**VOLÁTEIS DE TRICOMAS GLANDULARES DE *Cordia*
curassavica (Jacq.) R. & S. (BORAGINACEAE) COMO
ATRAENTES DE *Cratosomus flavofasciatus* Guérin, 1844
(COL., CURCULIONIDAE).**

JOSÉ MAURÍCIO SIMÕES BENTO

Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. **JOSÉ ROBERTO POSTALI PARRA**

Tese apresentada à Escola Superior de
Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade
de São Paulo, para obtenção do título de
Doutor em Ciências, Área de Concentração:
Entomologia.

PIRACICABA

Estado de São Paulo –Brasil

Junho –2001

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO – Campus “Luiz de Queiroz”/USP

Bento, José Maurício Simões

Voláteis de tricomas glandulares de *Cordia curassavica* (Jacq.) R. & S. (Boraginaceae) como atraentes de *Cratosomus flavofasciatus* Guérin, 1844 (Col., Curculionidae) / José Maurício Simões Bento. Piracicaba, 2001. 85 p.

Tese (doutorado) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2001. Bibliografia.

1. Atrativo 2. Broca dos citros 3. Coleoptero 4. Inseto fitófago 5. Maria preta 6. Relação planta inseto 7. Transpiração vegetal 8. Terpeno 9. Tricoma glandular I. Título

CDD 632.78

A Deus,
por sua bondade infinita,
Agradeço

À Monalisa Sampaio Carneiro,
por nosso amor e carinho
Dedico

Aos meus avós, Henrique e Ercília,
meus exemplos de vida e humildade,
aos meus pais, Zélia e Braz,
por tudo que fizeram por mim
e aos meus irmãos
Brás Henrique, André Luís, e Denise,
pelo amor que nos une,

Ofereço

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. José Roberto Postali Parra, professor titular do Departamento de Entomologia Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ/USP, pela orientação e liberdade para inovar, por acreditar, confiar, retribuir, e não faltar em nenhum momento, mesmo nos mais difíceis, e por seu dom nobre de transmitir a ciência com tanta dedicação;

À Dra. Terezinha Maria Castro Della Lucia, professora titular do Departamento de Biologia Animal, da Universidade Federal de Viçosa, por ter me revelado os caminhos da pesquisa e do estudo do comportamento dos insetos, desde a iniciação científica, e acima de tudo por ter me ensinado o valor da amizade;

Ao pesquisador Antônio Souza do Nascimento, da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária/Embrapa, Centro Nacional de Mandioca e Fruticultura/CNPMPF, por compartilhar sua sala comigo durante quatro adoráveis anos, de forma tão amigável, e por me ajudar nos primeiros passos com a “maria-preta”, fonte desta pesquisa;

À Dra. Beatriz Appezato da Glória, professora do Departamento de Ciências Biológicas, ESALQ/USP, por ceder seu laboratório e pelos ensinamentos sobre a morfologia e histoquímica de plantas, que me foram fundamentais nesta pesquisa, minha gratidão por tanta gentileza e atenção;

Ao Dr. Paul W. Paré, professor do Departamento de Química, Texas Tech University, em Lubbock-TX, EUA, por me receber em sua residência e por

ter identificado os compostos químicos relacionados a esta pesquisa, e por sua amizade;

Ao Dr. Gilberto José De Moraes, professor do Departamento de Entomologia Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ/USP, pela ajuda inestimável com seus comentários sobre este e outros trabalhos, pela atenção e amizade;

À Rômulo Carvalho, Marcelo Mendonça e Amado Neto, pelo inestimável auxílio na coleta de dados de campo e laboratório, Valdíque Medida pela medidas de transpiração da planta, Adriana Hayashi e Marli Soares pelo auxílio na morfologia e histoquímica da planta;

Ao Dr. Elliot W. Kitajima, e a técnica Silvânia, do Núcleo de Apoio a Pesquisa – Microscopia Eletrônica Aplicada à Agronomia (NAP-MEPA), da ESALQ/USP por ceder e auxiliar no uso da microscopia eletrônica;

Ao Dr. Sérgio A. Vanin, do Museu de Zoologia, da Universidade de São Paulo/USP, por gentilmente confirmar a espécie deste estudo;

Aos professores do Departamento de Entomologia Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ/USP, que, com grande profissionalismo me transmitiram seus conhecimentos, e pela amizade;

Ao Dr. Walter Soares Leal, professor da Universidade da Califórnia Davis, EUA, pelos conselhos, amizade e fonte de consulta permanente em meus trabalhos;

Ao Dr. Evaldo Ferreira Vilela, reitor da Universidade Federal de Viçosa, pela amizade e cooperação;

À Dra. Consuelo De Moraes, professora da Universidade da Pennsylvania, EUA, pela disposição e sugestões nos trabalhos;

A todos os amigos freqüentadores do Laboratório de Biologia dos Insetos: Neide, Peter, Negri, Dori, Rosa, Jerson, Sandra, Susana, Adriana, Eduardo, Patrícia, Crébio, Marcone, Mauro, Odair, Paulinho, Ademir, Denise, Amanda, Cristina, Milanez e Thiago por formamos um grupo unido em prol da pesquisa;

À dupla Danilo e Diogo, pelas horas de estrada, amizade e disposição em colaborar sempre;

À família Parra, Lúcia, Raquel e Ana Lia, pela amizade;

Aos colegas Alexandre e Ronaldo, pelo suporte nos assuntos de informática;

Ao meu cunhado Malu, minhas cunhadas Naara e Patrícia, meus sobrinhos e aos meus tios, especialmente Álvaro (*in memorian*) por torcerem tanto por mim;

Aos funcionários do Departamento, especialmente Ana Gabriela, João Forti e Regina Moraes, e às bibliotecárias Eliana Garcia e Cristina Cipriano pela colaboração;

A todos os colegas de curso, do setor de Entomologia da ESALQ/USP, pelo convívio e amizade;

A todos que me querem bem, e aos produtores, especialmente aqueles mais sofridos, pelos quais aprendi a admirar e a respeitar sobre todas as outras coisas, para modestamente poder ajudá-los;

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos durante a realização do Curso de Pós-Graduação.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	x
RESUMO.....	xii
SUMMARY.....	xiv
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Tricomas.....	3
2.1.1 História do conhecimento sobre tricomas.....	3
2.1.2 Classificação.....	4
2.1.2.1 Tricomas não-glandulares.....	4
2.1.2.2 Tricomas glandulares.....	5
2.1.3 Funções dos tricomas.....	6
2.1.3.1 Proteção.....	7
2.1.3.1.1 Herbívoros (incluindo insetos) e patógenos.....	7
2.1.3.1.2 Condições abióticas adversas.....	8
2.1.3.2 Absorção de água.....	9
2.1.3.3 Secreção de sais.....	10
2.1.3.4 Tricomas “chamativos”.....	10
2.1.4 Considerações econômicas.....	10
2.2 <i>Cordia</i> L. (Boraginaceae).....	11
2.2.1 <i>Cordia curassavica</i> (Jacq.) R. & S. (Boraginaceae).....	13

2.3 <i>Cratosomous flavofasciatus</i> Guérin, 1844 (Coleoptera: Curculionidae)...	15
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3.1 Insetos atraídos pela planta em campo.....	18
3.1.1 Freqüência de espécies de coleópteros atraídos.....	18
3.3 Ensaios comportamentais, fisiológicos, morfológicos, histoquímicos e químicos envolvidos na interação inseto x planta.....	20
3.2.1 Horário de atração de <i>C. flavofasciatus</i> no campo.....	20
3.2.2 Transpiração da planta.....	20
3.2.3 Morfologia e histoquímica de folhas e ramos.....	21
3.2.4 Obtenção de extratos naturais dos tricomas glandulares de folhas e ramos de <i>C. curassavica</i>	21
3.2.5 Ensaios de comportamento no laboratório.....	22
3.2.6 Eletroantenografia.....	24
3.2.7 Identificação dos compostos voláteis nos tricomas glandulares	24
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
4.1 Insetos atraídos pela planta em campo.....	26
4.1.1 Freqüência de espécies de coleópteros atraídos.....	26
4.2 Ensaios comportamentais, fisiológicos, morfológicos, histoquímicos e químicos envolvidos na interação inseto x planta.....	31
4.2.1 Horário de atração de <i>C. flavofasciatus</i> no campo <i>versus</i> a transpiração da planta.....	31
4.2.2 Morfologia e histoquímica em folhas e ramos.....	32
4.2.2.1 Presença de tricomas e sua morfologia.....	32
4.2.2.2 Número de tricomas sobre folhas e ramos de diferentes idades na planta.....	35
4.2.2.3 Desenvolvimento individual do tricoma glandular e sua ação sobre a planta.....	37
4.2.2.4 Visualização e testes histoquímicos do exsudato do tricoma glandular.....	41

4.2.3	Ensaio de comportamento no laboratório.....	45
4.2.4	Eletroantenografia.....	49
4.2.5	Identificação dos compostos voláteis nos tricomas glandulares	51
5	CONCLUSÕES.....	57
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59

LISTA DE FIGURAS

	Página
1 Distribuição de <i>C. curassavica</i> no Brasil.....	15
2 <i>C. flavofasciatus</i> . (A) Adulto; (B) larva dentro de uma galeria no ramo; (C) dano ocasionado pela galeria no tronco de citros; (D) sintoma típico de ataque, caracterizado pela presença da “serragem” na base da planta de citros.....	17
3 Planta de <i>C. curassavica</i> (A), utilizada nos experimentos de atratividade de coleópteros. Detalhe do fruto (B) e inflorescência (C) da espécie.....	19
4 Modelo de olfatômetro utilizado nos bioensaios de atração de <i>C. flavofasciatus</i> pela planta de <i>C. curassavica</i> . Caixas contendo o grupo de insetos (A), o tratamento (B) e o controle (testemunha) (C). Setas vermelhas indicam o sentido do ar (por sucção) e setas amarelas indicam o sentido de caminhamento dos insetos em direção à fonte de odor (B ou C).....	23
5 Coleópteros mais abundantes sobre <i>C. curassavica</i> em Cruz das Almas, BA. <i>T. succintus</i> (Cerambycidae) (A); <i>C. zonatus</i> (Elateridae) (B); <i>P. punctatissima</i> (Chrysomelidae) (C); e <i>C. flavofasciatus</i> (D).....	29
6 Flutuação populacional de quatro espécies de coleópteros mais freqüentes em <i>C. curassavica</i> (A). Temperatura e umidade relativa média (B) e precipitações (C) entre julho de 1997 a junho de 1998...	30

7	Porcentagem de adultos de <i>C. flavofasciatus</i> coletados de 40 plantas de <i>C. curassavica</i> em cada hora em relação ao número total coletado diariamente (barras) e a taxa de transpiração média de <i>C. curassavica</i> no mesmo período (linhas pontilhadas)(n = 36 observações). Ambos os fatores foram determinados durante três dias consecutivos. Asteriscos indicam diferenças significativas na proporção de insetos coletados (teste de Tukey, $P < 0,05$).....	32
8	Microscopia eletrônica de varredura da face abaxial (A) e adaxial da folha de <i>C. curassavica</i> (B)(x100); tricoma glandular globular (x1500) (C) e glandular reniforme (x900) (C); tricoma unicelular unisseriado (x50) (E) e unicelular silicificado (x700) (F). Seta indica o tricoma unicelular unisseriado.....	34
9	Microscopia eletrônica de varredura da face abaxial (A-B-C) e adaxial (C-D-E) da folha de <i>C. curassavica</i> (x200), demonstrando a redução na densidade de tricomas com a idade da folha (primórdio foliar → , folha nova → folha madura).....	37
10	Microscopia eletrônica de varredura (SEM), da ontogênese do tricoma glandular globular em <i>C. curassavica</i> . (A) Tricoma maduro (x1500); (B) apresentando uma linha de abscisão (x1500); (C-D) diferentes aberturas (x1500) e (x2000); (E) senescência (x1500); (F) vista ampliada com diversos tricomas globulares expostos (x500). Seta indica a linha de ruptura no plano horizontal da cabeça da glândula globular.....	40
11	Microscopia óptica do exsudato do tricoma glandular globular. (A) Ao natural (x40); (B) com reação positiva para terpenóides devido ao Sudan IV (em vermelho) (x40).....	43

- 12 Microscopia óptica mostrando diferentes volumes de exsudação do tricoma glandular globular com o uso do reagente Sudan IV, para terpenóides (coloração avermelhada). (A-B-C-D)(x40); (E)(x 100).
Setas indicam a presença do exsudato..... 45
- 13 Resposta, em olfatômetro, de adultos de *C. flavofasciatus* a diferentes partes ou extrato natural dos tricomas glandulares de *C. curassavica*. (A) adultos sendo atraídos simultaneamente para uma das caixas; (B) para a caixa contendo folhas; (C) na caixa com os ramos; e (D) na caixa com o septo de borracha contendo extrato natural dos tricomas glandulares obtido das folhas. Asteriscos indicam diferenças significativas na porcentagem de resposta dos insetos (teste de Tukey, $P<0,05$)..... 47
- 14 Resposta, em olfatômetro, de adultos de *C. flavofasciatus* a diferentes partes ou extrato natural dos tricomas glandulares de *C. curassavica* em olfatômetro. (A) adultos sendo atraídos simultaneamente para uma das caixas; (B) para a caixa contendo folhas; (C) na caixa com os ramos; e (D) na caixa com o septo de borracha contendo extrato natural dos tricomas glandulares obtido das folhas..... 48
- 15 Detalhe da resposta de adultos de *C. flavofasciatus* ao extrato natural dos tricomas glandulares obtido das folhas de *C. curassavica*. (A) Um adulto sobre o septo de borracha; e (B) um aglomerado de adultos disputando o septo de borracha..... 49
- 16 Eletroantenografia de machos e fêmeas de *C. flavofasciatus* aos extratos naturais do tricoma glandular de folhas e ramos de *C. curassavica*. Asteriscos indicam diferenças significativas na porcentagem de resposta dos machos e fêmeas (teste de Tukey, $P<0,05$)..... 50

- 17 Perfil cromatográfico dos compostos químicos dos tricomas glandulares de *C. curassavica*. Números no gráfico representam os seguintes compostos: 1, α -pinene; 2, (Z)- β -hexenyl-acetate; 3, β -phellandrene; 4, indene; 5, (Z)- β -hexenyl-butyrate; 6, (E)- β -caryophyllene; 7, (E)- β -farnesene. Padrão Interno (PI, nonyl acetate). Asteriscos indicam compostos que alinham com o pico numerado no correspondente cromatograma.....

LISTA DE TABELAS

	Página
1 Número médio dos diferentes tipos de tricomas por mm ² , encontrados no limbo foliar e nos ramos de <i>C. curassavica</i>	36
2 Reação dos tricomas glandulares com diferentes testes histoquímicos em folhas e ramos de <i>C. curassavica</i>	44
3 Perfil cromatográfico dos compostos químicos dos tricomas glandulares de <i>C. curassavica</i> . Números no gráfico representam os seguintes compostos: 1, α -pinene; 2, (Z)- β -hexenyl-acetate; 3, β -phellandrene; 4, indene; 5, (Z)- β -hexenyl-butyrate; 6, (E)- β -caryophyllene; 7, (E)- β -farnesene. Padrão Interno (PI, nonyl acetate). Asteriscos indicam compostos que alinham com o pico numerado no correspondente cromatograma.....	53

VOLÁTEIS DE TRICOMAS GLANDULARES DE *Cordia curassavica* (Jacq.) R. & S. (BORAGINACEAE) COMO ATRAENTES DE *Cratosomus flavofasciatus* Guérin, 1844 (COL., CURCULIONIDAE).

Autor: JOSÉ MAURÍCIO SIMÕES BENTO

Orientador: Prof. Dr. JOSÉ ROBERTO POSTALI PARRA

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi investigar a origem da atração de *Cordia curassavica* (Jacq.) R. & S. (1819) (Boraginaceae), para a coleobroca *Cratosomus flavofasciatus* Guérin, 1844. Tricomas glandulares em plantas de diferentes famílias produzem exsudados que podem atuar como a primeira forma de defesa das plantas contra o ataque de insetos, e em alguns casos, contra a insolação excessiva. Observações de campo indicaram uma correlação positiva significativa entre as capturas de *C. flavofasciatus*, uma séria praga em citros no nordeste do Brasil, e os níveis de transpiração de *C. curassavica*, uma planta comum em plantios de citros, no Estado da Bahia. Tem sido postulado por alguns autores, que os exsudatos dos tricomas podem afetar a transpiração das plantas por influenciar a difusão de água na superfície das

folhas. O exame em microscopia de varredura demonstrou que até 800 tricomas glandulares estão presentes por mm² em primórdios foliares de *C. curassavica*. Como os tricomas glandulares produzem e liberam um exsudado que pode atuar na proteção contra a insolação excessiva em plantas, a resposta de *C. flavofasciatus*, aos compostos químicos produzidos por estes tricomas foi testada em condições de laboratório e campo. Ensaio em olfatômetro indicaram a atração de *C. flavofasciatus* para as diferentes partes da planta e aos extratos em hexano obtidos de seus tricomas glandulares. Respostas positivas foram também obtidas com os mesmos extratos naturais dos tricomas glandulares em eletroantenografia (EAG). Cromatografia gasosa (GC) do extrato natural dos tricomas glandulares de *C. curassavica* demonstrou a respectiva concentração e identificação dos sete principais compostos, todos terpenóides. Esta pesquisa suporta a hipótese de que insetos herbívoros podem detectar e serem atraídos por voláteis liberados pelos tricomas glandulares, estruturas estas, supostamente utilizadas na defesa de plantas contra o ataque de insetos e a insolação excessiva. Caracterização do desenvolvimento do tricoma glandular de *C. curassavica*, incluindo a precisa fase de secreção foi também investigada.

