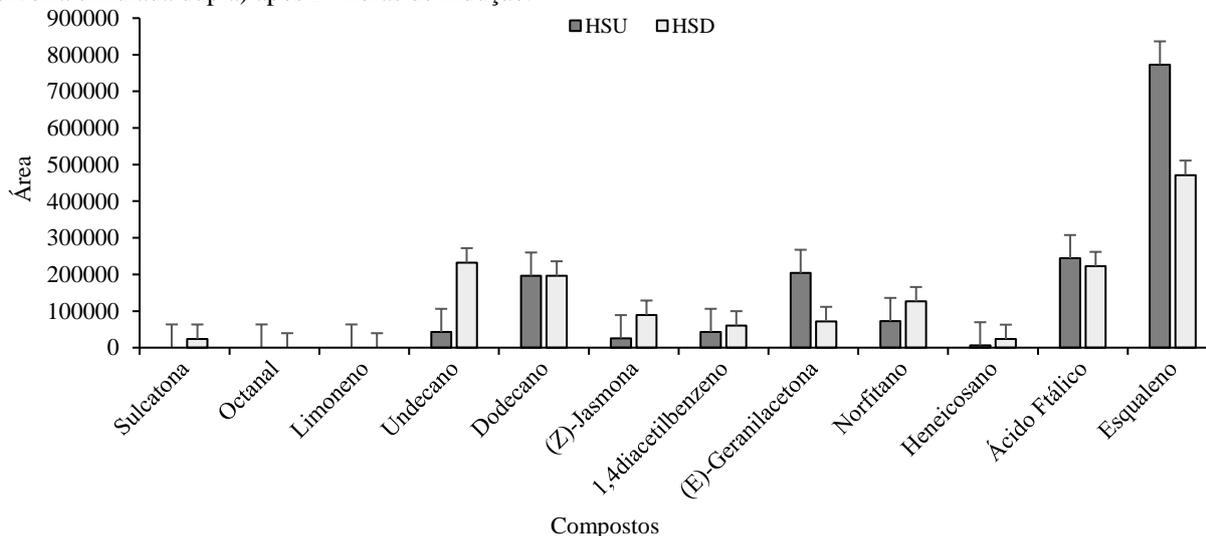


Figura 2. Áreas média dos picos de COVs de plantas submetidas aos tratamentos HSU (Herbivoria simulada única) e HSD (Herbivoria simulada dupla) após 48 horas de indução. O asterisco sobre o eixo do gráfico indica diferença significativa pelo teste de wilcoxon (* $p=0,02$).