**VOLATILES from GLANDULAR TRICHOMES of *CORDIA*
CURASSAVICA (JACQ.) R. & S. (BORAGINACEAE) can attract
CRATOSOMUS FLAVOFASCIATUS GUÉRIN, 1844
(COL., CURCULIONIDAE).**

Author: JOSÉ MAURÍCIO SIMÕES BENTO

Adviser: Prof. Dr. JOSÉ ROBERTO POSTALI PARRA

SUMMARY

The goal of this research was to obtain the source of attraction of *Cordia curassavica* (Jacq.) R. & S. (Boraginaceae), to stem borer *Cratosomus flavofasciatus* Guérin, 1844 (Coleoptera: Curculionidae). Glandular trichomes of plants of different families produce exudates that may act as first line of defense against pest injury and, in some cases, as insulation protectants. Field observations in the State of Bahia, northeastern Brazil, indicated a significant positive correlation between catches of *Cratosomus flavofasciatus* Guérin (Coleoptera: Curculionidae) and transpiration levels of *Cordia curassavica* (Jacq.) R. & S. (Boraginaceae), a weed commonly found in citrus groves. It has been postulated that exudates of trichomes may affect transpiration by influencing the water diffusion boundary layer of the transpiration surface. Scanning microscopy examination showed that up to 800 glandular trichomes

are present per mm² of young leaves of *C. curassavica*. Such trichomes produce and release an exudate that might act primarily as a plant insulator of this plant. The response of *C. flavofasciatus* to chemicals produced by those trichomes was tested under laboratory and field conditions. The borer *C. flavofasciatus* is a serious citrus pest in northeastern Brazil. Olfactometer assays indicated the attraction of *C. flavofasciatus* to different plant parts and to hexane extracts obtained from the glandular trichomes. Positive response was also obtained with the same hexane extracts from the glandular trichomes in the electroantennogram (EAG). Gas chromatography demonstrated the identity and the respective concentration of seven chemical compounds of *C. curassavica* leaf trichomes, all terpenoids. The work reported here supports the hypothesis that herbivorous insects may evolve abilities to detect and to be attracted to volatiles released by plants for defense against other phytophagous species or for insulation purposes. Characterization of the development of glandular trichomes of *C. curassavica*, including the precise secretion phase was also conducted.

1 INTRODUÇÃO

Tricomas glandulares são modificações epidérmicas presentes em cerca de 20 a 30% das espécies de plantas conhecidas (Dell & McComb, 1978; Kelsey et al., 1984; Fahn, 1988; Wagner, 1991). Estas estruturas secretam e acumulam uma ampla diversidade de compostos químicos de baixo peso molecular, incluindo monoterpenos e sesquiterpenos, que têm sido reconhecidos na defesa de plantas contra o ataque de insetos herbívoros (Fahn, 1979; Kelsey et al., 1984; Wagner, 1991; McCaskill & Croteau, 1999; Werker, 2000). Muito destes compostos, são referidos como inseticidas, repelentes, modificadores de comportamento e deterrentes de alimentação em insetos (Levin, 1973; Stipanovic, 1983; Kelsey et al., 1984; Duffey, 1986; Harborne, 1991). Outras funções, no entanto, têm sido também atribuídas aos tricomas glandulares. Por exemplo, em resposta a condições climáticas adversas, como altas temperaturas ou deficiência de água, muitas plantas possuem tricomas glandulares. A exsudação destas estruturas (como terpenos), formaria uma camada protetora contínua sobre a superfície da epiderme (Dell & McComb, 1978; Lin & Wagner, 1994), regulando a transpiração e a temperatura foliar (Hall et al., 1976; Smith & Nobel, 1977; Fahn, 1986). Isto tornaria algumas espécies de plantas mais tolerantes em relação ao clima inóspito de algumas regiões e as ajudaria a se manterem túrgidas durante todo o ano (Schuepp, 1993). Hoje, entretanto, acredita-se que os tricomas glandulares possam exercer outras múltiplas funções (Gershenzon, 1994; Woodman & Fernandes, 1991; Hallahan, 2000), e que as implicações

ecológicas e fisiológicas destas funções e suas interações ainda têm sido pouco exploradas (Kelsey et al., 1984; Wagner, 1991; Schuepp, 1993; Duke, 1994; Gutschick, 1999; Hallahan, 2000; Press, 1999; Werker, 2000).

De um modo geral, insetos herbívoros fazem uso de voláteis químicos (infoquímicos) de plantas para selecionar e localizar seus hospedeiros (Visser, 1986; Bernays & Chapman, 1994; Harrewijn et al., 1995). Neste contexto, as adaptações morfológicas das plantas, têm um significado adaptativo importante e são dependentes das pressões do meio ambiente em que se encontram (Parkhurst & Loucks, 1972; Smith & Geller, 1980; Ashton & Berlyn, 1992; Schuepp, 1993; Press, 1999).

Nesta pesquisa, estudou-se a origem da atração exercida pela planta *Cordia curassavica* (Jacq.) R. & S. (Boraginaceae), ao coleóptero *Cratosomus flavofasciatus* Guérin, 1844 (Coleoptera: Curculionidae), com base em evidências fisiológicas, comportamentais e químicas presentes nesta interação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Tricomas

O termo “tricoma” é aplicado para todas as estruturas que se desenvolvem do lado externo da epiderme. Em plantas, este termo é restrito às estruturas unicelulares e multicelulares provenientes da epiderme, incluindo aquelas presentes em folhas, ramos e raízes. Assim, embora este termo seja comumente utilizado para referir-se aos “pêlos” ou “pilosidade”, se aplica também a outras estruturas mais elaboradas, como as glândulas (tricomas glandulares), que acumulam uma grande diversidade de fitoquímicos.

2.1.1 História do conhecimento sobre os tricomas

Os primeiros a se preocuparem com tricomas foram Hooke (1665), Grew (1682) e Malpighi (1686; citado por Behnke, 1984), desde o início do desenvolvimento do microscópio, no século dezessete. Durante os séculos seguintes, e especialmente no século XX, o interesse se expandiu, indo da fascinação inicial com a diversidade morfológica, para estudos envolvendo sua ultraestrutura, bioquímica, diferenciação e desenvolvimento e suas funções fisiológicas e ecológicas. Uphof (1962), atualizou o trabalho de Netolitzky's dos 30 pioneiros anos (*Encyclopedia of Plant Anatomy: Plant Hairs*), e providenciou uma nova revisão dos estudos envolvendo os tricomas até aquela data. Cerca de 20 anos mais tarde, foi editado o livro “Biology and

Chemistry of Plant Trichomes” por Rodriguez et al. (1984), originado de um simpósio sobre os tricomas realizado em julho de 1980, em Vancouver no Canadá. Desde então, importantes avanços no entendimento dos tricomas relacionados ao desenvolvimento, bioquímica e aos significados ecológicos foram realizados. Hallahan & Gray (2000), apresentam no livro “Plant Trichomes” parte destes avanços até a presente data.

2.1.2 Classificação

Devido à enorme diversidade de tricomas quanto à morfologia, origem, tamanho, número de células, localização, função, capacidade e modo de secreção, etc., nenhum método de classificação é totalmente satisfatório (Behnke, 1984; Werker, 2000). Diferentes métodos de classificação foram resumidos por Uphof (1962), que concluiu que a classificação é sempre subjetiva. Outras tentativas de classificação podem também ser encontradas em Dickison (1974), e Payne (1978).

Tricomas geralmente podem ser divididos em dois grupos (tipos): “não-glandulares” e “glandulares”. Tricomas não-glandulares são tipicamente “pêlos” simples encontrados na epiderme, enquanto os tricomas glandulares, apresentam grande diversidade morfológica, e são reconhecidos pelo exsudato que secretam, acumulam ou absorvem. Portanto, morfologia e função são normalmente as características mais empregadas na classificação dos tricomas.

2.1.2.1 Tricomas não-glandulares

De acordo com Werker (2000), os tricomas não-glandulares são variáveis quanto à morfologia, anatomia e microestrutura, embora basicamente

sejam classificados de acordo com sua morfologia. Eles podem ser unicelulares ou multicelulares, com ramificações ou não, para ambos os casos. Tricomas multicelulares não ramificados podem ser unisseriados, bisseriados ou multisseriados. Eles podem ainda diferir no comprimento, tamanho e no formato da célula, podendo ser simétricos ou assimétricos, uniformes entre si ou não. Tricomas multicelulares ramificados podem ter uma ramificação unicelular ou multicelular, de vários comprimentos, uniformes ou não, em plano vertical ou horizontal, alternado, oposto, ou ainda com a aparência de um “aglomerado”. Frequentemente, mais de um tricoma não-glandular pode estar presente sobre as folhas, por exemplo, e algumas vezes em diferentes órgãos. As razões para este arranjo em muitas plantas, ainda são pouco conhecidas.

2.1.2.2 Tricomas glandulares

O termo “tricoma glandular” refere-se a uma grande diversidade de glândulas (Werker, 2000). Estas glândulas variam de diferentes modos: na composição química das substâncias que secretam, acumulam ou absorvem, no seu modo de produção, estrutura, localização (glândulas similares, mas em diferentes órgãos reprodutivos ou vegetativos da planta), e de acordo com todos os fatores acima, na sua função. Todas estas diferenças servem para um mesmo nível, e frequentemente em níveis superiores de classificação.

Os tricomas glandulares, assim como os não-glandulares, podem ser unicelulares e multicelulares, unisseriados e multisseriados, sendo extremamente diversos na sua forma. Em tricoma glandular unicelular, uma distinção morfológica pode ser observada entre a parte apical e basal do tricoma, mas muitas vezes a distinção pode ser somente ultraestrutural. Em tricoma multicelular unisseriado, existe geralmente uma diferenciação entre as diferentes células ao longo do tricoma, e em multisseriado algumas vezes pode ser também dentro do tricoma.

A morfologia típica de um tricoma multicelular é caracterizada por apresentar: –uma cabeça secretora com uma ou muitas células, um pedúnculo de uma ou mais células, uma base de uma ou poucas células, e algumas vezes um estreitamento de células entre a cabeça secretora e o pedúnculo, diferenciando-as morfológicamente. Entretanto, existem muitas variações para esta estrutura básica (Werker, 2000).

Muito freqüentemente, espécies de plantas possuem tricomas glandulares e não-glandulares. Mais de um tipo, dentro destes dois grupos, também pode estar presente num mesmo órgão. Neste caso, podem ainda ter funções diferentes. No caso de se tratarem de diferentes espécies de plantas, um mesmo tipo de tricoma pode também diferir na sua estrutura e nas substâncias secretadas.

2.1.3 Funções do tricomas

As funções dos tricomas glandulares e não-glandulares em plantas são muitas vezes meras suposições e em boa parte são desconhecidas (Uphof, 1962; Kelsey et al., 1984; Wagner, 1991; Werker, 2000). As funções dos tricomas não-glandulares dependem de sua morfologia, rigidez, o órgão onde está localizado, sua direção ou orientação. Nos tricomas glandulares, de acordo com sua localização, as substâncias que produzem e o período de atividade, podem servir para diferentes funções. Estruturalmente, tricomas glandulares similares podem produzir diferentes exsudatos, mas quando exsudatos semelhantes são produzidos em tricomas glandulares em diferentes locais, eles podem ter funções diferentes. Neste caso, por exemplo, um exsudato de um tricoma glandular numa semente pode diferir consideravelmente daquele existente nas folhas. Diferentes tipos de tricomas glandulares sobre um determinado órgão da planta podem ainda diferir no período em que são ativos, dependendo do estágio de desenvolvimento do órgão (Werker, 1993).

Algumas das funções sugeridas para os tricomas por diferentes autores são apresentadas a seguir.

2.1.3.1 Proteção

2.1.3.1.1 Herbívoros (incluindo insetos) e patógenos.

Dentre as funções descritas para os tricomas nas plantas, a defesa contra o ataque de insetos herbívoros e patógenos tem sido a mais citada na literatura. Especialmente os tricomas glandulares, são referidos como tendo ação inseticida, repelente, modificadores de comportamento e deterrentes alimentares (Duffey, 1986; Harborne, 1991; Kelsey et al., 1984; Levin, 1973; Stipanovic, 1983). Uma infinidade de trabalhos tem demonstrado, ao longo dos anos, que estas estruturas podem exercer algum tipo de efeito deletério sobre insetos e patógenos (Levin, 1973; Jackai & Oghiakhe, 1989; Barker, 1990; Baur et al., 1991; Soetens et al., 1991; Flanders et al., 1992; Wright & Giliomee, 1992; Goertzen & Small, 1993; Binder, 1994; Matsuki & MacLean, 1994; Fernandes & Bicalho, 1995; Mayee & Suryawanshi, 1995; Small, 1996; Tuberville et al., 1996; Coetzee et al., 1997; Hill et al., 1997; Georgieva, 1998; Gershenzon et al., 2000; Khan et al., 2000). Entretanto, se por um lado, o efeito destas estruturas e seus compostos no comportamento de insetos, têm sido bem documentados, para os demais trabalhos, poucas evidências concretas na redução da herbivoria destes insetos têm sido demonstradas (Bernays & Chapman, 1994; Harrewijn et al., 1995). A resposta para um composto químico em particular pode ser dependente da espécie de inseto testada, pois, por exemplo, compostos que atraem um polinizador ou atuam como estimulantes para alimentação ou oviposição para uma espécie especialista, podem ser repelentes para uma espécie generalista (Hallahan, 2000). As interações de plantas e insetos mediadas por compostos químicos são complexas, e podem

envolver múltiplos níveis tróficos. Alguns efeitos podem ser resultado direto da co-evolução entre as plantas e insetos. Adicionalmente, as adaptações morfológicas das plantas, têm ainda um significado adaptativo importante e são dependentes do meio ambiente em que elas se encontram (Parkhurst & Loucks, 1972; Smith & Geller, 1980; Ashton & Berlyn, 1992; Schuepp, 1993; Press, 1999).

Em razão desta complexidade, e da dificuldade para designar uma função para um composto químico em particular, produzido e acumulado pela planta, tem sido sugerido que estas estruturas e seus compostos químicos têm múltiplas funções (Woodman & Fernandes, 1991; Gershenzon, 1994; Hallahan, 2000), e que as implicações ecológicas e fisiológicas destas interações, necessitam ser melhor compreendidas (Kelsey et al., 1984; Wagner, 1991; Schuepp, 1993; Duke, 1994; Gutschick, 1999; Press, 1999; Hallahan, 2000; Werker, 2000).

2.1.3.1.2 Condições abióticas adversas

Dentre os fatores abióticos relatados na literatura, pelos quais os tricomas podem conferir uma proteção às plantas enquadram-se: (1) luz intensa (radiação) e temperaturas extremas (Lee et al., 1986; Karabourniotis et al., 1992; Karabourniotis et al., 1993; Skaltsa et al., 1994; Karabourniotis et al., 1995; Barnes et al., 1996; Huang et al., 1996; Karabourniotis & Fasseas, 1996; Ntefidou & Manetas, 1996; Liakoura et al., 1997; Karabourniotis & Bornman, 1999; Liakoura et al., 1999; Maffei et al., 1999; Maffei & Scannerini, 2000; Perez-Estrada et al., 2000; Rajagopal et al., 2000); (2) excessiva perda de água (Rensburg et al., 1999; Yang et al., 1999; Bredenkamp & Van Wyk, 2000).

As condições ambientais mais críticas para as plantas ocorrem na presença de um baixo nível de água disponível na face da folha onde existe uma alta transpiração, e de uma alta temperatura foliar devido as altos nível de

insolação excessiva (Dell & McComb, 1978). Nestas condições, a planta necessita economizar água e suportar altas temperaturas. Neste sentido, os tricomas (não-glandulares e glandulares) podem exercer papel importante na proteção de certas plantas, pois tem sido reconhecido que a temperatura foliar pode ser reduzida, pela ação destas estruturas (Esau, 1965; Ehleringer et al., 1976; Fahn, 1979). Os tricomas podem alterar a absorbância da radiação solar ao nível da epiderme (Nobel, 1974), e reduzir a temperatura foliar (Dell & McComb, 1978), e desse modo reduzir a taxa de transpiração (Hall et al., 1976; Smith & Nobel, 1977). Outra possibilidade seria que os exsudatos dos tricomas glandulares simplesmente reduziram a perda de água por suas propriedades hidrofóbicas e pela formação de uma película protetora sobre a epiderme (Dell & McComb, 1978; Fahn, 1986), reduzindo também a penetração de raios UV-A e UV-B (Karabourniotis et al., 1995; Karabourniotis & Bornman, 1999; Maffei et al., 1999; Maffei & Scannerini, 2000).

2.1.3.2 Absorção de água

Pêlos (tricomas) de raízes absorvem ativamente água e minerais do solo. São geralmente de vida curta, unicelulares, não ramificados, estreitos e muito alongados, embora haja diferentes formas (Uphof, 1962). Entretanto, em poucas espécies, parte das raízes atuam como células secretoras (Head, 1964; Kislev et al., 1978).

Plantas que não tem contacto com o solo (epifíticas) ou vivem em ambientes xerófitos podem também absorver água pelos tricomas presente nas folhas. Neste caso, em algumas espécies, o pedúnculo absorve e conduz a água do orvalho e neblina pelo pedúnculo para as células da base (Uphof, 1962; Grammatikopoulos & Manetas, 1994; Werker, 2000).

2.1.3.3 Secreção de sais

A secreção salina de tricomas glandulares é realizada por células que ativamente secretam uma solução de diferentes minerais. Tricomas glandulares de sais podem diferir na morfologia, no sal que secretam e na maneira de secreção (Fahn, 1988; Fahn, 2000; Werker, 2000). Alguns trabalhos tratam especificamente destes tricomas, sua morfologia, o processo de secreção e os efeitos sobre a planta (Balakrishna, 1995; Shen & Shen, 1997; Yan & Yan, 1997; MacFarlane & Burchett, 1999; Hall et al., 2000).

2.1.3.4 Tricomas “chamativos”

Tricomas secretores característicos de certos nectários para a atração de insetos polinizadores e alguns benéficos (Davis et al., 1988; Zellnig et al., 1991; Thomas & Vishwakarma, 1992; Wunnachit et al., 1992; Sharangpani & Shirke, 1996; Rudall et al., 1999). No caso de plantas carnívoras têm a função de atrair insetos diversos (Fahn, 1979; Owen & Thomson, 1991; Wunnachit et al., 1992; Takabayashi & Dicke, 1996).