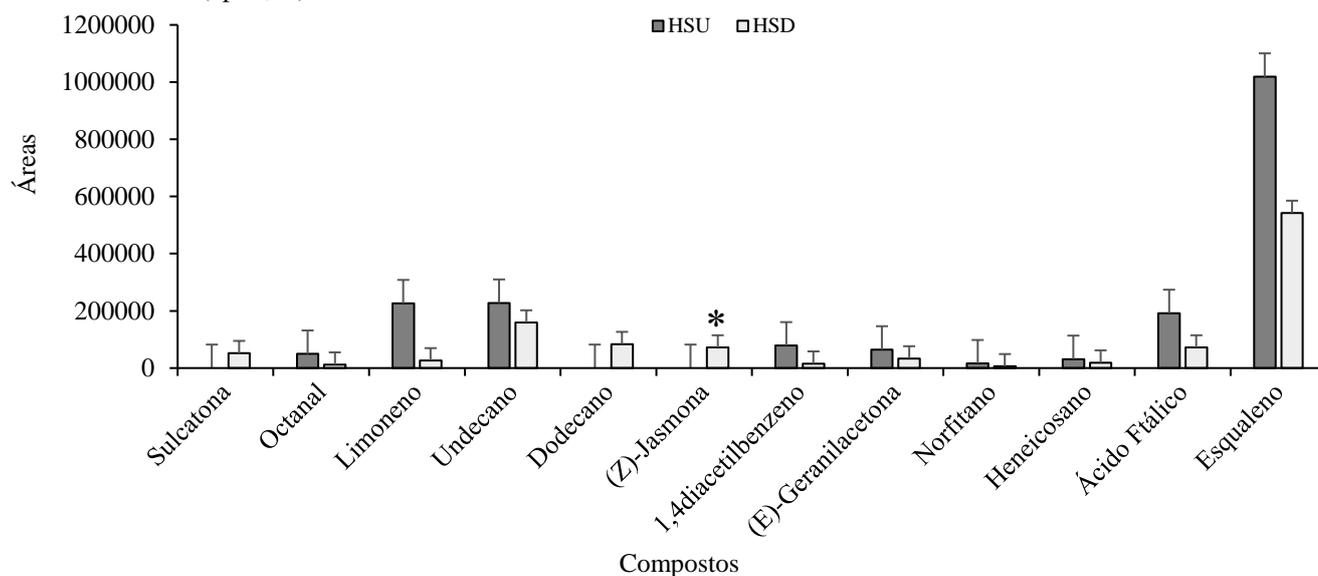
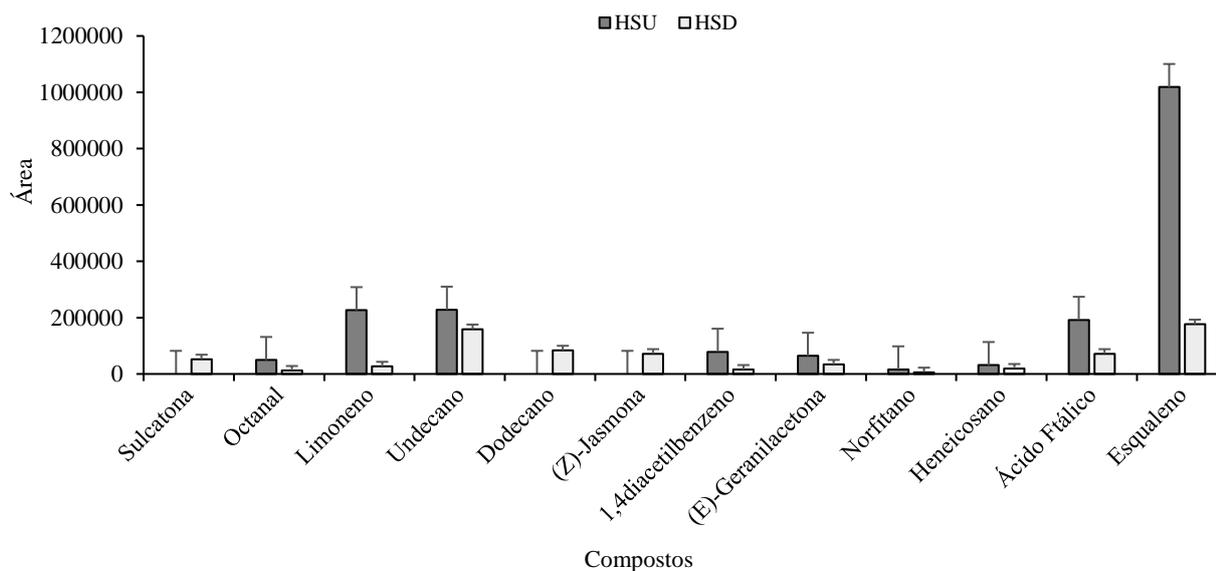


Figura 3. Áreas média dos picos de COVs de plantas submetidas aos tratamentos HSU (Herbivoria simulada única) e HSD (Herbivoria simulada dupla) após 72 horas de indução.



Em alguns casos esses COVs podem ser produzidos em maior quantidade pelas plantas do tratamento HSU em todos os tempos de coleta, como no caso da (E)-geraniacetona, indicando que a biossíntese também é ativa se as plantas são feridas apenas uma vez. No entanto, houve claras diferenças na quantidade e proporção dos voláteis, alterando o buquê de COVs de acordo com o tratamento. Isso indica que, embora aparentemente as mesmas vias Biosintética possam estar ativas na planta com ou sem lesão, deve haver uma mudança significativa envolvendo as vias e/ou as enzimas terpeno-sintase ativadas especificamente após a herbivoria. Em outros casos a presença desses compostos não foi detectada no início da coleta, porém, à medida que o tempo de coleta foi se prolongando, sua emissão foi aumentando apenas no tratamento HSU, como no caso do esqualeno. Essas constatações sinalizam que estes compostos podem ser

importantes para a defesa da planta logo após a ocorrência do dano.