2.1.4 Considerações econômicas

Tecidos glandulares (incluindo tricomas glandulares) produzem uma ampla diversidade de compostos químicos de interesse comercial, muitos dos quais terpenóides. Os terpenóides constituem o maior grupo de substâncias orgânicas do reino vegetal, e exercem múltiplas funções fisiológicas e ecológicas nas plantas superiores (Connolly & Hill, 1991; Gershenzon, 1994; McGarvey & Croteau, 1995). Mais de 22.000 compostos deste grupo já foram

descritos (Connolly & Hill, 1991), e este número tem dobrado a cada década desde 1970 (McGarvey & Croteau, 1995).

Terpenóides derivados de plantas são usados industrialmente, em misturas ou isoladamente como óleos essenciais ou resinas. Óleos essenciais são destilados ou extraídos diretamente de plantas herbáceas para uso na obtenção de sabores, fragrâncias, polímeros, antioxidantes e na indústria farmacêutica (McCaskill & Croteau, 1999). O valor comercial destes produtos quando isolados, varia enormemente, como o sulfato de turpetina cru, que é vendido a menos de US\$ 0,50/kg, enquanto o óleo de camomila e de rosa são vendidos a US\$ 700,00/Kg e US\$ 4.000,00/kg, respectivamente (McCaskill & Croteau, 1999).

2.2 *Cordia* L. (Boraginaceae)

O gênero *Cordia* L. (Boraginaceae) possui cerca de 250 espécies, distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo (Willis, 1973). A maioria das espécies é originária da Ásia (Palestina, Turquia, Irã, Arábia Saudita, Índia, Paquistão, Sul da China, Indonésia), outras são espontâneas no Sudoeste e Oeste da África (Rapisarda et al., 1997). Entretanto, sua maior diversidade taxonômica encontra-se no Novo Mundo, incluindo América Central e do Sul (Taroda & Gibbs, 1986). No Brasil, o gênero *Cordia* é particularmente bem representado, com cerca de 65 espécies, ou um quarto do total, sendo muita destas espécies elementos importantes nas florestas (Taroda & Gibbs, 1986).

Segundo Taroda & Gibbs (1986), o nome *Cordia* foi primeiramente empregado por Plumier em 1703 para uma planta descrita no oeste da Índia, e posteriormente Linnaeus em 1737 aceitou o gênero *Cordia* como reconhecimento a Plumier, listando em 1753 três espécies: *C. myxa*, *C.*

sebestena e *C. glabra*. Um estudo detalhado da taxonomia deste gênero pode ser encontrado em Taroda & Gibbs (1986), e Ascensão et al. (1995).

De acordo com Opler et al. (1975), a biologia reprodutiva do gênero *Cordia* recebeu sua primeira atenção, quando Fritz Müller enviou para Charles Darwin material do Brasil (Darwin, 1877). Entretanto, os maiores avanços no conhecimento da reprodução de *Cordia*, foram obtidos por (Johnston, 1949; Johnston, 1950).

Diferentes espécies de polinizadores têm sido mencionadas para o gênero *Cordia*, dentre as quais representantes de himenópteros (especialmente abelhas), lepidópteros e dípteros são as mais comuns, embora haja registros de alguns coleópteros e até pássaros (beija-flor) (Opler et al., 1975). No Brasil, há relato de polinização de *C. multispicata* especialmente por dípteros do gênero *Palpada* (Syrphidae) (Machado & Loiola, 2000).

Em relação a insetos-praga associados ao gênero *Cordia* (exceto para *Cordia curassavica* (Jacq.) R. & S. (Boraginaceae), descrita isoladamente a seguir), há relatos de diversas espécies de formigas em florestas do Peru, que vivem em colônias dentro dos ramos de *C. nodosa*, que confere proteção a estas colônias contra outras espécies de formigas “intrusas” Davidson et al., 1988; Davidson et al., 1989). Há diferentes espécies de hemípteros (Tingidae) mencionadas no Estado do Paraná atacando *C. allidora*, *C. goeldiana* e *C. trichotoma* (plantas que produzem madeira de alta qualidade) (Carvalho, 1988), e na Costa Rica também atacando *C. allidora* (Arguedas, 1992). Na Índia, *C. obliqua* foi relatada como hospedeiro da cochonilha da manga *Drosicha mangiferae* Green (Cnandra, 1988), referindo-se também a frutos de *Cordia myxa* e *C. obliqua* sendo atacados pelo curculionídeo *Barioscapus cordiae* (Mshl.)(Nanda & Pajni, 1991). Em Cuba, o crisomelídeo *Galerucella venustula* foi citado como importante desfolhador de *C. collococca* (Mellado et al., 1986).

Em países da Ásia, algumas espécies de *Cordia* são tidas como plantas daninhas, exigindo a utilização de alguns crisomelídeos como

alternativa biológica (Abu Bakar, 1992; Ooi, 1992; Ooi et al., 1994; Ismail et al., 1996;).

Em relação à dispersão das sementes de *Cordia*, ela é basicamente realizada pelos pássaros, que, aparentemente, são muito atraídos pelos frutos destas plantas (Opler et al., 1975; Vieira et al., 1994; Vieira et al., 1997; Slocum & Horvitz, 2000).

Além disto, diversas espécies de *Cordia* são mundialmente reconhecidas por suas propriedades medicinais, o que tem tornado intensa a busca de princípios ativos nas folhas, ramos e raízes destas plantas. Dentre as propriedades medicinais já relatadas destacam-se: analgésica e anti-inflamatória (Sertie et al., 1990; Sertie et al., 1991; Rapisarda et al., 1992; Ficarra et al., 1995); anti-fúngica (loset et al., 2000); anti-virótica para Herpes simplex (Hayashi et al., 1990) e HIV (Lim et al., 1997; Matsuse et al., 1999); e anti-ulcerogênica (Akhtar & Ahmad, 1995; Rapisarda et al., 1997).

2.2.1 *Cordia curassavica* (Jacq.) R. & S. (Boraginaceae)

Cordia curassavica (Jacq.) R. & S. (Boraginaceae), é um arbusto que pode atingir de 2 a 4 metros de altura, ocorrendo desde a América Central e Ilhas do Caribe (loset et al., 2000), até o Sul da América do Sul (Johnston, 1935). No Brasil está amplamente distribuída nos estados do Norte, Nordeste, Sudeste, Centro-Oeste e Sul (Taroda, 1984)(Figura 1). No Nordeste recebe a denominação vulgar de “maria-preta” e “erva-baleeira”. A última revisão taxonômica de espécies de *Cordia* realizada no Brasil descreve como sinônimas de *C. curassavica* as designações: *Varronia curassavica* Jacp.; *C. verbenacea* DC.; *C. salicinia* DC.; *C. macrostachya* (Jacq.) R. & S.; e *V. macrostachya* Jacq. (Taroda, 1984).

Andrade, 1976), estudando a anatomia foliar de plantas nas praias arenosas do Estado de São Paulo, observou a presença abundante de tricomas

unicelulares glandulares e não glandulares nas folhas de *C. curassavica* (anteriormente *C. verbenaceae*). Os tricomas glandulares foram descritos como unicelulares com pedúnculos curtos e com a cabeça arredondada, localizados em ambas as faces da folha. Relatou ainda a presença de “óleo” sobre as folhas, e que os estômatos, em grande número, somente ocorriam sobre a superfície abaxial da folha. Estas características levaram Andrade (1976) a concluir, que devido às condições climáticas do local, se tratava de uma adaptação morfológica para impedir a ocorrência súbita de déficit de água, especialmente nas horas matinais mais quentes, onde a umidade se tornava bastante baixa e a transpiração intensa.

Nascimento et al., (1986ab) constataram que *C. curassavica* (anteriormente *C. verbenacea*) era muito atrativa para algumas espécies de coleópteros, especialmente as coleobrocas *Cratosomus flavofasciatus* Guérin, 1844 (Curculionidae), *Tachyderes thoracicus* (Oliv.) (Cerambycidae), *T. succintus* (L.) (Cerambycidae) e *Dorcacerus barbatus* (Oliv.) (Cerambycidae). O comportamento destes insetos em relação a esta planta, embora destrutivo, motivou o seu uso como planta armadilha, em meio às plantações de frutíferas, especialmente em citros no Nordeste do Brasil (visando a *C. flavofasciatus*), como forma de reduzir, pela catação manual, a população destes insetos-praga. Mais recentemente foi demonstrado, que o besouro *Eurypedus nigrosignata* Boh. (Coleoptera: Chrysomelidae), é encontrado exclusivamente alimentando-se sobre *C. curassavica* no Panamá, e que, aparentemente, utiliza parte dos compostos químicos presentes na folha para construir um escudo de fezes como defesa contra predadores (Gomez et al., 1999). No Estado do Rio de Janeiro há descrição de um díptero *Cordiamyia globosa* (Cecidomyiidae), formando galha em *C. curassavica* (anteriormente *C. verbenacea*)(Maia, 1996).

Figura 1 –Distribuição de *C. curassavica* no Brasil (Taroda, 1984).

2.3 *Cratosomous flavofasciatus* Guérin, 1844 (Coleoptera: Curculionidae)

Se por um lado, existe um número razoável de informações sobre a origem e taxonomia de *C. curassavica*, por outro, são escassas as informações

sobre a taxonomia e biologia da coleobroca *Cratosomus flavofasciatus* Guérin, 1844 (Coleoptera: Curculionidae).

A última revisão do gênero *Cratosomus* foi realizada por van Endem, 1933ab). Neste trabalho, que aborda 130 espécies, o autor apresenta uma tabela sobre a distribuição geográfica das espécies. *C. flavofasciatus* é assinalada em duas “regiões”: na “Bahia” e numa região compreendida pelos estados de “Minas Gerais, Espírito Santo e Rio Grande do Sul”. No catálogo das espécies, do mesmo autor, é citada sua distribuição como sendo “do Paraná até a Bahia”, sem, no entanto, definir as localidades exatas de ocorrência. Entretanto, Vanin¹, constatou, que as localidades dos exemplares depositadas na coleção do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, são referentes aos Estados de Minas Gerais e Bahia.

C. flavofasciatus (Figura 2A), é considerada a principal praga dos citros no Recôncavo Bahiano, e recebe a denominação vulgar de broca da laranjeira (Nascimento et al., 1986a). (Aspectos da biologia e comportamento deste inseto são escassos, sendo uma das poucas menções, aquele realizado por (Bondar, 1929). A fêmea faz um orifício na casca do tronco (local preferido para a postura), onde deposita um ovo. Após a eclosão, a larva penetra na madeira e abre uma galeria longitudinal (Figura 2B-C). Durante o período em que se desenvolve, a serragem é eliminada pelo pequeno orifício de entrada, sendo fácil de ver no solo (Figura 2D).

¹ VANIN, S.A. Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo. Comunicação pessoal, 2000.

Figura 2 - *C. flavofasciatus*. (A) Adulto; (B) larva dentro de uma galeria no ramo; (C) dano ocasionado pela galeria no tronco de citros; (D) sintoma típico de ataque, caracterizado pela presença da “serragem” na base da planta de citros (seta).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Insetos atraídos pela planta em campo

3.1.1 Frequência de espécies de coleópteros atraídos

Dez plantas de *Cordia curassavica* (Jacq.) R. & S. (Boraginaceae), de dois anos de idade (Figura 3), foram numeradas individualmente distribuídas em quatro hectares de citros, de cerca de cinco anos de idade, numa área experimental pertencente ao Centro Nacional de Mandioca e Fruticultura Tropical – CNPMF, da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa, em Cruz das Almas, estado da Bahia (12° 40' 19" S e 39° 06' 22" W). Durante um ano, entre julho de 1997 a junho de 1998, foram realizadas contagens visuais semanais dos principais coleópteros encontrados sobre estas plantas. Os dados da temperatura média (°C), umidade relativa média (%) e da precipitação pluvial acumulada (mm), para cada mês amostrado, foram obtidos na estação climatológica do CNPMF, situada a 500m da área experimental. Exemplos de todas as espécies encontradas sobre *C. curassavica* foram identificadas no Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ, da Universidade de São Paulo – USP, ou ainda confirmadas no Museu de Zoologia, como no caso de *Cratosomus flavofasciatus* Guérin, 1844 (Coleoptera: Curculionidae), pelo Prof. Dr. Sérgio Vanin, da mesma Universidade. Os exemplares encontram-se depositados no Laboratório de Entomologia do CNPMF.

Figura 3 - Planta de *C. curassavica* (A), utilizada nos experimentos de atratividade de coleópteros. Detalhe do fruto (B) e inflorescência (C) da espécie.

3.2 Ensaios comportamentais, fisiológicos, morfológicos, histoquímicos e químicos envolvidos na interação inseto x planta.

3.2.1 Horário de atração de *C. flavofasciatus* no campo

Quarenta plantas de *C. curassavica* de dois anos de idade, foram numeradas individualmente, distribuídos em 15 ha de um pomar de citros de 10 anos de idade, naturalmente infestado pela coleobroca *C. flavofasciatus*, em Cruz das Almas, estado da Bahia. Todos os indivíduos machos e fêmeas adultos presentes sobre estas plantas foram removidos e descartados às 5:00 h no primeiro dia do experimento. A partir de então, foram coletados adultos sobre as plantas, quantificados e ensacados para descarte de hora em hora, entre as 6:00 h do primeiro dia até as 6:00 h do terceiro dia. Durante a noite, uma lanterna coberta com três folhas de celofane vermelho, para minimizar um provável efeito no comportamento dos besouros, foi utilizada brevemente para a tal coleta e contagem. Os dados relacionados à coleta diária foram transformados em porcentagem e os resultados submetidos à análise de variância (Anova). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

3.2.2 Transpiração da planta

Doze das 40 plantas de *C. curassavica* foram selecionadas ao acaso a cada hora, entre as 8:00 e 16:00 h, durante os três dias do experimento (vide item anterior), para se determinar a taxa de transpiração. Foram avaliadas ao acaso, três folhas por planta, utilizando-se um porômetro de difusão constante, modelo LI-1600 (LI-COR®).

3.2.3 Morfologia e histoquímica de folhas e ramos

Amostras frescas de folhas e ramos de *C. curassavica*, de cerca de 2mm², foram fixadas em solução de Karnovsky (Karnovsky, 1965) e processadas para microscopia de varredura (SEM), utilizando-se um equipamento Zeiss Mev DSM940A, operado entre 5 a 10 Kv, no Núcleo de Apoio a Pesquisa – Microscopia Eletrônica Aplicada à Agronomia (NAP–MEPA), da ESALQ/USP. Nas folhas foram selecionados dois estágios de desenvolvimento (idade), sendo: primórdio foliar, designado como até a quarta folha mais nova de um ramo; e folha nova, da quinta à sétima folha. Nos ramos foram selecionados os ramos verdes e os ramos maduros. As principais classes de metabólitos presentes no exsudato das folhas e ramos foram investigadas com cortes semelhantes feitos à mão, utilizando-se os seguintes testes histoquímicos: Sudan IV (Jensen, 1962) para terpenóides; cloreto de zinco iodado (Strasburger, 1913) para amido e celulose; cloreto férrico (Johansen, 1940) para taninos; e floroglucinol em meio ácido (Johansen, 1940) para lignina. As observações foram conduzidas com um microscópio Nikon AFX-DX, no Departamento de Ciências Biológicas, da ESALQ/USP.

3.2.4 Obtenção de extratos naturais dos tricomas glandulares de folhas e ramos de *C. curassavica*.

Extratos naturais dos tricomas glandulares foram obtidos por um método seletivo, não destrutivo (Croteau & Winters, 1982; Wagner, 1991 Duke et al., 2000). Ramos e folhas de diferentes estágios de desenvolvimento de *C. curassavica* foram coletados no campo entre as 9:00 e 12:00 h, coincidindo com o horário em que as plantas foram anteriormente encontradas atraindo um grande número de *C. flavofasciatus*. As extrações foram efetuadas 30 min após a coleta deste material. Somente cerca de 20–30g das folhas coletadas

foram utilizadas. As superfícies das folhas foram lavadas cuidadosamente com cerca de 25 ml de hexano bi-destilado. Este volume foi concentrado para 10 ml à temperatura ambiente (25°C) e imediatamente transferido para uma ampola de vidro selada e armazenado à -20°C até seu uso. O mesmo procedimento utilizado para a obtenção do extrato natural de tricomas glandulares das folhas, foi utilizado para a obtenção do extrato natural de ramos de *C. curassavica*.

3.2.5 Ensaios de comportamento no laboratório

Em cada bioensaio, folhas ou ramos de *C. curassavica*, ou ainda seus respectivos extratos naturais em hexano (100 µl impregnados em septo de borracha, cerca de duas horas antes de cada repetição) foram expostos a um grupo de 15 insetos (machos e fêmeas, separados ao acaso entre 180 adultos de diferentes idades, coletados no campo e mantidos em laboratório). Um olfatômetro em vidro com formato de Y (4,0 x 4,0 x 45,0 cm) com caixas em acrílico (8,0 x 5,5 x 11,0 cm) nas extremidades e 0,2 mm de abertura no topo (entrada de ar) foi especialmente desenhado para medir a resposta dos machos e fêmeas de *C. flavofasciatus* (Figura 4). Através desse sistema o ar (1,0 l/min) obtido por sucção circulava no sentido das duas caixas da extremidade para a caixa contendo os insetos. Uma das caixas na extremidade da entrada de ar foi sempre mantida como controle (testemunha). Os tratamentos foram casualizados e recasualizados no olfatômetro em cada uma das oito repetições. Os tratamentos utilizaram cerca de 30 g de folhas e ramos frescos de *C. curassavica*, coletados no horário das 9:00 às 12:00 h.

Quatro repetições contendo hexano impregnado em septo de borracha, em ambas as caixas da extremidade da entrada de ar, e com ambas as caixas vazias foram também realizadas como um tratamento

controle. Cada inseto foi utilizado uma única vez e as partes da planta (folhas e ramos) foram removidas e renovadas para cada repetição. Cada repetição foi limitada em 20 min com base em estudos preliminares. Os resultados para os insetos atraídos em cada repetição foram transformados em porcentagem e os resultados submetidos à análise de variância (Anova). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 4 - Modelo de olfatômetro utilizado nos bioensaios de atração de *C. flavofasciatus* pela planta de *C. curassavica*. Caixas contendo o grupo de insetos (A), o tratamento (B) e o controle (testemunha) (C). Setas vermelhas indicam o sentido do ar (por sucção) e setas amarelas indicam o sentido de caminhar dos insetos em direção à fonte de odor (B ou C).

3.2.6 Eletroantenografia

Dezesseis antenas de *C. flavofasciatus* (oito de machos e fêmeas) foram utilizadas para se determinar a resposta eletroantenográfica aos extratos naturais de folhas e ramos de *C. curassavica*. Dez repetições foram realizadas por antena e para cada extrato, totalizando 320 análises. Na testemunha (somente solvente) foram utilizadas oito antenas de *C. flavofasciatus*, com 5 repetições por antena, totalizando 40 análises. Os extratos (0,1 ml) foram borrifados na corrente de ar, com uma pipeta Pasteur contendo uma bomba de silicone de 3,0 ml. A corrente de ar foi ventilada sobre a antena (1,0 l/min) que estava conectada a um eletroantenógrafo (Leal et al., 1997).

3.2.7 Identificação dos compostos voláteis nos tricomas glandulares

Os voláteis dos tricomas glandulares de *C. curassavica* foram obtidos pela lavagem cuidadosa de cerca de 2,0 g do tecido foliar de cada idade ("primórdio foliar", designada como até a quarta folha mais nova do ramo; "folha nova", da quinta a sétima; e "folha madura", da oitava em diante) com 2,5 ml de hexano bi-distilado por 30 seg. Um padrão interno (33,4 µg de nonil acetato) foi adicionado a uma alíquota de 0,5 ml dos extratos. Todo o material e as extrações foram processados no horário das 9:00 às 12:00 h. Para cada amostra, 1,0 µl foi analisado em um equipamento de cromatografia gasosa (GC) Hewlett-Packard modelo 6890 equipado com uma coluna HP1 "methyl siloxane" (15,0m x 0,25 mm i.d., 0,1:l), e um detector ionizante de chama. O cromatógrafo a gás foi operado nas seguintes condições: injetor 230°C, detector 250°C, aumentando-se 40°C a cada 0,5 min, e 12°C/min até 180°C, e o gás He mantido a uma velocidade de 40 cm/sec.

Amostras selecionadas dos extratos naturais de *C. curassavica* foram também analisadas por cromatografia gasosa (GC) acoplado a um detector seletivo de massas (MS) Hewlett-Packard modelo 5973 operado em modo de ionização de elétrons. Para as amostras no GC-MS foi utilizada uma coluna DB5MS (J&W Scientific, Folsom, CA) dentro das mesmas condições de temperatura descrita anteriormente no GC. Os espectros dos dados foram também comparados com padrões comerciais e o banco de dados do "National Institute of Standards and Technology Database" nos EUA

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Insetos atraídos pela planta em campo

4.1.1 Frequência de espécies de coleópteros atraídos

Embora diversas espécies de insetos tenham sido observadas sobre *Cordia curassavica* (Jacq.) R. & S. (Boraginaceae), os coleópteros foram os mais comuns. *Trachyderes succintus* (L.) (Cerambycidae), *Chalcolepidius zonatus* Eschs. (Elateridae), *Polychalca punctatissima* (Wolf) (Chrysomelidae), e *Cratosomus flavofasciatus* Guérin, 1844 (Curculionidae) (Figura 5), foram os mais coletados representando um total de 44 (4,6%), 191 (19,8%), 272 (28,2%), e 456 (47,4%) dos indivíduos no ano, respectivamente. Outros coleópteros como *T. thoracicus* (Oliv.), e *Oxymerus luteus* (Voet) (Cerambycidae) foram menos expressivos, com menos de 10 indivíduos cada, em todo o período. Insetos de outras ordens, também foram pouco representativos (não quantificados), e não serão aqui abordados merecendo a devida atenção em outros futuros trabalhos.

Das quatro espécies de coleópteros mais abundantes em *C. curassavica*, duas foram observadas em pelo menos oito meses consecutivos do ano (*C. flavofasciatus* e *T. succintus*) e outras duas durante todo o ano (*C. zonatus* e *P. punctatissima*) (Figura 6A). *C. flavofasciatus*, foi a espécie mais numerosa sobre esta planta, revelando-se univoltina, como constatado por sua flutuação populacional entre os meses de fevereiro a junho (98,9% do total/ano

para a espécie), concentrando um pico em maio (34,2% do total/ano para a espécie), e a não ocorrência entre os meses de agosto a dezembro (Figura 3A), fato este já mencionado anteriormente por Nascimento et al. (1986a)(anteriormente *C. verbenacea*). *C. zonatus*, apresentou dois pequenos picos populacionais, em março (17,3% do total/ano para a espécie) e maio (14,7% do total/ano para a espécie). *T. succintus* apresentou picos populacionais em julho (38,6% do total/ano para a espécie), novembro (15,9% do total/ano para a espécie) e maio (13,6% do total/ano para a espécie), não sendo encontrada entre os meses de dezembro a março. Para *P. punctatissima* dois pequenos picos populacionais foram observados no decorrer do ano, em agosto (16,2% do total/ano para a espécie) e durante março e abril (38,6% do total/ano para a espécie).

Dados meteorológicos obtidos no local de estudo relevaram as condições climáticas típicas da região Nordeste do Brasil, caracterizadas normalmente por chuvas de inverno e secas de verão (Hargreaves, 1973). Nos meses de setembro de 1997 a fevereiro de 1998 foram registrados somente 254,1mm de chuvas, ainda que em outubro, tenha chovido cerca de 95,9mm (Figura 6C). Neste mesmo período, houve uma elevação progressiva das temperaturas médias, de 21,2°C em agosto de 1997 para até 27,3°C em fevereiro de 1998. Em contrapartida, a umidade relativa média caiu acentuadamente de 81,5% para 67,0% no mesmo período (Figura 6B). No mês de fevereiro de 1998, onde ocorreu a maior temperatura média, associada à menor umidade relativa média e a uma baixa precipitação pluvial (10,5mm), houve o início do aparecimento de *C. flavofasciatus* (Figura 6A). Com o início das chuvas, a partir de março de 1998, houve um crescimento populacional de *P. punctatissima*, e especialmente de *C. flavofasciatus*. Entretanto, com as fortes chuvas de junho (197,2mm) deste mesmo ano, ocorreu uma queda acentuada na população de *C. flavofasciatus*. Em relação às condições climáticas desta região, Nascimento et al., 1986a) demonstrou que a coleta de *C. flavofasciatus* sobre *C. curassavica* (anteriormente *C. verbenacea*) é direta e

significativamente afetada pela temperatura e indiretamente pela precipitação pluvial e umidade relativa. Dados de capturas diárias realizadas por estes autores, neste mesmo período em outros anos, indicaram que em dias chuvosos as coletas foram sensivelmente reduzidas, sendo observado o inverso em dias ensolarados subseqüentes a uma chuva.

A partir dos estudos de Nascimento et al. (1986ab), tentativas de uso de *C. curassavica* como planta armadilha para a captura de coleobrocas em plantações de frutíferas, especialmente para *C. flavofasciatus* em citros, foram bem sucedidas em várias regiões no Nordeste do Brasil. Porém, resultados semelhantes não foram observados em outras regiões do Brasil onde esta planta foi utilizada com a mesma finalidade (Faria et al., 1987). A despeito dos resultados aqui obtidos, há poucos registros na literatura de outras espécies de coleópteros sendo atraídos por *C. curassavica*, em outras regiões, embora, este arbusto seja amplamente distribuído desde a América Central e Ilhas do Caribe (Ioset et al., 2000), até o Sul da América do Sul (Johnston, 1935), incluindo o Norte, Nordeste, Sudeste, Centro-Oeste e Sul do Brasil (Taroda, 1984). No Panamá, em regiões de *habitats* secos, o besouro *Eurypedus nigrosignata* Boh., pertencente à mesma família de *P. punctatissima* (Chrysomelidae), mencionada neste estudo, é encontrado exclusivamente alimentando-se sobre esta planta e aparentemente utiliza parte dos compostos químicos presentes na folha para construir um escudo de fezes como defesa contra predadores (Gomez et al., 1999).

Em relação a outras espécies de *Cordia*, outros coleópteros como os crisomelídeos aparentemente são os mais importantes, e tidos como grandes desfolhadores destas plantas. Em alguns países da Ásia, por exemplo, onde certas espécies de *Cordia* são consideradas plantas daninhas, algumas espécies de crisomelídeos têm sido utilizadas para seu controle biológico, embora não haja estudos sobre o comportamento destes insetos nestas plantas (Abu Bakar, 1992; Ooi, 1992; Ooi et al., 1994).

Figura 5 - Coleópteros mais abundantes sobre *C. curassavica* em Cruz das Almas, BA. *T. succintus* (Cerambycidae) (A); *C. zonatus* (Elateridae) (B); *P. punctatissima* (Chrysomelidae) (C); e *C. flavofasciatus* (D).

Figura 6 – Flutuação populacional de quatro espécies de coleópteros mais freqüentes em *C. curassavica* (A). Temperatura e umidade relativa média (B) e precipitações (C) entre julho de 1997 a junho de 1998.

4.2 Ensaios comportamentais, fisiológicos, morfológicos, histoquímicos e químicos envolvidos na interação inseto x planta.

4.2.1 Horário de atração de *C. flavofasciatus* no campo versus a transpiração da planta

Em bioensaios no campo (Figura 7), machos e fêmeas de *C. flavofasciatus* visitaram *C. curassavica* em grande número durante a manhã e início da tarde (378 das 382 visitas entre 7:00 e 15:00 h), especialmente das 9:00 às 11:00 h (299 visitas), coincidindo com o período de maiores taxas de transpiração da planta. Uma alta correlação significativa ($r = 0,92$; $P = 0.0004$) entre os níveis de transpiração de *C. curassavica* e as visitas de *C. flavofasciatus* foi observada. Embora, na literatura o processo de transpiração nas plantas não seja relacionado à atração de insetos, houve um indicativo de que um ou mais compostos químicos de *C. curassavica*, poderiam estar envolvido neste processo.

Em *Cordia multispicata* Cham., dípteros polinizadores do gênero *Palpada* (Syrphidae), visitam as flores desta planta, principalmente entre as 8:00 e 12:00 h, para a realizar a coleta de néctar, em estudos realizados na Mata Atlântica remanescente do Estado de Pernambuco (Machado & Loiola, 2000). Entretanto, nenhuma correlação entre o estado fisiológico da planta e as condições climáticas foi analisada, apesar de muitas espécies de Syrphidae alimentarem-se exclusivamente numa determinada hora do dia (Weems, 1953). Na Amazônia, *C. multispicata* é igualmente visitada por dezenas de insetos polinizadores, especialmente durante a época das chuvas onde ocorre altas temperaturas (Vieira et al., 1997).

Figura 7 – Porcentagem de adultos de *C. flavofasciatus* coletados de 40 plantas de *C. curassavica* em cada hora em relação ao número total coletado diariamente (barras) e a taxa de transpiração média de *C. curassavica* no mesmo período (linhas pontilhadas) ($n = 36$ observações). Ambos os fatores foram determinados durante três dias consecutivos. Asteriscos indicam diferenças significativas na proporção de insetos coletados (teste de Tukey, $P < 0,05$).

4.2.2 Morfologia e histoquímica em folhas e ramos

4.2.2.1 Presença de tricomas e sua morfologia

Dois tipos de tricomas glandulares e dois não-glandulares foram encontrados sobre a epiderme das folhas em *C. curassavica* (Figura 8A-B). Os

tricomas glandulares, mais abundantes (vide item 4.2.2.2), são do tipo capitado com cabeça unicelular e dividido em: (1) globular, com inserção acêntrica a cêntrica sobre um pedúnculo de tamanho curto e unicelular ou longo e bicelular, com uma única célula basal (Figura 8C), e (2) reniforme, com inserção acêntrica sobre o pedúnculo recurvado na sua extremidade apical de tamanho curto e unicelular ou longo e bicelular, com uma única célula basal (Figura 8D). Os pedúnculos medem cerca de $10,5 \pm 1,5 \mu\text{m}$ ($n = 20$), enquanto a cabeça secretora do tricoma globular mede $32,0 \pm 5,0 \mu\text{m}$ de diâmetro ($n = 20$). Os tricomas não-glandulares, menos numerosos, em relação aos glandulares (vide item 4.2.2.2), são unicelulares e podem ser divididos em: (1) unisseriado, em formato de “pêlo”, encontrado somente ao longo das nervuras da superfície abaxial das folhas (Figura 8E), e (2) “silicificado”, em formato cônico, distribuído uniformemente, somente sobre a superfície adaxial das folhas (Figura 8F). Nos ramos, somente os tricomas glandulares foram observados.

Tricomas glandulares do tipo globular têm sido encontrados em um grande número de outras plantas, apresentando diâmetros variáveis da cabeça secretora, entre 15 a 115 μm dependendo da espécie (Dell & McComb, 1978; Fahn, 1979; Fahn, 1988; Hallahan, 2000). Em *C. curassavica*, o primeiro relato de tricomas glandulares foi realizado por Andrade (1976), ao descrever a anatomia foliar destas plantas em praias arenosas localizadas no Estado de São Paulo, sugerindo que estas estruturas (dentre outras características) estavam associadas, possivelmente, a uma adaptação para as condições climáticas adversas destes locais, como o aumento excessivo da temperatura e a queda da umidade no horário da manhã, evitando assim o déficit de água e a transpiração intensa. Estes mesmos tricomas foram também relatados em *C. curassavica* nas regiões secas do Panamá; porém, os autores não mencionaram uma possível adaptação desta planta a este ambiente em função destas estruturas (Gomez et al., 1999).

Figura 8 - Microscopia eletrônica de varredura da face abaxial (A) e adaxial da folha de *C. curassavica* (B)(x100); tricoma glandular globular (x1500) (C) e glandular reniforme (x900) (C); tricoma unicelular unisseriado (x50) (E) e unicelular silicificado (x700) (F). Seta indica o tricoma unicelular unisseriado.

4.2.2.2 Número de tricomas sobre folhas e ramos de diferentes idades na planta

A microscopia eletrônica de varredura (SEM) revelou uma variação consistente na densidade de tricomas em relação à idade, posição e órgão da planta (Tabela 1). No primórdio foliar, o número de tricomas glandulares na superfície abaxial (833 ± 174 por mm^2), foi próximo ao adaxial (747 ± 170 por mm^2). Em folha madura foram observados mais tricomas glandulares na superfície abaxial (191 ± 36 por mm^2) do que na adaxial (50 ± 14 por mm^2), embora menos abundantes do que no primórdio foliar. Maior número de tricomas glandulares também foi observado em ramos novos e tenros (87 ± 28 por mm^2), comparado aos maduros (26 ± 6 por mm^2). Em relação aos tricomas unicelulares, ocorreu um maior número de silicificados no primórdio foliar (189 ± 50 por mm^2) em relação as folhas maduras (69 ± 21 por mm^2); de forma análoga, houve maior número do tipo unisseriado no primórdio foliar (53 ± 9 por mm^2) se comparado à folha madura (19 ± 7 por mm^2).

A densidade de tricomas em plantas é extremamente variável, considerando-se a sua grande diversidade morfológica, anatômica e microestrutural (Dell & McComb, 1978; Fahn, 1979; Werker, 2000). Inúmeros fatores bióticos e abióticos podem interferir, na formação e na composição química destas estruturas. De qualquer modo, existe uma grande variabilidade na presença de tricomas não-glandulares e glandulares nos diferentes órgãos da planta, havendo diferenças entre espécies e mesmo entre as faces de um órgão, bem como nas folhas, brácteas, sépalas e pétalas. Estas estruturas podem aparecer somente numa face, ou em ambas as faces, distribuídas igualmente ou não. Tricomas também podem se distribuir uniformemente sobre a superfície ou serem mais localizados. Tricomas não-glandulares podem estar presentes somente sobre, nas margens e/ou ao longo das nervuras, ou estarem restritos a uma região intercostal, por exemplo. De um

modo geral, sabe-se que o número de tricomas são determinados durante a fase de diferenciação foliar, e se desenvolvem de modo excessivamente rápido nos primórdios foliares, distribuindo-se mais uniformemente sobre sua superfície, na medida em que as folhas se expandem (Dell & McComb, 1978; Mahlberg et al., 1984; Duke & Paul, 1993; Werker et al., 1993; Bourett et al., 1994; Werker, 2000). Em *C. curassavica*, este mesmo padrão foi observado (Figura 9), e a razão para este mecanismo, parece estar associado a fatores fisiológicos da planta (vide item 4.2.2.3). Por outro lado, para algumas outras espécies de plantas, alguns autores sugerem que o número de tricomas glandulares possa aumentar ao longo de todos os estágios de desenvolvimento (Croteau et al., 1981; Maffei et al., 1989; Werker, 2000).

Tabela 1 – Número médio dos diferentes tipos de tricomas por mm², encontrados no limbo foliar e nos ramos de *C. curassavica*.

Tipo	Primórdio foliar ^a		Folha Nova ^b		Ramos	
	(Tricomas/mm ² ± SD)		(Tricomas/mm ² ± SD)		(Tricomas/mm ² ± SD)	
	Superfície	Superfície	Superfície	Superfície	Novos	Maduros
	Adaxial	Abaxial	Adaxial	Abaxial	(verdes)	
Globular ^c	747 ± 170	833 ± 174	50 ± 14	191 ± 36	87 ± 28	26 ± 6
Silicificado	189 ± 50	ausente	69 ± 21	ausente	ausente	ausente
Unisseriado	ausente	53 ± 9	ausente	19 ± 7	ausente	ausente

^a Até a quarta folha mais nova do ramo.