Trabalhos anteriores identificaram diferentes alcanos liberado por plantas (GRUBER et al., 2009; JAKOBSEN et al., 1994), atuando ainda como pistas para o parasitóide *Trybliographa. rapae* ao procurar *Brassicaceae rapa sub sp.* expostas a herbivoria radicular e/ou foliar por *Delia radicum* e *Pieris brassicae*. O fato de alcanos como heneicosano e dodecano serem emitidos pelas plantas submetidas ao tratamento HSD, o heneicosano após 24 e 48 horas de indução e dodecano após 72 horas de indução, nos indica que esses compostos possam ser utilizados pelas plantas em suas estratégias de defesa.

O 1,4-diacetilbenzeno foi detectado no buque de voláteis de frutos de tomate (RISTICEVIC et al., 2020). Em nosso trabalho esse composto estava presente em maior quantidade nos voláteis da plantas do tratamento HSD após 24 horas de

indução. Para Tikunov et al. 2005 a biossíntese dos derivados da acetofenona ainda não está clara, porém o agrupamento com terpenóides e os voláteis carotenóides cíclicos, respectivamente, podem lançar uma nova luz sobre sua origem bioquímica. Em nosso trabalho, no que diz respeito a ocorrência de 1,4-diacetilbenzeno nos diferentes tempos de coleta, observa-se que esse composto segue o mesmo comportamento que os terpenóides norfitano e limoneno que foram emitidos em maior quantidade após 24 horas de indução com posterior diminuição ao passar do tempo indicando que esses compostos possam ter funções semelhantes e que as vias de biossíntese desses metabólitos estejam envolvidas na reposta de defesa da planta em relação ao regurgito.

CONCLUSÕES

As plantas de cana-de-açúcar ao serem submetidas ao tratamento HSD são capazes de exibir um perfil de voláteis diferente quando submetidas ao tratamento HSU. A indução de terpenóides e outras classes de COVs em maior quantidade após a herbivoria simulada dupla fornece uma indicação de que as plantas submetidas ao tratamento HSD são capazes de implementar defesas contra um possível ataque de herbívoros pela emissão de compostos que repelem insetos e atraem os parasitóides e/ou predadores.

AGRADECIMENTO

Ao estimado pesquisador e amigo Dr. Alessandro Riffel (*in memoriam*) que teve um papel fundamental na minha formação acadêmica e pessoal e que contribuiu para desenvolvimento deste trabalho e tantos outros.

REFERÊNCIAS

- ALJBORY, Z.; CHEN, M.-S. Indirect plant defense against insect herbivores: A review. *Insect Science*. 25(1), 2–23, 2018. [10.1111/1744-7917.12436](https://doi.org/10.1111/1744-7917.12436)
- ATAIDE, L. M. S.; PAPPAS, M. L.; SCHIMMEL, B. C. J.; LOPEZ-ORENES, A.; ALBA, J. M.; DUARTE, M. V. A.; PALLINI, A.; SCHUURINK, R. C.; KANT, M. R. Induced plant-defenses suppress herbivore reproduction but also constrain predation of their offspring. *Plant Science*. 252:300–310, 2016. [10.1016/j.plantsci.2016.08.004](https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2016.08.004).
- BIRKETT, M. A.; CAMPBELL, C. A. M.; CHAMBERLAIN, K.; GUERRIERI, E.; HICK, A. J.; MARTIN, J. L.; MATTHES, M.; NAPIER, J. A.; PETERSSON, J.; PICKETT, J. A.; POPPY, G. M.; POW, E. M.; PYE, B. J.; SMART, L. E.; WADHAMS, G. H.; WADHAMS, L. J.; WOODCOCK, C. M. New Roles for cis-jasmone as an insect semiochemical and in plant defense. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Sci., 97(16), 9329–9334, 2000. <https://doi.org/10.1073/pnas.160241697>.
- BRUCE, T. J.; MARTIN, J. L.; PICKETT, J. A.; PYE, B. J.; SMART, L. E.; WADHAMS, L. J. cis-jasmone treatment induces resistance in wheat plants against the Grain aphid, *Sitobion Avenae* (Fabricius) (Homoptera: Aphididae). *Pest Management Science*. 59(9):1031–1036, 2003. [10.1002/ps.730](https://doi.org/10.1002/ps.730)
- CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. Conab Safras, 2018. Disponível: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana>> Acessado em: 28 Feb. 2020.
- CONRATH, U.; BECKERS, G. J. M.; FLORS, V.; GARCÍA-AGUSTÍN, P.; JAKAB, G.; MAUCH, F.; NEWMAN, M.-A.; PIETERSE, C. M. J.; POINSSOT, B.; POZO, M. J.; PUGIN, A.; SCHAFFRATH, U.; TON, J.; WENDEHENNE, D.; ZIMMERLI, L.; MAUCH-MANI, B. Priming: getting ready for battle. *Mol. Molecular Plant-Microbe Interactions*. 19(10):1062–1071, 2006. [10.1094/MPMI-19-1062](https://doi.org/10.1094/MPMI-19-1062).
- CONRATH, U. Chapter 9 Priming of induced plant defense responses. In: JEAN, C. K.; MICHEL D (eds.). *Advances in Botanical Research*. Academic Press, 2009, p 361–395.
- CHEN, M. Inducible direct plant defense against insect herbivores: A review. *Insect Science*. 15(2):101–114, 2008. [10.1111/j.1744-7917.2008.00190.x](https://doi.org/10.1111/j.1744-7917.2008.00190.x).
- CRISTOFOLETTI, P. T.; KEMPER, E. L.; CAPELLA, A. N.; CARMAGO, S. R.; CAZOTO, J. L.; FERRARI, F.; GALVAN, T. L.; GAUER, L.; MONGE, G. A.; NISHIKAWA, M. A.; SANTOS, N. Z.; SEMEAO, A. A.; SILVA, L.; WILLSE, A. R.; ZANCA, A.; EDGERTON, M. D. Development of transgenic sugarcane resistant to sugarcane borer. *Tropical Plant Biology*. 11(1–2):17–30, 2018. [10.1007/s12042-018-9198-y](https://doi.org/10.1007/s12042-018-9198-y).
- CRUZ, C. D. Genes - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Scientiarum. Agronomy*. (3):271–276, 2013. [10.4025/actasciagron.v35i3.21251](https://doi.org/10.4025/actasciagron.v35i3.21251).
- DĄBROWSKA, P.; BOLAND, W. Iso-OPDA: An early precursor of cis-jasmone in plants? *ChemBioChem*. 8(18):2281–2285, 2007. [10.1002/cbic.200700464](https://doi.org/10.1002/cbic.200700464).
- DICKE, M.; BALDWIN, I. T. The evolutionary context for herbivore-induced plant volatiles: Beyond the ‘cry for help’. *Trends in Plant Science*. 15(3):167–175, 2010. [10.1016/j.tplants.2009.12.002.32](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.12.002.32)
- FERREIRA, C. A. DA S.; SANTANA, M. V.; SANTOS, J. B. DOS; SANTOS, T. T. M. DOS; LÔBO, L. M.; FERNANDES, P. M. Yield and technological quality of sugarcane cultivars under infestation of *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794). *Arquivos do Instituto Biológico*. 85:1-7, 2018. <https://doi.org/10.1590/1808-1657000042017.35>
- FROST, C. J.; MESCHER, M. C.; CARLSON, J. E.; DE MORAES, C. M. Plant defense priming against herbivores: getting ready for different battle. *Plant Physiology*. 146(3):818–824, 2008. [10.1104/pp.107.113027.37](https://doi.org/10.1104/pp.107.113027.37)
- GRUBER, M. Y.; XU, N.; GRENKOW, L.; LI, X.; ONYILAGHA, J.; SOROKA, J. J.; WESTCOTT, N. D.; HEGEDUS, D. D. Responses of the Crucifer flea Beetle to Brassica volatiles in an olfactometer. *Environmental Entomology*. 38(5):1467–1479, 2009. [10.1603/022.038.0515](https://doi.org/10.1603/022.038.0515).
- HIRAO, T.; OKAZAWA, A.; HARADA, K.; KOBAYASHI, A.; MURANAKA, T.; HIRATA, K. Green leaf volatiles