^b Acima da oitava folha mais nova do ramo.

^c Inclui o tipo reniforme.

Figura 9 - Microscopia eletrônica de varredura da face abaxial (A-B-C) e adaxial (C-D-E) da folha de *C. curassavica* (x200), demonstrando a redução na densidade de tricomas com a idade da folha (primórdio foliar → , folha nova → folha madura).

4.2.2.3 Desenvolvimento individual do tricoma glandular e sua ação sobre a planta

Um exame mais detalhado na morfologia do tricoma glandular globular de *C. curassavica* demonstrou que após atingir o estágio de maturidade (Figura 10A), uma linha de ruptura aparece sobre sua superfície cuticular (Figura 10B), possivelmente para permitir o extravasamento de seu

conteúdo sub-cuticular (Figura 10C), e em seguida o tricoma entra em processo de senescência (Figura 10D-E-F). A secreção sub-cuticular foi posteriormente confirmada em microscopia óptica (vide item 4.2.2.4).

O modo de secreção dos tricomas glandulares tem sido amplamente discutida, embora, pouco se saiba sobre seu metabolismo e regulação (Kelsey et al., 1984; Wagner, 1991; McGarvey & Croteau, 1995; Duke et al., 2000; Gershenzon et al., 2000). Existem hipóteses para explicar a liberação do exsudato formado no espaço subcuticular dos tricomas glandulares: (1) ficaria acumulado e seria secretado através de microporos presentes na cutícula ou por meio de sua ruptura (Dell & McComb, 1978; Werker & Fahn, 1981; Fahn, 1988; Serrato-Valenti et al., 1997; Hallahan, 2000); (2) permaneceria acumulado, até que um fator externo danificasse sua cutícula liberando seu conteúdo (Werker et al., 1993; Ascensão et al., 1995); ou (3) seria liberado por uma “cavidade secretora” (Kim & Mahlberg, 1991).

A ação mecânica de insetos fitófagos ou de herbívoros sobre as folhas, tem sido mencionada como uma das principais causas externas para a ruptura e exsudação dos tricomas glandulares. Este mecanismo ajudaria a reforçar o conceito de que estas estruturas serviriam como defesa de certas plantas ao ataque de insetos (Levin, 1973; Stipanovic, 1983; Kelsey et al., 1984; Harborne, 1991). Todavia, recentemente tem sido proposto que as condições climáticas, especialmente altas temperaturas e baixas umidades do ar, também poderiam explicar este processo (Ascensão et al., 1995; Sacchetti et al., 1999). Diferentes estudos em microscopia de varredura, revelaram que alguns tipos de tricomas glandulares apresentam uma linha de ruptura na região do diâmetro horizontal da cabeça secretora (semelhante ao de *C. curassavica*), o que permitiria uma diminuição da resistência da bainha cuticular nas condições climáticas descritas, promovendo a liberação dos exsudatos (Bruni & Modenesi, 1983; Werker et al., 1985; Ascensão et al., 1995). Uma função já reconhecida dos exsudatos dos tricomas glandulares nas plantas é a formação de uma película protetora contínua sobre sua

superfície funcionando como uma proteção de folhas e brotos contra as condições climáticas adversas do meio ambiente, como altas temperaturas, insolação excessiva e baixos níveis de água no solo (Dell & McComb, 1978; Lin & Wagner, 1994; Werker, 2000). Desse modo, seria possível controlar a temperatura foliar e a transpiração (Hall et al., 1976; Dell & McComb, 1978; Schuepp, 1993), e favorecer certas plantas a ocuparem ambientes mais inóspitos e se manterem túrgidas durante todo o ano (Schuepp, 1993). Esta hipótese também ajudaria a esclarecer fisiologicamente, por exemplo, a variação na densidade por área, dos tricomas glandulares nos primórdios foliares em relação às folhas maduras, considerando-se que as primeiras são mais susceptíveis à desidratação do que as últimas. Neste sentido, há duas importantes considerações. Primeiro, em muitas espécies de plantas, a taxa de síntese de compostos químicos nos tricomas glandulares é dependente de precursores como CO_2 e açúcares, mais abundantes em folhas em fase de expansão do que em outros tecidos já maduros (Gershenzon, 1994). Segundo, que a presença destes compostos químicos nos tricomas glandulares, depende de enzimas que são muito mais ativas nos tecidos mais jovens do que nos maduros (Werker & Fahn, 1981). Sendo assim, os tecidos e folhas mais jovens possuem uma função vital em termos de sobrevivência para as plantas do ponto de vista da riqueza em água e em nutrientes. Daí haver muitos trabalhos associando o papel dos tricomas glandulares com uma provável defesa contra herbívoros, visando preservar estes tecidos mais jovens, do mesmo modo que uma outra linha de raciocínio credita a importância destas estruturas à proteção destes mesmos tecidos contra as altas temperaturas foliares e à transpiração excessiva. Por outro lado, recentemente a possibilidade de que múltiplas funções possam ocorrer relacionadas aos tricomas glandulares tem sido mais aceita (Gershenzon, 1994; Woodman & Fernandes, 1991; Hallahan, 2000).

de Teresina) e Andrade et al. (1992) (solo de Parnaíba). Todas estas informações foram armazenadas num arquivo denominado SOIL.SOL.

Em relação ao clima, foram utilizados dados diários de temperaturas máxima e mínima (°C), precipitação pluviométrica (mm) e insolação (h) dos anos de 1997 e 1998, cujos valores foram armazenados em arquivos .WTH. Estes dados foram obtidos em postos meteorológicos, próximos aos campos experimentais.

3.7 Avaliação do modelo CROPGRO-cowpea

A avaliação do modelo é o processo pelo qual os dados simulados são comparados com valores observados de experimentos não utilizados durante a fase de calibração. Nesta etapa, os parâmetros do modelo não podem ser modificados (Hoogenbom et al., 1992; Jones et al., 1987).

Para as simulações nessa fase, foram utilizados os mesmos arquivos de planta (.SPE, .CUL e .ECO) e de solo (SOIL.SOL) aplicados na calibração e o arquivo contendo os dados climáticos de 1996, que foi o ano da instalação do experimento.

Na avaliação do CROPGRO-cowpea, foram comparados apenas os valores de fenologia, componentes de produção e produtividade de grãos dos experimentos descritos no item 3.1.4, uma vez que, nestes experimentos, não foi feita análise de crescimento. Nessa fase, foram utilizados somente dados referente à cv. BR 17 - Gurguéia, em função da disponibilidade de informações.

3.8 Aplicação do modelo CROPGRO-cowpea

A aplicação do modelo CROPGRO-cowpea consistiu na avaliação econômica do manejo da irrigação para produção de grãos de feijão caupi (cv. BR 17 - Gurguéia). Os dados requeridos para esta avaliação, com os respectivos valores utilizados, foram:

- Preço de venda do grão ($\text{R}\$.t^{-1}$) = 1.000,00;
- Custo com adubo nitrogenado ($\text{R}\$.kg^{-1}$) = 0,30;

4.2.2.4 Visualização e testes histoquímicos do exsudato do tricoma glandular

A secreção subcuticular do tricoma glandular globular de *C. curassavica* foi observada em microscopia óptica (Figura 11A). Exames histoquímicos com Sudan IV produziram uma reação positiva para terpenóides no exsudato desta estrutura (Tabela 2 e Figura 11B), e demonstraram que os compostos químicos deste grupo se espalham sobre as células da epiderme nas folhas e ramos de *C. curassavica* (Figura 12). Outros testes histoquímicos para amido, celulose, taninos e lignina foram negativos.

O presente resultado histoquímico com os tricomas glandulares de *C. curassavica* acarreta importantes considerações sobre esta planta, sua relação com as condições climáticas do local e sua possível influência sobre o comportamento de *C. flavofasciatus*. Os terpenóides, encontrados no exsudato dos tricomas glandulares de *C. curassavica*, constituem o maior grupo de substâncias orgânicas do reino vegetal, e exercem múltiplas funções fisiológicas e ecológicas nas plantas superiores (Connolly & Hill, 1991; Gershenzon, 1994; McGarvey & Croteau, 1995). A maioria dos terpenóides são compostos insolúveis em água (Peterson & Vermeer, 1984; Gershenzon, 1994). Graças à sua insolubilidade, estes compostos uma vez secretados e depositados sobre a epiderme das folhas e ramos, são pouco lavados pelo orvalho ou pela ação de chuvas moderadas. Aparentemente, este exsudato tem a função de reduzir a temperatura foliar e a transpiração em *C. curassavica*, como já relatado para outras plantas, e, principalmente, se considerarmos o ambiente e as demais características xerófitas desta planta (Andrade, 1976). O modo como os exsudatos são depositados sobre a epiderme tem sido pouco estudado. Uma hipótese sugerida por Lin & Wagner (1994), seria de que sob alta umidade relativa o movimento do exsudato seria de migrar do limite da cutícula do tricoma glandular, descer

pelo pedúnculo, e atingir a epiderme das células adjacentes ao tricoma. Em situações com moderada umidade relativa e moderada umidade relativa/alta temperatura, o exsudato surgiria como gotas, que, em grande parte, permaneceriam retidas ao redor da glândula descendo para a epiderme por capilaridade. Neste sentido, o pedúnculo evitaria o retorno do material secretado na zona de exsudação (Fahn, 1979; Fahn, 1986). Da mesma forma, o modo como estes exsudatos reduziriam a temperatura foliar e a transpiração nas plantas, ainda permanece, em boa parte, desconhecido. As condições ambientais mais críticas para as plantas nesta situação seriam, primeiramente, o baixo nível de água disponível na face de alta transpiração; e segundo, alta temperatura foliar devido a altos níveis de insolação excessiva (Dell & McComb, 1978). Desde há muito tempo, tem sido reconhecido que a temperatura foliar pode ser reduzida, por exemplo, pela presença de pêlos (tricomas não-glandulares) ou outras características na epiderme (Esau, 1965; Ehleringer et al., 1976; Fahn, 1979). Tem sido demonstrado que esta pubescência pode alterar a absorbância da radiação solar ao nível da epiderme (Nobel, 1974), e reduzir a temperatura foliar em situações extremas como o estresse, de 10 a 15°C (Dell & McComb, 1978). A temperatura afeta a taxa de transpiração diretamente, pela influência da diferença de concentração de vapor de água entre a folha e o ar, e, indiretamente, através de um possível fechamento dos estômatos em altas ou baixas temperaturas (Hall et al., 1976; Smith & Nobel, 1977). Outra possibilidade seria de que os exsudatos dos tricomas glandulares simplesmente reduziram a perda de água por suas propriedades hidrofóbicas e pela formação de uma película protetora sobre a epiderme (Dell & McComb, 1978; Fahn, 1986). Com isso também haveria uma redução da penetração de raios UV-A e UV-B (Karabourniotis et al., 1995; Karabourniotis & Bornman, 1999; Maffei et al., 1999; Maffei & Scannerini, 2000). Neste caso, as folhas maduras que possuem menos tricomas glandulares e, conseqüentemente, menos exsudatos, perderiam água para

gerar capacidade de transporte dos nutrientes no floema (Dell & McComb, 1978). Estas adaptações morfológicas, nas plantas, têm um significado adaptativo importante e são dependentes das pressões do meio ambiente em que se encontram (Parkhurst & Loucks, 1972; Smith & Geller, 1980; Ashton & Berlyn, 1992; Schuepp, 1993; Press, 1999).

Figura 11 - Microscopia óptica do exsudato do tricoma glandular globular. (A) Ao natural (x40); (B) com reação positiva para terpenóides devido ao Sudan IV (em vermelho) (x40).

Tabela 2 – Reação dos tricomas glandulares com diferentes testes histoquímicos em folhas e ramos de *C. curassavica*.

Testes	Compostos alvos	Reação	
		Globular	Reniforme
Sudan IV	Terpenos	+	–
Cloreto de zinco iodado	Amido e Celulose	–	–
Cloreto férrico	Taninos	–	–
Floroglucinol em meio ácido	Lignina	–	–

+, positiva; –negativa

O fato de haver uma alta correlação significativa ($r = 0,92$; $P = 0.0004$)(Figura 7) entre a transpiração de *C. curassavica* e a coleta de *C. flavofasciatus*, sugere que, possivelmente, os compostos ou parte deles, liberados pelos tricomas glandulares com a finalidade de reduzir a transpiração possam estar sendo volatilizados e utilizados como uma pista de orientação por *C. flavofasciatus*. De fato, estudos com exsudatos depositados pelos tricomas glandulares na superfície das plantas, incluindo terpenóides, volatilizam para o ambiente (a uma taxa variável), e em ultima instância poderiam afetar outros organismos, incluindo polinizadores e inimigos naturais (Gershenzon, 1994; Harrewijn et al., 1995). No presente trabalho, a atração exercida por *C. curassavica* seria não intencional durante este processo, uma vez que *C. flavofasciatus* é um inseto prejudicial à planta. Por outro lado, não há relatos na literatura sobre a atração de insetos herbívoros por compostos produzidos por tricomas glandulares. Para se determinar se estes exsudatos dos tricomas glandulares de *C. curassavica* exercem ou não atração para *C. flavofasciatus*, foi necessário extrair e testar estes compostos.

Figura 12 - Microscopia óptica mostrando diferentes volumes de exsudação do tricoma glandular globular com o uso do reagente Sudan IV, para terpenóides (coloração avermelhada). (A-B-C-D)(x40); (E)(x 100). Setas indicam a presença do exsudato.

4.2.3 Ensaios de comportamento no laboratório

Machos e fêmeas de *C. flavofasciatus*, selecionados ao acaso, responderam significativamente, no olfatômetro, às diferentes partes da planta quando comparadas ao controle (em branco): $80,4 \pm 14,8\%$ para folhas; $74,9 \pm 19,4\%$ para ramos; e $27,2 \pm 12,6\%$ para o controle (Figuras 13A e 14A-C). Isto demonstrou que o estudo em laboratório poderia ser utilizado para estabelecer a origem dos voláteis atrativos para *C. flavofasciatus*. Em novos ensaios, utilizando extratos naturais dos tricomas glandulares obtidos das folhas e dos

ramos de *C. curassavica* e impregnados em septos de borracha o significativo grau de atração persistiu: $75,8 \pm 14,7\%$ para extrato de folhas; $83,9 \pm 12,2\%$ para os extratos de ramos; e $27,8 \pm 11,5\%$ para o controle (Figuras 13B e 14D). Desse modo, *C. flavofasciatus* foi capaz de detectar e ser atraído pelos voláteis químicos liberados a partir dos exudatos dos tricomas glandulares de *C. curassavica* (Figura 15).

Com base no princípio de que uma planta não atrairia um inseto para prejudicá-la, pode-se sugerir, que a atração desta colebroca se deva à volatilização de um inevitável produto utilizado durante o processo de controle da sua transpiração. Considerando-se que os exsudatos dos tricomas glandulares de *C. curassavica* são terpenóides (Tabela 2 e Figuras 11 e 12), voláteis e solúveis em solventes orgânicos (Dell & McComb, 1978; Peterson & Vermeer, 1984; Gershenzon, 1994), a extração dos exsudatos, pelo método seletivo utilizado no presente trabalho (Croteau & Winters, 1982; Wagner, 1991; Duke et al., 2000), garante que os extratos obtidos são provenientes dos tricomas glandulares de *C. curassavica*.

Figura 13 – Resposta, em olfatômetro, de adultos de *C. flavofasciatus* a diferentes partes ou extrato natural dos tricomas glandulares de *C. curassavica*. (A) adultos sendo atraídos simultaneamente para uma das caixas; (B) para a caixa contendo folhas; (C) na caixa com os ramos; e (D) na caixa com o septo de borracha contendo extrato natural dos tricomas glandulares obtido das folhas. Asteriscos indicam diferenças significativas na porcentagem de resposta dos insetos (teste de Tukey, $P < 0,05$).

Figura 14 - Resposta, em olfatômetro, de adultos de *C. flavofasciatus* a diferentes partes ou extrato natural dos tricomas glandulares de *C. curassavica* em olfatômetro. (A) adultos sendo atraídos simultaneamente para uma das caixas; (B) para a caixa contendo folhas; (C) na caixa com os ramos; e (D) na caixa com o septo de borracha contendo extrato natural dos tricomas glandulares obtido das folhas.

Figura 15 - Detalhe da resposta de adultos de *C. flavofasciatus* ao extrato natural dos tricomas glandulares obtido das folhas de *C. curassavica*. (A) Um adulto sobre o septo de borracha; e (B) um aglomerado de adultos disputando o septo de borracha.

4.2.4 Eletroantenografia

Ensaio eletrofisiológico por meio de eletroantenografia (EAG) também indicaram respostas positivas significativas de *C. flavofasciatus* aos extratos obtidos dos tricomas glandulares de *C. curassavica*, quando comparados ao controle. A resposta aos extratos naturais de folhas, ramos e controle, para os machos ($1,51 \pm 0,67$ mV, $n=21$; $1,23 \pm 0,35$ mV, $n=12$; e $0,42 \pm 0,17$ mV, $n=14$ respectivamente) e para as fêmeas ($1,27 \pm 0,49$ mV, $n=15$; $1,23 \pm 0,41$ mV, $n=16$; e $0,41 \pm 0,15$ mV, $n=10$ respectivamente) foram bem próximas, não havendo diferença significativa entre os extratos obtidos de tricomas glandulares de folhas ou ramos, nem tão pouco entre os sexos (Figura 16). Isto reforça as observações de que, morfologicamente, os tricomas encontrados tanto em folhas quanto em ramos de *C. curassavica* são semelhantes, sugerindo tratarem-se dos mesmos compostos. Em condições de

campo, e nos bioensaios em laboratório, tanto machos como fêmeas, foram atraídos pela planta, por suas partes (folhas e ramos) ou pelo extrato de seus tricomas. O fato de a densidade de tricomas ser superior nas folhas em relação aos ramos (Tabela 1), acarretando uma maior concentração dos compostos nesta parte vegetal (4.2.5) não necessariamente resulta numa maior resposta, já que as antenas dos insetos possuem alta sensibilidade e especificidade ao estímulo dos compostos biologicamente ativos, respondendo muitas vezes, a doses ínfimas. A forte resposta eletroantenográfica reforça que *C. flavofasciatus*, é capaz de identificar e localizar seu hospedeiro com base em pistas químicas dos voláteis produzidos pelos tricomas glandulares.