- enhance methyl jasmonate response in Arabidopsis. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 114(5):540–545, 2012. [10.1016/j.jbiosc.2012.06.010](https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2012.06.010).
- HILKER, M.; SCHWACHTJE, J.; BAIER, M.; BALAZADEH, S.; BÄURLE, I.; GEISELHARDT, S.; HINCHA, D. K.; KUNZE, R.; MUELLER-ROEBER, B.; RILLIG, M. C.; ROLFF, J.; ROMEIS, T.; SCHMÜLLING, T.; STEPPUHN, A.; VAN DONGEN, J.; WHITCOMB, S. J.; WURST, S.; ZUTHER, E.; KOPKA, J. Priming and memory of stress responses in organisms lacking a nervous system. *Biological Reviews*. 91(4):1118–1133, 2016. [10.1111/brv.12215](https://doi.org/10.1111/brv.12215).
- JADOSKI, C. J.; BRAGANTI, E. V.; JULIANETTI, A.; HULSHOF, T.; ONO, E. O. Fisiologia do desenvolvimento do estágio vegetativo da cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.). *Brazilian Journal of Applied Technology for Agricultural Science*. 3:169–176. 2010.
- JAKOBSEN, H. B.; FRIIS, P.; NIELSEN, J. K.; OLSEN, C. E. Emission of volatiles from flowers and leaves of *Brassica Napus* in situ. *Phytochemistry*. 37 (3):695–699, 1994. [10.1016/S0031-9422\(00\)90341-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)90341-8).
- KIGATHI, R. N.; UNSICKER, S. B.; REICHEL, M.; KESSELMEIER, J.; GERSHENZON, J.; WEISSER, W. W. Emission of volatile organic compounds after herbivory from *Trifolium pratense* (L.) under laboratory and field conditions. *Journal of Chemical Ecology*. 35(11):1335–1348, 2009. [10.1007/s10886-009-9716-3](https://doi.org/10.1007/s10886-009-9716-3).
- KIM, J.; QUAGHEBEUR, H.; FELTON, G. W. Reiterative and interruptive signaling in induced plant resistance to chewing insects. *Phytochemistry*. 72(13):1624–1634, 2011. [10.1016/j.phytochem.2011.03.026](https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.03.026).
- KORTBEEK, R. W. J.; VAN DER GRAGT, M.; BLEEKER, P. M. Endogenous Plant Metabolites against Insects. *European Journal of Plant Pathology*. 154(1):67–90, 2019. [10.1007/s10658-018-1540-6](https://doi.org/10.1007/s10658-018-1540-6).
- LOUGHRIN, J. H.; MANUKIAN, A.; HEATH, R. R.; TUMLINSON, J. H. Volatiles emitted by different cotton varieties damaged by feeding Beet armyworm Larvae. *Journal of Chemical Ecology*. 21(8):1217–1227, 1995. [10.1007/BF02228321](https://doi.org/10.1007/BF02228321).
- MARTINS, C. B. C.; ZARBIN, P. H. G. Volatile organic compounds of conspecific-damaged eucalyptus benthamii influence responses of mated females of *Thaumastocoris peregrinus*. *Journal of Chemical Ecology*. 39(5):602–611, 2013. [10.1007/s10886-013-0287-y](https://doi.org/10.1007/s10886-013-0287-y).
- MATSUI, R.; AMANO, N.; TAKAHASHI, K.; TAGUCHI, Y.; SABURI, W.; MORI, H.; KONDO, N.; MATSUDA, K.; MATSUURA, H. Elucidation of the biosynthetic pathway of cis-jasmone in *Lasiodiplodia theobromae*. *Scientific Reports*. 7(1):6688, 2017. [10.1038/s41598-017-05851-7](https://doi.org/10.1038/s41598-017-05851-7)
- MATTHES, M. C.; BRUCE, T. J. A.; TON, J.; VERRIER, P. J.; PICKETT, J. A.; NAPIER, J. A. The transcriptome of cis-jasmone-induced resistance in *Arabidopsis thaliana* and its role in indirect defence. *Planta*. 232(5):1163–1180, 2010. [10.1007/s00425-010-1244-4](https://doi.org/10.1007/s00425-010-1244-4).