Figura 16 – Eletroantenografia de machos e fêmeas de *C. flavofasciatus* aos extratos naturais do tricoma glandular de folhas e ramos de *C. curassavica*. Asteriscos indicam diferenças significativas na porcentagem de resposta dos machos e fêmeas (teste de Tukey, $P < 0,05$).

4.2.5 Identificação dos compostos voláteis nos tricomas glandulares

A cromatografia gasosa revelou a identidade (Figura 17), e as respectivas concentrações dos compostos químicos presente nos extratos dos tricomas glandulares de *C. curassavica* (Tabela 3). Somente terpenóides foram detectados nas amostras, confirmando os testes histoquímicos. Os terpenóides foram consistentemente encontrados, nos extratos de primórdios foliares, folhas novas e maduras de *C. curassavica*, não havendo diferença na sua composição química entre as idades das folhas. Por outro lado, no primórdio foliar, onde ocorreu a maior densidade de tricomas glandulares por mm², foi também onde ocorreram as maiores concentrações de terpenóides (19,32 ng/mg), em comparação às folhas novas (10,89 ng/mg) e folhas maduras (6,51 ng/mg). Seis (α -pinene; (Z)-3-hexenyl-acetate; β -phellandrene; indene; (E)- β -caryophyllene; e (E)- β -farnesene) dos sete principais terpenóides foram mais concentrados no primórdio foliar (3,91; 1,11; 7,40; 0,48; 4,24; e 1,29 ng/mg) e folha nova (1,94; 1,09; 2,90; 0,56; 2,99; e 0,99 ng/mg) quando comparados às folhas maduras (1,21; 0,42; 1,25; 0,05; 1,68 ng/mg). A exceção foi uma alta concentração de (Z)-3-hexenyl-butyrate (1,42 ng/mg) nas folhas maduras em relação ao primórdio foliar (0,89 ng/mg) e folha nova (0,42 ng/mg). Estes resultados indicam que no primórdio foliar, os três compostos mais representativos proporcionalmente (não necessariamente em importância) foram: β -phellandrene (38,3%), (E)- β -caryophyllene (21,9%) e α -pinene (20,2%); na folha nova: (E)- β -caryophyllene (27,4%), β -phellandrene (26,6%) e α -pinene (17,8%); e na folha madura: (E)- β -caryophyllene (25,8%), (Z)-3-hexenyl-butyrate (21,8%) e β -phellandrene (19,2%).

Figura 17 – Perfil cromatográfico dos compostos químicos dos tricomas glandulares de *C. curassavica*. Números no gráfico representam os seguintes compostos: 1, α -pinene; 2, (Z)-3-hexenyl-acetate; 3, β -phellandrene; 4, indene; 5, (Z)-3-hexenyl-butyrate; 6, (E)- β -caryophyllene; 7, (E)- β -farnesene. Padrão Interno (PI, nonyl acetate). Asteriscos indicam compostos que alinham com o pico numerado no correspondente cromatograma.

Tabela 3 – Compostos químicos, tempo de retenção (TR), íon molecular [M] e volume (ng/mg) dos voláteis extraídos do tecido foliar de diferentes idades de *C. curassavica*.

			Primórdio Foliar		Folha Nova		Folha Madura	
	TR (min)	[M]	ng/mg	(%)	ng/mg	(%)	ng/mg	(%)
Monoterpenos								
alpha-pinene	5,2	136	3,91	(20,2)	1,94	(17,8)	1,21	(18,5)
Z-3-Hexenyl Acetate	6,1	142	1,11	(5,8)	1,09	(10,0)	0,42	(6,5)
beta-Phellandrene	6,5	136	7,40	(38,3)	2,90	(26,6)	1,25	(19,2)
Indene	8,2	128	0,48	(2,5)	0,56	(5,1)	0,05	(0,8)
Z-3-Hexenyl Butyrate	8,4	168	0,89	(4,6)	0,42	(4,0)	1,42	(21,8)
Monoterpenos Totais			13,79 (71,4)		6,91 (63,5)		4,35 (66,8)	
Sesquiterpenos								
E-beta-Caryophyllene	10,7	204	4,24	(21,9)	2,99	(27,4)	1,68	(25,8)
E-beta-Farnesene	11,0	204	1,29	(6,7)	0,99	(9,1)	0,48	(7,4)
Sesquiterpenos Totais			5,53 (28,6)		3,98 (36,5)		2,16 (33,2)	
Total			19,32 (100)		10,89 (100)		6,51 (100)	

Terpenóides e seus derivados são constituídos de compostos relativamente voláteis, como os monoterpenos e compostos menos voláteis como sesquiterpenos, diterpenos e triterpenos (Kelsey et al., 1984; McGarvey & Croteau, 1995; Duke et al., 2000). Por representarem a maior e mais diversa classe de produtos naturais encontrados no reino vegetal (Connolly & Hill, 1991; Nagata et al., 1999), não estão presentes unicamente nos tricomas glandulares, mas também em todas as estruturas especializadas secretoras das plantas, como cavidades secretoras, ductos, canais laticíferos e idioblastos (Dell & McComb, 1978; Fahn, 1979; Kelsey et al., 1984; Duke et al., 2000). Sendo assim, muitos dos terpenóides fornecem para muitos insetos e inimigos

naturais, um sinal seguro para a seleção de um hospedeiro em diferentes níveis tróficos (Kelsey et al., 1984; Visser, 1986; Harrewijn et al., 1995). O presente relato é a primeira constatação de um inseto herbívoro sendo atraído por voláteis de tricomas glandulares. De forma diversa, terpenóides que são sintetizados e se acumulam em tricomas glandulares são tidos como tendo ação inseticida, repelente, modificadores de comportamento e deterrentes alimentares (Levin, 1973; Stipanovic, 1983; Kelsey et al., 1984; Duffey, 1986; Harborne, 1991).

Curiosamente, alguns dos terpenóides presentes no tricoma glandular de *C. curassavica*, já foram relatados em outras plantas exercendo atração a insetos herbívoros, porém, sendo produzidos em outras estruturas secretoras. É o caso, por exemplo, de alpha-pinene, um monoterpene que quando isolado ou em mistura com outros compostos pode atrair espécies de diferentes famílias de coleópteros como: Cerambycidae (Fettkoetter et al., 2000), Curculionidae (Nordlander, 1990; Nordlander, 1991; Roseland et al., 1992), Nitidulidae (Schroeder, 1993), Cleridae (Poland & Borden, 1997) e notadamente Scolytidae (Kelsey et al., 1984; Bernays & Chapman, 1994). Em relação aos demais compostos, o (Z)-3-hexenyl-acetate já foi mencionado atraindo coleópteros da família Chrysomelidae (Dickens, 2000) e o composto beta-caryophyllene atraindo Coccinellidae (Zhu-JunWei et al., 1999) e Curculionidae (Hedin et al., 2000). Vale ressaltar, no entanto, que muito destes compostos podem exercer ação inversa, ou seja, agir como repelentes para outros insetos, incluindo coleópteros (Kelsey et al., 1984; Duffey, 1986; Bernays & Chapman, 1994), ou ainda, estarem envolvidos com a atração de inimigos naturais, uma vez que alguns destes compostos podem ser sintetizados e liberados pela planta em resposta ao ataque de insetos herbívoros, como já constatado anteriormente em outras plantas (Loughrin et al., 1994; Takabayashi & Dicke, 1996; De Moraes et al., 1998; Pare & Tumlinson, 1999).

Diversos trabalhos têm indicado que mudanças na temperatura (Gianfagna et al., 1992; Perez-Estrada et al., 2000), radiação UV-A e UV-B

(Karabourniotis et al., 1992; Barnes et al., 1996; Karabourniotis & Bornman, 1999; Maffei et al., 1999; Maffei & Scannerini, 2000; Tattini et al., 2000), fotoperíodo (Gianfagna et al., 1992; Kashina & Shavarda, 1994; Chien & Sussex, 1996), nutrientes (Gershenzon, 1984) e ataque de herbívoros (Levin, 1973; Mauricio & Rausher, 1997; Mauricio, 1998) frequentemente modificam a densidade e a composição química dos tricomas glandulares (Gershenzon, 1984; Waterman & Mole, 1989). Ao mesmo tempo, o efeito destes compostos químicos na fisiologia das plantas e sua interação com outros organismos ainda são pouco conhecidos (Kelsey et al., 1984; Wagner, 1991; Schuepp, 1993; Duke, 1994; Gutschick, 1999; Press, 1999; Hallahan, 2000; Werker, 2000).

Plantas não podem controlar quem está utilizando seus voláteis químicos, pois estes são liberados no ar. Neste sentido, não seria uma surpresa se insetos herbívoros (como *C. flavofasciatus*), possam utilizar estes sinais químicos (infoquímicos) para localizar seu hospedeiro (*C. curassavica*). De um modo geral, insetos herbívoros fazem uso de infoquímicos de plantas para selecionar e localizar seus hospedeiros (Visser, 1986; Bernays & Chapman, 1994; Harrewijn et al., 1995). A grande surpresa deste trabalho, foi que os tricomas glandulares, estruturas de plantas supostamente envolvidas na sua defesa, liberem compostos químicos, que atraiam aqueles a quem deveria repelir. Por que deveria uma planta atrair seu inimigo? Mesmo que, o químico liberado seja um inevitável produto utilizado para controlar o processo de transpiração, não seria de se esperar uma atração como resultado final da seleção natural, desde que existiria uma seleção recíproca sobre a planta para aumentar a efetividade de suas defesas. Com isso, a atração de insetos herbívoros, neste caso, pode ser o resultado de um atraso co-evolutivo, ao longo da evolução da resistência desta planta ao inseto herbívoro, e que, no momento, favorece este último. Alternativamente, a seleção sobre a planta pode ser favorável, porque, um mesmo composto químico poderia estar repelindo muitos outros herbívoros, ou ainda, estes insetos herbívoros serviriam como alimento para predadores e parasitóides que em troca forneceria

proteção à planta. Estas possibilidades necessitam ser investigadas, mas de qualquer modo, nem sempre de que o aumento de defesa nas plantas por meio de tricomas glandulares poderá evitar o ataque de insetos herbívoros. Isto é particularmente importante, para o melhoramento de plantas, onde o propósito de se aumentar a densidade ou mudar a composição química dos tricomas glandulares (Duke et al., 2000; McConkey et al., 2000) possa vir a ter efeitos indesejáveis.

5 CONCLUSÕES

- Existe uma correlação positiva entre a transpiração de *Cordia curassavica* (Jacq.) R. & S. (Boraginaceae) e a atração da coleobroca *Cratosomus flavofasciatus* Guérin, 1844 (Coleoptera: Curculionidae).
- As folhas e ramos de *C. curassavica* apresentam grande número de tricomas não-glandulares e glandulares, sendo que estes últimos podem atingir mais de 800 por mm², nos primórdios foliares.
- Dentre os tricomas, o glandular globular libera grandes quantidades de exsudatos sobre as folhas e ramos de *C. curassavica*, que são utilizados para a redução da transpiração e da temperatura foliar.
- Os exsudatos dos tricomas glandulares são constituídos por terpenóides.
- Extratos naturais dos tricomas glandulares de folhas e ramos de *C. curassavica* são tão atrativos quanto partes da planta (folhas e ramos) para adultos (machos e fêmeas) de *C. flavofasciatus*.

- Extratos naturais dos tricomas glandulares de folhas e ramos de *C. curassavica* levam a respostas positivas de machos e fêmeas de *C. flavofasciatus* por meio de eletroantenografia.
- Em termos gerais, verifica-se que um ou mais compostos químicos, liberados pelos tricomas glandulares de *C. curassavica*, para o controle do processo de transpiração, servem, na forma volátil, como pista de orientação e localização para a colebroca *C. flavofasciatus*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABU BAKAR, M. *Cordia curassavica*: successful biological control of a noxious weed in Malaysia. **MAPPS Newsletter**, v.16, n.2, p.12-13, 1992.
- AKHTAR, A. H.; AHMAD, K. U. Anti-ulcerogenic evaluation of the methanolic extracts of some indigenous medicinal plants of Pakistan in aspirin-ulcerated rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.46, n.1, p.1-6, 1995.
- ANDRADE, M. A. Anatomia foliar de algumas plantas freqüentes nas praias arenosas do Estado de São Paulo. **Ciência e Cultura**, v.28, n.11, p.1297-1305, 1976.
- ARGUEDAS, M. Phytosanitary problems in forest nurseries in Costa Rica. **Tecnologia en Marcha**, v.12, n.3, p.81-88, 1992.
- ASCENSÃO, L.; MARQUES, N.; PAIS, M. S. Glandular trichomes on vegetative and reproductive organs of *Leonotis leonurus* (Lamiaceae). **Annals of Botany**, v.75, n.6, p.619-626, 1995.
- ASHTON, P. M.; BERLYN, G. P. Leaf adaptation on some *Shorea* species to sun and shade. **New Phytologist**, v.121, p.587-596, 1992.

- BALAKRISHNA, P. Screening of salt-tolerant varieties of rice (*Oryza sativa*) through scanning electron microscopy and ion analysis. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, v.65, n.12, p.896-899, 1995.
- BARKER, J. F. Sunflower trichome defenses avoided by a sunflower stem weevil, *Cylindrocopturus adspersus* LeConte (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of the Kansas Entomological Society**, v.63, n.4, p.638-641, 1990.
- BARNES, J. D.; PERCY, K. E.; PAUL, N. D.; JONES, P.; MCLAUGHLIN, C. K.; MULLINEAUX, P. M.; CREISSEN, G.; WELLBURN, A. R. The influence of UV-B radiation on the physicochemical nature of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) leaf surfaces. **Journal of Experimental Botany**, v.47, n.294, p.99-109, 1996.
- BAUR, R.; BINDER, S.; BENZ, G. Nonglandular leaf trichomes as short-term inducible defense of the grey alder, *Alnus incana* (L.), against the chrysomelid beetle, *Agelastica alni* L. **Oecologia**, v.87, n.2, p.219-226, 1991.
- BEHNKE, H. D. Plant trichomes – structure and ultrastructure: general terminology, taxonomic applications, and aspects of trichome-bacteria interaction in leaf tips of *Dioscorea*. In: RODRIGUEZ, E.; HEALEY, P. L.; MEHTA, I. (Ed.) **Biology and chemistry of plant trichomes**. New York: Plenum Press, 1984. p.1-21.
- BERNAYS, E. A.; CHAPMAN, R. F. **Host-plant selection by phytophagous insects**. New York: Chapman and Hall, 1994. 312p.

- BINDER, B. F. Trichomes of Nama (Hydrophyllaceae) that produce insect-active compounds. **Aliso**, v.14, n.1, p.35-39, 1994.
- BOURETT, T. M.; Howard, R. J.; DP, O. K.; Hallahan, D. L. Gland development on leaf surfaces on *Nepeta racemosa*. **International Journal of Plant Sciences**, v.155, n.6, p.623-632, 1994.
- BREDENKAMP, C. L.; VAN WYK, A. E. The epidermis in Passerina (Thymelaeaceae): structure, function and taxonomic significance. **Bothalia**, v.30, n.1, p.69-86, 2000.
- BRUNI, A.; MODENESI, P. Development oil storage and dehiscence of peltate trichomes in *Thymus vulgaris* (Lamiaceae). **Nordic Journal of Botany**, v.3, p.245-251, 1983.
- CARVALHO, P. E. R. Louro-pardo. **Boletim de Pesquisa Florestal**, v.17, p.63-66, 1988.
- CHIEN, J. C.; SUSSEX, I. M. Differential regulation of trichome formation on the adaxial and abaxial leaf surfaces by gibberellins and photoperiod in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. **Plant Physiology**, v.111, n.4, p.1321-1328, 1996.
- CNANDRA, A. Note on new records of host plants of mango mealy bug, *Drosicha mangiferae* Green. **Indian Journal of Entomology**, v.50, n.3, p.385, 1988.

- COETZEE, J. H.; WRIGHT, M. G.; GILIOMEE, J. H. Anti-herbivore mechanisms of economically important Proteaceae species in the African Cape Fynbos. **Journal of Applied Entomology**, v.121, n.7, p.367-372, 1997.
- CONNOLLY, J. D.; HILL, R. A. **Dictionary of terpenoids**. London: Chapman and Hall, 1991. 2156p.
- CROTEAU, R.; WINTERS, J. N. Demonstration of the intercellular compartmentation of l-menthone metabolism in peppermint (*Mentha piperita*). **Plant Physiology**, v.69, p.975-977, 1982.
- CROTEAU, R.; FELTON, M.; KARP, F.; KJONAAS, R. Relationship of camphor biosynthesis to leaf development in sage (*Salvia officinalis*). **Plant Physiology**, v.67, p.820-824, 1981.
- DARWIN, C. R. **Different forms of flowers on plants of the same species**. London: John Murray, 1877. 352p.
- DAVIDSON, D. W.; LONGINO, J. T.; SNELLING, R. R. Pruning of host plant neighbors by ants: an experimental approach. **Ecology**, v.69, n.3, p.801-808, 1988.
- DAVIDSON, D. W.; SNELLING, R. R.; LONGINO, J. T. Competition among ants for myrmecophytes and the significance of plant trichomes. **Biotropica**, v.21, n.1, p.64-73, 1989.
- DAVIS, A. R.; PETERSON, R. L.; SHUEL, R. W. Vasculature and ultrastructure of the floral and stipular nectaries of *Vicia faba* (Leguminosae). **Canadian Journal of Botany**, v.66, p.1435-1448, 1988.

- DE MORAES, C. M.; LEWIS, W. J.; PARE, P. W.; ALBORN, H. Y.; TUMLINSON, J. H. Herbivore-infested plants selectively attract parasitoids. **Nature**, v.393, n.6685, p.570-573, 1998.
- DELL, B.; McCOMB, A. J. Plant resins –their formation, secretion and possible functions. **Advances in Botanical Research**, v.6, p.277-316, 1978.
- DICKENS, J. C. Orientation of Colorado potato beetle to natural and synthetic blends of volatiles emitted by potato plants. **Agricultural and Forest Entomology**, v.2, n.3, p.167-172, 2000.
- DICKISON, W. C. TRICHOMES. IN: RADFORD, A. E.; DICKISON, W. C.; MASSEY, J. R.; BELL, C. R. (Ed.) **Vascular plant systematics**. New York: Harper and Row, 1974. p.182-202.
- DUFFEY, S. S. Plant glandular trichomes: their partial role in defense against insects. In: JUNIPER, B.; SOUTHWOOD, R. (Ed.) **Insects and the plant surface**. London: Edward Arnold, 1986. p.151-172.
- DUKE, S. O. Glandular trichomes – a focal point of chemical and structural interactions. **International Journal of Plant Science**, v.155, n.6, p.617-620, 1994.
- DUKE, S. O.; PAUL, R. N. Development and fine structure of the glandular trichomes of *Artemisia annua* L. **International Journal of Plant Sciences**, v.154, n.1, p.107-118, 1993.

- DUKE, S. O.; CANEL, C.; RIMANDO, A. M.; TELLEZ, M. R.; DUKE, M. V.; PAUL, R. N. Current and potencial exploitation of plant glandular trichome productivity. In: HALLAHAN, D. L.; GRAY, J. C. (Ed.) **Plant trichomes**. Loondon: Academic Press, 2000. p.121-151.
- EHLERINGER, J.; BJORKMAN, O.; MOONEY, H. A. Leaf pubescence: effects on absorptance and photosynthesis in a desert shrub. **Science**, v.192, p.376-377, 1976.
- ESAU, K. **Plant anatomy**. New York: John Wiley, 1965. 767p.
- FAHN, A. **Secretory tissues in plants**. London: Academic Press, 1979. 302p.
- FAHN, A. Structural and functional properties of trichomes of xeromorphic leaves. **Annals of Botany**, v.57, p.631-637, 1986.
- FAHN, A. Secretory tissues in vascular plants. **New Phytologist**, v.108, p.229-257, 1988.
- FAHN, A. Structure and function of secretory cells. In HALLAHAN, D. L.; GRAY, J. C. (Ed.) **Plant trichomes**. Loondon: Academic Press, 2000. p.37-75.
- FARIA, A. M.; FERNANDES, S. C. S.; SANTOS, J. C. C. D.; BERGMANN, E. C.; BRISOLLA, A. D.; TAKEMATSU, A. P.; NEGRI, J. D.; SEMPIONATO, O. R. Estudos sobre controle da broca dos ramos e do tronco dos citros *Diploschema rotundicollae* (Serville, 1834) (Coleoptera Cerambycidae). **Biologico**, v.53, n.1-6, p.41-43, 1987.

- FERNANDES, G. W.; BICALHO, J. A. Insect herbivory on *Chamaecrista dentata* (Leguminosae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v.39, n.4, p.725-731, 1995.
- FETTKOTHER, R.; REDDY, G. V. P.; NOLDT, U.; DETTNER, K. Effect of host and larval frass volatiles on behavioural response of the old house borer, *Hylotrupes bajulus* (L.) (Coleoptera : Cerambycidae), in a wind tunnel bioassay. **Chemoecology**, v.10, n.1, p.1-10, 2000.
- FICARRA, R.; FICARRA, P.; TOMMASINI, S.; CALABRO, M. L.; RAGUSA, S.; BARBERA, R.; RAPISARDA, A. Leaf extracts of some *Cordia* species: analgesic and anti-inflammatory activities as well as their chromatographic analysis. **Farmaco, Edizione Scientifica**, v.50, n.4, p.245-256, 1995.
- FLANDERS, K. L.; HAWKES, J. G.; RADCLIFFE, E. B.; LAUER, F. I. Insect resistance in potatoes: sources, evolutionary relationships, morphological and chemical defenses, and ecogeographical associations. **Euphytica**, v.61, n.2, p.83-111, 1992.
- GEORGIEVA, I. D. Possible relation between tobacco resistance to aphids (*Myzus nicotianae* Blackman) and phenolic compounds in glandular trichomes and leaf epidermis. **Annales du Tabac**. Section 2, v.30, p.3-9, 1998.
- GERSHENZON, J. Changes in the level of plant secondary metabolite production under water and nutrient stress. In: TIMMERMAN, B. N.; STEELINK, C.; LOEWUS, F. A. (Ed.) **Phytochemical adaptations to stress, recent advances in phytochemistry**. New York: Plenum Press, 1984. p.273-320.

- GERSHENZON, J. Metabolic costs of terpenoid accumulation in higher plants. **Journal of Chemical Ecology**, v.20, n.6, p.1281–1328, 1994.
- GERSHENZON, J.; MCCONKEY, M. E.; CROTEAU, R. B. Regulation of monoterpene accumulation in leaves of peppermint. **Plant Physiology**, v.122, n.1, p.205–213, 2000.
- GIANFAGNA, T. J.; CARTER, C. D.; SACALIS, J. N. Temperature and photoperiod influence trichome density and sesquiterpene content of *Lycopersicon hirsutum* f. *hirsutum*. **Plant Physiology**, v.100, n.3, p.1403–1405, 1992.
- GOERTZEN, L. R.; SMALL, E. The defensive role of trichomes in black medick (*Medicago lupulina*, Fabaceae). **Plant Systematics and Evolution**, v.184, n.1–2, p.101–111, 1993.
- GOMEZ, N. E.; WITTE, L.; HARTMANN, T. Chemical defense in larval tortoise beetles: essential oil composition of fecal shields of *Eurypedus nigrosignata* and foliage of its host plant, *Cordia curassavica*. **Journal of Chemical Ecology**, v.25, n.5, p.1007–1027, 1999.
- GRAMMATIKOPOULOS, G.; MANETAS, Y. Direct absorption of water by hairy leaves of *Phlomis fruticosa* and its contribution to drought avoidance. **Canadian Journal of Botany**, v.72, n.12, p.1805–1811, 1994.
- GREW, N. **The anatomy of plants with an idea of a philosophical history of plants**. London: W. Rawlins, 1682. 304p.
- GUTSCHICK, V. P. Biotic and abiotic consequences of differences in leaf structure. **New Phytologist**, v.143, n.1, p.3–18, 1999.

- HALL, A. E.; SCHULZE, E. D.; LANGE, O. L. Current perspectives of steady-state stomatal responses to environment. In: LANGE, O. L. ; KAPPEN, L. ; SCHULZE, E. D. (Ed.). **Water and plant life – problems and modern approaches**. New York: Springer-Verlag, 1976. p.169–188.
- HALL, G. J.; HART, C. A.; JONES, C. A. Plants as sources of cations antagonistic to glyphosate activity. **Pest Management Science**, v.56, n.4, p.351–358, 2000.
- HALLAHAN, D. L. Monoterpenoid biosynthesis in glandular trichomes of labiate plants. In: HALLAHAN, D. L.; GRAY, J. C. (Ed.) **Plant trichomes**. London: Academic Press, 2000. p.77–120.
- HALLAHAN, D. L.; GRAY, J. C. **Plant trichomes**. London: Academic Press, 2000. 311p.
- HARBORNE, J. B. Recent advances in the ecological chemistry of plant terpenoids. In: Ecological Chemistry and Biochemistry of Plant Terpenoids, 1991. **Proceedings**. Phytochemical Society of Europe. Oxford: Clarendon Press, 1991. p.399–426.
- HARREWIJN, P.; MINKS, A. K.; MOLLEMA, C. Evolution of plant volatile production in insect-plant relationships. **Chemoecology**, v.5/6, n.2, p.55–73, 1995.
- HAYASHI, K.; HAYASHI, T.; MORITA, N.; NIWAYAMA, S. Antiviral activity of an extract of *Cordia salicifolia* on herpes simplex virus type 1. **Planta Medica**, v.56, n.5, p.439–443, 1990.

- HEAD, G. C. A study of "exudation" from the root hairs of apple roots by time-lapse cine-photomicrography. **Annals of Botany**, v.28, p.495-498, 1964.
- HEDIN, P. A.; McKibben, G. H.; Dollar, D. A. Role of ground trash volatiles in the selection of hibernation sites by boll weevils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, n.8, p.3673-3676, 2000.
- HILL, M. P.; HULLEY, P. E.; ALLSOPP, J.; HARMELEN, G. V.; VAN HARMELEN, G. Glandular trichomes on the exotic *Solanum sisymbriifolium* Lamarck (Solanaceae): effective deterrents against an indigenous South African herbivore. **African Entomology**, v.5, n.1, p.41-50, 1997.
- HOOKE, R. **Micrographia or some physiological description of minute bodies made by magnifying glasses with observations and inquiries thereupon**. London: 1665. New York: Dover Publications (reimpressão), 1961, p.112.
- HUANG, J.; KUO, S.; HUANG, J. H.; KUO, S. R. The morphological changes of Formosan *Michelia* seedlings grown under different light intensities. **Quarterly Journal of the Experimental Forest of National Taiwan University**, v.10, n.1, p.49-65, 1996.
- IOSET, J. R.; MARSTON, A.; GUPTA, M. P.; HOSTETTMANN, K. Antifungal and larvicidal cordiaquinones from the roots of *Cordia curassavica*. **Phytochemistry**, v.53, n.5, p.613-617, 2000.

- ISMAIL, A. A.; TJITROSEMITO, S.; SOERIANEGARA, I. Biological control efforts towards the management of some common weeds in Malaysia. In: SYMPOSIUM ON BIOLOGY AND MANAGEMENT OF WEEDS AND FOURTH TROPICAL WEED SCIENCE CONFERENCE. **Proceedings**. Bogor, 1996. p.149-157.
- JACKAI, L. E. N.; OGHIAKHE, S. Pod wall trichomes and resistance of two wild cowpea, *Vigna vexillata*, accessions to *Maruca testulalis* (Geyer) (Lepidoptera: Pyralidae) and *Clavigralla tomentosicollis* Stal (Hemiptera: Coreidae). **Bulletin of Entomological Research**, v.79, n.4, p.595-605, 1989.
- JENSEN, W. A. **Botanical histochemistry**. San Francisco: W.H. Freeman, 1962. 408p.
- JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: Mc Graw-Hill Book, 1940. 523p.
- JOHNSTON, I. M. Studies in Boraginaceae. X. The Boraginaceae of Northeastern South America. **Journal of the Arnold Arboretum**, v.16, n.1-64, 1935.
- JOHNSTON, I. M. Studies in the Boraginaceae. XVII. A. *Cordia* section *Varronia* in Mexico and Central America. **Journal of the Arnold Arboretum**, v.30, p.85-106, 1949.
- JOHNSTON, I. M. Studies in the Boraginaceae. XIX. **Journal of the Arnold Arboretum**, v.31, p.172-187, 1950.

- KARABOURNIOTIS, G.; BORNMAN, J. F. Penetration of UV-A, UV-B and blue light through the leaf trichome layers of two xeromorphic plants, olive and oak, measured by optical fibre microprobes. **Physiologia Plantarum**, v.105, n.4, p.655-661, 1999.
- KARABOURNIOTIS, G.; FASSEAS, C. The dense indumentum with its polyphenol content may replace the protective role of the epidermis in some young xeromorphic leaves. **Canadian Journal of Botany**, v.74, n.3, p.347-351, 1996.
- KARABOURNIOTIS, G.; KOTSABASSIDIS, D.; MANETAS, Y. Trichome density and its protective potential against ultraviolet-B radiation damage during leaf development. **Canadian Journal of Botany**, v.73, n.3, p.376-383, 1995.
- KARABOURNIOTIS, G.; KYPARISSIS, A.; MANETAS, Y. Leaf hairs of *Olea europaea* protect underlying tissues against ultraviolet-B radiation damage. **Environmental and Experimental Botany**, v.33, n.3, p.341-345, 1993.
- KARABOURNIOTIS, G.; PAPADOPOULOS, K.; PAPAMARKOU, M.; MANETAS, Y. Ultraviolet-B radiation absorbing capacity of leaf hairs. **Physiologia Plantarum**, v.86, n.3, p.414-418, 1992.
- KARNOVSKY, M. A. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, v.27, p.137-138, 1965.

- KASHINA, T. K.; SHAVARDA, A. L. Effect of photoperiod on the essential oil content in aerial parts of whole plant and in isolated peltate glandules of *Perilla ocymoides* (Lamiaceae). **Botanicheskii Zhurnal**, v.79, n.3, p.76–83, 1994.
- KELSEY, R. G.; REYNOLDS, G. W.; RODRIGUEZ, E. The chemistry of biologically active constituents stored in plant glandular trichomes. In: RODRIGUEZ, E.; HEALEY, P. L.; MEHTA, I. (Ed.) **Biology and chemistry of plant trichomes**. New York: Plenum Press, 1984. p.187–241.
- KHAN, M. M. H.; KUNDU, R.; ALAM, M. Z. Impact of trichome density on the infestation of *Aphis gossypii* Glover and incidence of virus disease in ashgourd (*Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn.). **International Journal of Pest Management**, v.46, n.3, p.201–204, 2000.
- KIM, E. S.; MAHLBERG, P. G. Secretory cavity development in glandular trichomes of *Cannabis sativa* L. (Cannabaceae). **American Journal of Botany**, v.78, n.2, p.220–229, 1991.
- KISLEV, M.; KORACH, E.; Negbi, M. Mechanism of root penetration of seeds germination on the soil surface. **Annals of Botany**, v.43, p.87–92, 1978.
- LEAL, W. S.; MOURA, J. I. L.; BENTO, J. M. S.; VILELA, E. F.; PEREIRA, P. B. Electrophysiological and behavioral evidence for a sex pheromone in the wasp *Bephratelloides pomorum*. **Journal of Chemical Ecology**, v.23, n.5, p.1281–1289, 1997.
- LEE, D. W.; PALIWAL, K. P.; PATEL, K. A.; SEN, D. N. Optical properties of leaves of some Indian plants. **Current Science**, v.55, n.18, p.923–925, 1986.

- LEVIN, D. A. The role of trichomes in plant defense. **Quarterly Review of Biology**, v.48, p.3-15, 1973.
- LIAKOURA, V.; STAVRIANAKOU, S.; LIAKOPOULOS, G.; KARABOURNIOTIS, G.; MANETAS, Y. Effects of UV-B radiation on *Olea europaea*: comparisons between a greenhouse and a field experiment. **Tree Physiology**, v.19, n.13, p.905-908, 1999.
- LIAKOURA, V.; STEFANOY, M.; MANETAS, Y.; CHOLEVAS, C.; KARABOURNIOTIS, G. Trichome density and its UV-B protective potential are affected by shading and leaf position on the canopy. **Environmental and Experimental Botany**, v.38, n.3, p.223-229, 1997.
- LIM, Y. A.; KOJIMA, S.; NAKAMURA, N.; MIYASHIRO, H.; FUSHIMI, H.; KOMATSU, K.; HATTORI, M.; SHIMOTOHNO, K.; GUPTA, M. P.; CORREA, M. Inhibitory effects of *Cordia spinescens* extracts and their constituents on reverse transcriptase and protease from human immunodeficiency virus. **Phytotherapy Research**, v.11, n.7, p.490-495, 1997.
- LIN, Y.; WAGNER, G. J. Surface disposition and stability of pest-interactive, trichome-exuded diterpenes and sucrose esters of tobacco. **Journal of Chemical Ecology**, v.20, n.8, p.1907-1921, 1994.
- LOUGHRIN, J. H.; MANUKIAN, A.; HEATH, R. R.; TURLINGS, T. C. J.; TUMLINSON, J. H. Diurnal cycle of emission of induced volatile terpenoids by herbivore-injured cotton plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.91, n.25, p.11836-11840, 1994.

- MACFARLANE, G. R.; BURCHETT, M. D. Zinc distribution and excretion in the leaves of the grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. **Environmental and Experimental Botany**, v.41, n.2, p.167–175, 1999.
- MACHADO, I. C.; LOIOLA, M. I. Fly pollination and pollinator sharing in two synchronopatric species: (Boraginaceae) and (Rubiaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v.23, n.3, p.305–311, 2000.
- MAFFEI, M.; SCANNERINI, S. UV-B effect on photomorphogenesis and essential oil composition in peppermint (*Mentha piperita* L.). **Journal of Essential Oil Research**, v.12, n.5, p.523–529, 2000.
- MAFFEI, M.; CHIALVA, F.; SACCO, T. Glandular trichomes and essential oils in developing peppermint leaves. I. Variation of peltate trichome number and terpene distribution within leaves. **New Phytologist**, v.111, n.4, p.707–716, 1989.
- MAFFEI, M.; CANOVA, D.; BERTEA, C. M.; SCANNERINI, S. UV-A effects on photomorphogenesis and essential-oil composition in *Mentha piperita*. **Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology**, v.52, n.1–3, p.105–110, 1999.
- MAHLBERG, P. G.; HAMMOND, C. T.; TURNER, J. C.; HEMPHILL, J. K. Structure, development and composition of glandular trichomes of *Cannabis sativa* L. In: RODRIGUEZ, E.; HEALEY, P. L.; MEHTA (Ed.). **Biology and Chemistry of Plant Trichomes**. New York: Plenum Press, 1984. 255p (livro todo), p.23–51.