- LOU, Y.; BALDWIN, I. T. Manduca sexta recognition and resistance among allopolyploid nicotiana host plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 100(Supplement 2):14581–14586, 2003. [10.1073/pnas.2135348100](https://doi.org/10.1073/pnas.2135348100).
- NÁVAROVÁ, H.; BERNSDORFF, F.; DÖRING, A.-C.; ZEIER, J. Pipecolic acid, an endogenous mediator of defense amplification and priming, is a critical regulator of inducible plant immunity. *The Plant Cell*. 24(12):5123–5141, 2012. [10.1105/tpc.112.103564](https://doi.org/10.1105/tpc.112.103564).
- NICOLA, M. V. Broca gigante da cana-de-açúcar, *Telchin licus licus* (Drury, 1773) na região Centro-Sul: Preocupação para os produtores. *Nucleus*. Ed (Esp):49–54, 2008. [10.3738/1982.2278.90](https://doi.org/10.3738/1982.2278.90).
- OLIVEIRA, C. M.; AUAD, A. M.; MENDES, S. M.; FRIZZAS, M. R. Crop losses and the economic impact of insect pests on Brazilian agriculture. *Crop Protection*. 56:50–54, 2014. [10.1016/j.cropro.2013.10.022](https://doi.org/10.1016/j.cropro.2013.10.022).
- PAUDEL, S.; LIN, P.-A.; FOOLAD, M. R.; ALI, J. G.; RAJOTTE, E. G.; FELTON, G. W. Induced plant defenses against herbivory in cultivated and wild tomato. *Journal of Chemical Ecology*. 45(8):693–707, 2019. [10.1007/s10886-019-01090-4](https://doi.org/10.1007/s10886-019-01090-4).
- PARE, P. W.; TUMLINSON, J. H. De novo biosynthesis of volatiles induced by insect herbivory in cotton plants. *Plant Physiology*. 114 (4):1161–1167, 1997. [10.1104/pp.114.4.1161](https://doi.org/10.1104/pp.114.4.1161).
- PAUDEL TIMILSENA, B.; SEIDL-ADAMS, I.; TUMLINSON, J. H. Herbivore-specific plant volatiles prime neighboring plants for nonspecific defense responses. *Plant, Cell & Environment*. 43(3):787–800, 2020. [10.1111/pce.13688](https://doi.org/10.1111/pce.13688).
- PENG, J.; VAN LOON, J. J. A.; ZHENG, S.; DICKE, M. Herbivore-induced volatiles of Cabbage (*Brassica oleracea*) prime defence responses in neighbouring intact plants. *Plant Biology*. 13(2):276–284, 2011. [10.1111/j.1438-8586.2010.00364.x](https://doi.org/10.1111/j.1438-8586.2010.00364.x).
- PICKETT, J. A.; KHAN, Z. R. Plant volatile-mediated signalling and its application in agriculture: Successes and challenges. *New Phytologist*. 212(4):856–870, 2016. [10.1111/nph.14274](https://doi.org/10.1111/nph.14274).
- RASMANN, S.; DE VOS, M.; CASTEEL, C. L.; TIAN, D.; HALITSCHKE, R.; SUN, J. Y.; AGRAWAL, A. A.; FELTON, G. W.; JANDER, G. Herbivory in the previous generation primes plants for enhanced insect resistance. *Plant Physiology*. 158 (2):854–863, 2012. [10.1104/pp.111.187831](https://doi.org/10.1104/pp.111.187831).
- RASHID, M. H.-O.; KHAN, A.; HOSSAIN, M. T.; CHUNG, Y. R. Induction of systemic resistance against aphids by endophytic bacillus velezensis YC7010 via expressing PHYTOALEXIN DEFICIENT4 in Arabidopsis. *Frontiers in Plant Science*. 8:211, 2017. [10.3389/fpls.2017.00211](https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00211).

- RISTICEVIC, S.; SOUZA-SILVA, E. A.; GIONFRIDDO, E.; DEELL, J. R.; COCHRAN, J.; HOPKINS, W. S.; PAWLISZYN, J. Application of *in vivo* solid phase microextraction (spme) in capturing metabolome of apple (*Malus domestica* Borkh.) fruit. Scientific Reports. 10(1):6724, 2020. [10.1038/s41598-020-63817-8](https://doi.org/10.1038/s41598-020-63817-8).
- RÖSE, U. S. R.; TUMLINSON, J. H. Systemic induction of volatile release in cotton: How specific is the signal to herbivory? *Planta*. 222(2):327–335, 2005. [10.1007/s00425-005-1528-2](https://doi.org/10.1007/s00425-005-1528-2).
- RÖSE, U. S. R.; TUMLINSON, J. H. Volatiles released from cotton plants in response to *Helicoverpa zea* feeding damage on cotton flower buds. *Planta*. 218(5):824–832, 2004. [10.1007/s00425-003-1162-9](https://doi.org/10.1007/s00425-003-1162-9).
- SHAO, Y.; GUO, M.; HE, X.; FAN, Q.; WANG, Z.; JIA, J.; GUO, J. Constitutive H₂O₂ is involved in sorghum defense against aphids. *Brazilian Journal of Botany*. 42(2):271–281, 2019. [10.1007/s40415-019-00525-2](https://doi.org/10.1007/s40415-019-00525-2).
- SMITH, L.; BECK, J. J. Effect of mechanical damage on emission of volatile organic compounds from plant leaves and implications for evaluation of host plant specificity of prospective biological control agents of weeds. *Biocontrol Science and Technology*. 23(8):880–907, 2013. [10.1080/09583157.2013.807908](https://doi.org/10.1080/09583157.2013.807908).
- SMITH, L.; BECK, J. J. Duration of emission of volatile organic compounds from mechanically damaged plant leaves. *Journal of Plant Physiology*. 188:19–28, 2015. [10.1016/j.jplph.2015.08.003](https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.08.003).
- STEWART-JONES, A.; POPPY, G. M. Comparison of glass vessels and plastic bags for enclosing living plant parts for headspace analysis. *Journal of Chemical Ecology*. 32(4):845–864, 2006. [10.1007/s10886-006-9039-6](https://doi.org/10.1007/s10886-006-9039-6).
- TAMIRU, A.; KHAN, Z. R.; BRUCE, T. J. New directions for improving crop resistance to insects by breeding for egg induced defence. *Current Opinion in Insect Science*. 9:51–55, 2015. [10.1016/j.cois.2015.02.011](https://doi.org/10.1016/j.cois.2015.02.011).
- TIKU, A. R. Antimicrobial compounds (Phytoanticipins and Phytoalexins) and their role in plant defense. In: MÉRILLON, J.M.; RAMAWAT, K. (eds) *Co-Evolution of Secondary Metabolites*. Springer, 2020, p 845–868.
- WAR, A. R.; PAULRAJ, M. G.; AHMAD, T.; BUHROO, A. A.; HUSSAIN, B.; IGNACIMUTHU, S.; SHARMA, H. C. Mechanisms of plant defense against insect herbivores. *Plant signaling & behavior*. 7(10):1306–132, 2012. [10.4161/psb.21663](https://doi.org/10.4161/psb.21663).
- WESTMAN, S. M.; KLOTH, K. J.; HANSON, J.; OHLSSON, A. B.; ALBRECHTSEN, B. R. Defence priming in arabidopsis – a meta-analysis. *Scientific Reports*. 9(1):13309, 2019. [10.1038/s41598-019-49811-9](https://doi.org/10.1038/s41598-019-49811-9).
- YANG, F.; ZHANG, Q.; YAO, Q.; CHEN, G.; TONG, H.; ZHANG, J.; LI, C.; SU, Q.; ZHANG, Y. Direct and indirect plant defenses induced by (Z)-3-hexenol in tomato against whitefly attack. *Journal of Pest Science*. 93(4):1243–1254, 2020. [10.1007/s10340-020-01234-6](https://doi.org/10.1007/s10340-020-01234-6).