- MAIA, V. C. *Cordiomyia globosa* gen. n. and sp. n. (Diptera, Cecidomyiidae, Cecidomyiidi) associated with *Cordia verbenacea* DC. (Boraginaceae) in Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.13, n.3, p.579-583, 1996.
- MATSUKI, M.; MACLEAN, S. F., Jr. Effects of different leaf traits on growth rates of insect herbivores on willows. **Oecologia**, v.100, n.1/2, p.141-152, 1994.
- MATSUSE, I. T.; LIM, Y. A.; HATTORI, M.; CORREA, M.; GUPTA, M. P. A search for anti-viral properties in Panamanian medicinal plants. The effects on HIV and its essential enzymes. **Journal of Ethnopharmacology**, v.64, n.1, p.15-22, 1999.
- MAURICIO, R. Costs of resistance to natural enemies in field populations of the annual plant *Arabidopsis thaliana*. **American Naturalist**, v.151, n.1, p.20-28, 1998.
- MAURICIO, R.; RAUSHER, M. D. Experimental manipulation of putative selective agents provides evidence for the role of natural enemies in the evolution of plant defense. **Evolution**, v.51, n.5, p.1435-1444, 1997.
- MAYEE, C. D.; SURYAWANSHI, A. P. Structural defence mechanisms in groundnut to late leaf spot pathogen. **Indian Phytopathology**, v.48, n.2, p.160-165, 1995.
- McCASKILL, D.; CROTEAU, R. Strategies for bioengineering the development and metabolism of glandular tissues in plants. **Nature Biotechnology**, v.17, n.1, p.31-36, 1999.

- McCONKEY, M. E.; GERSHENZON, J.; CROTEAU, R. B. Developmental regulation of monoterpene biosynthesis in the glandular trichomes of peppermint. **Plant Physiology**, v.122, n.1, p.215-223, 2000.
- McGARVEY, D. J.; CROTEAU, R. Terpenoid metabolism. **The Plant Cell**, v.7, p.1015-1026, 1995.
- MELLADO, B.; VALDES, E.; ZAYAS, E. D.; DE ZAYAS, E. Observaciones sobre el crisomelido *Galerucella venustula*, a defoliator of *Cordia collococca*. **Revista Forestal Baracoa**, v.16, n.2, p.41-51, 1986.
- NAGATA, T.; TODORIKI, S.; HAYASHI, T.; SHIBATA, Y.; MORI, M.; KANEGAE, H.; KIKUCHI, S. gamma-Radiation induces leaf trichome formation in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v.120, n.1, p.113-119, 1999.
- NANDA, N.; PAJANI, H. R. Some aspects of the biology of *Barioscapus cordiae* (Mshl.) (Coleoptera: Curculionidae). **Annals of Entomology**, v.9, n.2, p.91-94, 1991.
- NASCIMENTO, A. S.; MESQUITA, A. L. M.; CALDAS, R. C. Flutuação populacional e manejo da broca-da-laranjeira, *Cratosomus flavofasciatus* Guerin, 1844 (Col: Curculionidae), com maria-preta *Cordia verbenacea* (Borraginaceae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.15, n.(Supl.), p.125-134, 1986a.
- NASCIMENTO, A. S.; MESQUITA, A. L. M.; SAMPAIO, H. V. Planta-armadilha no controle de coleobroca em citros. **Informe Agropecuário**, v.12, n.140, p.13-18, 1986b.

- NOBEL, P. S. **Introduction to biophysical plant physiology**. San Francisco: W.H. Freeman, 1974. 488p.
- NORDLANDER, G. Limonene inhibits attraction to alpha-pinene in the pine weevils *Hylobius abietis* and *H. pinastri*. **Journal of Chemical Ecology**, v.16, n.4, p.1307–1320, 1990.
- NORDLANDER, G. Host finding in the pine weevil *Hylobius abietis*: effects of conifer volatiles and added limonene. **Entomologia-Experimentalis-et-Applicata**, v.59, n.3, p.229–237, 1991.
- NTEFIDOU, M.; MANETAS, Y. Optical properties of hairs during the early stages of leaf development in *Platanus orientalis*. **Australian Journal of Plant Physiology**, v.23, n.4, p.535–538, 1996.
- OOI, P. A. C. Biological control of weeds in Malaysian plantations. In: INTERNATIONAL WEED CONTROL CONGRESS. 1. Malasia, 1992. **Proceedings**. Malasia: 1992. v1, p.248–255.
- OOI, P. A. C.; SASTROUTOMO, S. S.; AULD, B. A. Biological control of weeds in Southeast Asia. **Appropriate weed control in Southeast Asia**. v.1, p.11–17, 1994.
- OPLER, P. A.; BAKER, H. G.; FRANKLE, G. W. Reproductive biology of some Costa Rican *Cordia* Species (Boraginaceae). **Biotropica**, v.7, n.4, p.234–247, 1975.
- OWEN, T. P.; THOMSON, W. W. Structure and function of a specialized cell wall in the trichomes of the carnivorous bromeliad *Brocchinia reducta*. **Canadian Journal of Botany**, v.69, p.1700–1706, 1991.

- PARE, P. W.; TUMLINSON, J. H. Plant volatiles as a defense against insect herbivores. **Plant Physiology**, v.121, n.2, p.325-331, 1999.
- PARKHURST, D. F.; LOUCKS, O. L. Optimal leaf size in relation to environment. **Journal of Ecology**, v.60, p.505-537, 1972.
- PAYNE, W. W. A glossary of plant hair terminology. **Brittonia**, v.30, p.239-255, 1978.
- PEREZ-ESTRADA, L. B.; CANO-SANTANA, Z.; OYAMA, K. Variation in leaf trichomes of *Wigandia urens*: environmental factors and physiological consequences. **Tree Physiology**, v.20, n.9, p.629-632, 2000.
- PETERSON, R. L.; VERMEER, J. Histochemistry of trichomes. In: RODRIGUEZ, E.; HEALEY, P. L.; MEHTA, I. (Ed.) **Biology and chemistry of plant trichomes**. New York: Plenum Press, 1984. p.71-94.
- POLAND, T. M.; BORDEN, J. H. Attraction of a bark beetle predator, *Thanasimus undatulus* (Coleoptera: Cleridae), to pheromones of the spruce beetle and two secondary bark beetles (Coleoptera: Scolytidae). **Journal of the Entomological Society of British Columbia**, v.94, p.35-41, 1997.
- PRESS, M. C. The functional significance of leaf structure: a search for generalizations. **New Phytologist**, v.143, p.213-219, 1999.
- RAJAGOPAL, S.; MURTHY, S. D. S.; MOHANTY, P. Effect of ultraviolet-B radiation on intact cells of the cyanobacterium *Spirulina platensis*: characterization of the alterations in the thylakoid membranes. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v.54, n.1, p.61-66, 2000.

- RAPISARDA, A.; IAUK, L.; RAGUSA, S. Micromorphological study on leaves of some *Cordia* (Boraginaceae) species used in traditional medicine. **Economic Botany**, v.51, n.4, p.385-391, 1997.
- RAPISARDA, A.; BARBERA, R.; PASQUALE, A. D.; FICARRA, P.; FICARRA, R.; TOMMASINI, S.; CALABRO, M. L.; RAGUSA, S.; DE PASQUALE, A. *Cordia francisci*, *C. martinicensis*, *C. myxa*, *C. serratifolia* and *C. ulmifolia* leaves as new sources of rutin (rutoside): analgesic and anti-inflammatory activity (tested in mice and rats). In: ANNUAL CONGRESS ON MEDICINAL PLANT RESEARCH, 40., Trieste, 1992. Trieste: 1992.
- RENSBURG, L. V.; PEACOCK, J.; KRUGER, G. H. J.; VAN RENSBURG, L. Boundary layer, stomatal geometry and -spacing, in relation to drought tolerance in four *Nicotiana tabacum* L. cultivars. **South African Journal of Plant and Soil**, v.16, n.1, p.44-49, 1999.
- RODRIGUEZ, E.; HEALEY, P. L.; MEHTA, I. **Biology and chemistry of plant trichomes**. New York: Plenum Press, 1984. 255p.
- ROSELAND, C. R.; BATES, M. B.; CARLSON, R. B.; OSETO, C. Y. Discrimination of sunflower volatiles by the red sunflower seed weevil. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.62, n.2, p.99-106, 1992.
- RUDALL, P. J.; STEVENSON, D. W.; LINDER, H. P. Structure and systematics of Hanguana, a monocotyledon of uncertain affinity. **Australian Systematic Botany**, v.12, n.2, p.311-330, 1999.

- SACCHETTI, G.; ROMAGNOLI, C.; NICOLETTI, M.; FABIO, A. D.; BRUNI, A.; POLI, F.; DI FABIO, A. Glandular trichomes of *Calceolaria adscendens* Lidl. (Scrophulariaceae): histochemistry, development and ultrastructure. **Annals of Botany**, v.83, n.1, p.87-92, 1999.
- SCHROEDER, L. M. Attraction of *Epuraea bickhardti* St.-Claire Deville and *E. boreella* (Zetterstedt) (Coleoptera, Nitidulidae) to ethanol and alpha-pinene. **Entomologica Fennica**, v.4, n.2, p.133-135, 1993.
- SCHUEPP, P. H. Leaf boundary layers. **New Phytologist**, v.125, p.477-507, 1993.
- SERRATO-VALENTI, G.; BISIO, A.; CORNARA, L.; CIARALLO, G. Structural and histochemical investigation of the glandular trichomes of *Salvia aurea* L. leaves, and chemical analysis of the essential oil. **Annals of Botany**, v.79, n.3, p.329-336, 1997.
- SERTIE, J. A. A.; BASILE, A. C.; PANIZZA, S.; OSHIRO, T. T.; AZZOLINI, C. P.; PENNA, S. C. Pharmacological assay of *Cordia verbenacea* III: oral and topical antiinflammatory activity and gastrotoxicity of a crude leaf extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v.31, n.2, p.239-247, 1991.
- SERTIE, J. A. A.; BASILE, A. C.; PANIZZA, S.; MATIDA, A. K.; ZELNIK, R. Anti-inflammatory activity and sub-acute toxicity of artemetin. **Planta Medica**, v.56, n.1, p.36-40, 1990.
- SHARANGPANI, P. R.; SHIRKE, D. R. Scanning electron microscopic studies on ovarian nectaries of *Cassia occidentalis* L. **Phytomorphology**, v.46, n.3, p.277-281, 1996.

- SHEN, Y.; SHEN, Y. Y. Scanning electron-microscopic observation on leaves of some plant species. **Acta Prataculturae Sinica**, v.6, n.3, p.32-36, 1997.
- SKALTSA, H.; VERYKOKIDOU, E.; HARVALA, C.; KARABOURNIOTIS, G.; MANETAS, Y. UV-B protective potential and flavonoid content of leaf hairs of *Quercus ilex*. **Phytochemistry**, v.37, n.4, p.987-990, 1994.
- SLOCUM, M. G.; HORVITZ, C. C. Seed arrival under different genera of trees in a neotropical pasture. **Plant Ecology**, v.149, n.1, p.51-62, 2000.
- SMALL, E. Adaptations to herbivory in alfalfa (*Medicago sativa*). **Canadian Journal of Botany**, v.74, n.6, p.807-822, 1996.
- SMITH, W. K.; GELLER, G. N. Leaf and environmental parameters influencing transpiration: theory and field measurements. **Oecologia**, v.46, p.308-313, 1980.
- SMITH, W. K.; NOBEL, P. S. Influence of seazonal changes in leaf morphology on water-use efficiency for three desert broadleaf shrubs. **Ecology**, v.58, p.1033-1043, 1977.
- SOETENS, P.; ROWELL RAHIER, M.; PASTEELS, J. M. Influence of phenolglucosides and trichome density on the distribution of insect herbivores on willows. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.59, n.2, p.175-187, 1991.

- STIPANOVIC, R. D. Function and chemistry of plant trichomes and glands in insect resistance: protective chemicals in plant epidermal glands and appendages. In: HEDIN, P. A. (Ed.) **Plant resistance to insects**, Washington: American Chemical Society, 1983. p.69-100. (Symposium series 208).
- STRASBURGER, E. **Handbook of Pratical Botany**. 7. London: George Allen & Company, 1913. 527p.
- TAKABAYASHI, J.; DICKE, M. Plant-carnivore mutualism through herbivore-induced carnivore attractants. **Trends Plant Science**, v.1, n.4, p.109-113, 1996.
- TARODA, N. Taxonomic studies on Brazilian species of *Cordia* L. (Boraginaceae). St. Andrews, 1984. 232p. Thesis (Ph.D) –University of St. Andrews.
- TARODA, N.; GIBBS, P. Studies on the genus *Cordia* L. (Boraginaceae) in Brazil. 1. A new infrageneric classification and conspectus. **Revista Brasileira de Botânica**, v.9, p.31-42, 1986.
- TATTINI, M.; GRAVANO, E.; PINELLI, P.; MULINACCI, N.; ROMANI, A. Flavonoids accumulate in leaves and glandular trichomes of *Phillyrea latifolia* exposed to excess solar radiation. **New Phytologist**, v.148, n.1, p.69-77, 2000.
- THOMAS, V.; VISHWAKARMA, A. K. Structure and biology of extrafloral nectary in *Desmanthus varigatus*. **Feddes Repertorium**, v.103, n.3/4, p.205-208, 1992.

- TUBERVILLE, T. D.; DUDLEY, P. G.; POLLARD, A. J. Responses of invertebrate herbivores to stinging trichomes of *Urtica dioica* and *Laportea canadensis*. **Oikos**, v.75, n.1, p.83-88, 1996.
- UPHOF, J. C. T. **Plant hairs**. Berlin, Nikolassee: Gebrüder Borntraeger, 1962. 292p. (Encyclopedia of Plant Anatomy, 4).
- van ENDEM, F. Revision der Gattung *Cratosomus* (Col. Curc.). **Archive Naturgeschichte**, v.(N. Ser.) 2, n.3, p.354-464, 1933a.
- van ENDEM, F. Revision der Gattung *Cratosomus* (Col. Curc.). **Archive Naturgeschichte**, v.(N. Ser.) 2, n.4, p.465-537, 1933b.
- VIEIRA, I. C. G.; SILVA, J. M. C. D.; DA SILVA, J. M. C. Phenology, fruit set and dispersal of *Cordia multispicata* Cham., an important weed shrub of abandoned pastures in eastern Amazonia. **Revista Brasileira de Botanica**, v.20, n.1, p.51-56, 1997.
- VIEIRA, I. C. G.; UHL, C.; NEPSTAD, D. The role of the shrub *Cordia multispicata* Cham. as a 'succession facilitator' in an abandoned pasture, Paragominas, Amazonia. **Vegetatio**, v.115, n.2, p.91-99, 1994.
- VISSER, J. H. Host odor perception in phytophagous insects. **Annual Review of Entomology**, v.31, p.121-144, 1986.
- WAGNER, G. J. Secreting glandular trichomes: more than just hairs. **Plant Physiology**, v.96, n.3, p.675-679, 1991.

- WATERMAN, P. G.; MOLE, S. Extrinsic factors influencing production of secondary metabolites in plants. In: BERNAYS, E. A. (Ed.) **Insect plant interactions**. Boca Raton: CRC Press, 1989. p.107-134.
- WEEMS, H. V. Notes on collecting syrphid flies (Diptera: Syrphidae). **Florida Entomologist**, v.36, p.91-98, 1953.
- WERKER, E. Function of essential oil-secreting glandular hairs in aromatic plants of the Lamiaceae – a review. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ESSENTIAL OILS, 23., 1992. Auchincruive: 1993.
- WERKER, E. Trichome diversity and development. In: HALLAHAN, D. L.; GRAY, J. C. (Ed.). **Plant trichomes**. London: Academic Press, 2000. p.1-35.
- WERKER, E.; FAHN, A. Secretory hairs of *Inula viscosa* (L.) Ait. – Development, ultrastructure, and secretion. **Botanical Gazette**, v.142, p.461-476, 1981.
- WERKER, E.; PUTIEVSKY, E.; RAVID, U. The essential oils and glandular hairs in different chemotypes of *Origanum vulgare* L. **Annals of Botany**, v.55, p.793-801, 1985.
- WERKER, E.; PUTIEVSKY, E.; RAVID, U.; DUDAI, N.; KATZIR, I. Glandular hairs and essential oil in developing leaves of *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae). **Annals of Botany**, v.71, n.1, p.43-50, 1993.

- WILLIS, J. C. **A dictionary of the flowering plants and ferns**. London: Cambridge University Press, 1973. 1245p.
- WOODMAN, R. L.; FERNANDES, G. W. Differential mechanical defense: herbivory, evapotranspiration, and leaf hairs. **Oikos**, v.60, p.11–19, 1991.
- WRIGHT, M. G.; GILIOMEE, J. H. Insect herbivory and putative defence mechanisms of *Protea magnifica* and *P. laurifolia* (Proteaceae). **African Journal of Ecology**, v.30, n.2, p.157–168, 1992.
- WUNNACHIT, W.; JENNER, C. F.; SEDGLEY, M. Floral and extrafloral nectar production in *Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae): an andromonoecious species. **International Journal of Plant Sciences**, v.153, n.3, p.1, 413–420, 1992.
- YAN, S.; YAN, S. G. Observation on ultrastructure of leaf epidermis of *Puccinellia tenuiflora*: salt-secreting or not? **Acta Prataculturae Sinica**, v.6, n.3, p.55–59, 1997.
- YANG, L.; WANG, S.; YANG, L.; WANG, S. T. Relations of adaxial and abaxial characters to the physiological significance of advanced paraheliotropic orientation of soyabean leaflets. **Acta Agronomica Sinica**, v.25, n.1, p.86–91, 1999.
- ZELLNIG, G.; KRONESTEDT ROBARDS, E. C.; ROBARDS, A. W. Intercellular permeability in *Abutilon* (pictum) nectary trichomes. **Protoplasma**, v.161, n.2–3, p.150–159, 1991.

ZHU-JUNWEI; COSSE, A. A.; OBRYCKI, J. J.; BOO-KYUNGSANG; BAKER, T. C.; ZHU, J. W.; BOO, K. S. Olfactory reactions of the twelve-spotted lady beetle, *Coleomegilla maculata* and the green lacewing, *Chrysoperla carnea* to semiochemicals released from their prey and host plant: electroantennogram and behavioral responses. **Journal of Chemical Ecology**, v.25, n.5, p.1163-1177, 1999.