**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Efeito da pressão barométrica no comportamento alimentar de
Spodoptera frugiperda (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) e na
indução de defesas em plantas de milho (*Zea mays* L.)**

Patricia Alessandra Sanches

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração:
Entomologia

**Piracicaba
2017**

Patricia Alessandra Sanches
Bacharel e Licenciada em Ciências Biológicas

**Efeito da pressão barométrica no comportamento alimentar de
Spodoptera frugiperda (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) e na indução
de defesas em plantas de milho (*Zea mays* L.)**

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **JOSÉ MAURÍCIO SIMÕES BENTO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração:
Entomologia

Piracicaba
2017

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP**

Sanches, Patricia Alessandra

Efeito da pressão barométrica no comportamento alimentar de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) e na indução de defesas em plantas de milho (*Zea mays* L.) / Patricia Alessandra Sanches - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2017.

56 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Interação inseto-planta 2. Pressão atmosférica 3. Fator abiótico 4. Fitohormônio I. Título

DEDICATÓRIA

À minha família (Heleno, Fátima, Diego e Felipe) e a todos aqueles que genuinamente valorizam a ciência de base

AGRADECIMENTOS

À minha família, namorado e amigos amados, pelo suporte e carinho incondicionais e pelo entendimento de minha dedicação e interesse intenso aos estudos. Vocês são a base que possibilita todas as minhas experiências, assim como o alicerce que sustenta a casa, e o trapezista que salta tranquilo ao saber que abaixo há uma rede de proteção e segurança.

Às instituições Universidade de São Paulo e Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, a todos seus funcionários, sou grata pela estrutura e possibilidade de aprimoramento da minha formação. Um agradecimento especial aos funcionários do Departamento de Entomologia e Acarologia (professores, secretaria, segurança, limpeza, manutenção) pelo auxílio de seus serviços essenciais aos alunos.

Agradeço também ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, pelo financiamento necessário nesta etapa.

Desafios geram erros e frustrações, imprescindíveis para o redirecionamento, aprendizado e experiência. Tão imprescindível quanto à completude do desafio é o percurso tomado para alcançá-lo. Um agradecimento sincero a meu orientador, Dr. José Maurício S. Bento, pelos aconselhamos sábios, suporte, confiança e por ter me permitido este desafio.

À Dra. M. Fernanda Peñaflor, pelo incentivo, assistência, orientações e companheirismo que transcendem a vida acadêmica. Como uma pupila, agradeço pela inspiração e aprendizado constantes.

Um agradecimento especial para Ms. Arodi Prado Favaris, pela inspiração e exemplo, pelo companheirismo acadêmico, pela assistência técnica e doses de motivação diária. Ainda quero ser tão boa quanto você quando eu crescer (se possível).

À Ms. Camila Moreira Costa, pela parceria nas aventuras com a câmara barométrica, preocupação e aconselhamos. Agradeço também a Antônio Costa por toda assistência concedida.

A Heleno Sanches, meu fiel escudeiro, pelo auxílio no desenvolvimento do dispositivo automático de injúria mecânica nas plantas.

Agradeço ao Dr. Welinton Silva e Ms. Milton Fernando Cabezas pelas sugestões que aprimoraram a metodologia do projeto de dissertação.

À Rafaela Cristina dos Santos (Uni), pela amizade e companheirismos sinceros, auxílios e momentos compartilhados.

Aos meus parceiros queridos de mestrado, Andréisa Fabri Lima e Fábio Duarte, pela amizade, dificuldades e alegrias celebradas. Sou grata por terem tornado meus dias muito mais doce.

Aos Ms. Franciele dos Santos e Fernando Ribeiro Sujimoto, pela inspiração e admiração que lhes deposito, mas também pela amizade, torcida e aconselhamos sinceros.

A todos os integrantes do laboratório de Ecologia Química e Comportamento de Insetos (Esalq/USP): Welinton, Diego, Luiza, Denise, Arodí, Lucila, Natália, Fernando's, Camila's, Franciele, Talita, Mateus, Mariana, Rafaela, Davi, Felipe, Guilherme. Agradeço a troca de experiências, momentos de descontração e a contribuição no meu crescimento pessoal e profissional. Um agradecimento especial à Lucila Wadt, por corrigir incansavelmente minha postura.

EPÍGRAFE

“Somos assim: sonhamos o voo mas tememos a altura. Para voar é preciso ter coragem para enfrentar o terror do vazio. Porque é só no vazio que o voo acontece. O vazio é o espaço da liberdade, a ausência de certezas. Mas é isso o que tememos: o não ter certezas. Por isso trocamos o voo por gaiolas. As gaiolas são o lugar onde as certezas moram”.

Os Irmãos Karamazov, Dostoievski

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT.....	8
1. INTRODUÇÃO.....	9
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1. A INTERAÇÃO PLANTA-INSETO	11
2.2. A PRESSÃO BAROMÉTRICA	12
2.3. O SISTEMA DE ESTUDO: MILHO E <i>SPODOPTERA FRUGIPERDA</i>	15
3. TEXTO DE SISTEMATIZAÇÃO.....	17
Referências.....	19
Anexo: manuscrito	25
Resumo	25
Abstract.....	26
Introdução.....	27
Material e métodos	29
Resultados.....	35
Discussão	43
Referências.....	49
Anexos: figuras e tabelas suplementares	53

RESUMO

Efeito da pressão barométrica no comportamento alimentar de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) e na indução de defesas em plantas de milho (*Zea mays* L.)

Fortes chuvas e outros eventos climáticos podem afetar o fitness de plantas e insetos. Estudos recentes têm demonstrado que esses organismos são capazes de detectar súbitas variações da pressão barométrica que antecedem a condição climática adversa. Para os insetos, esta percepção é acompanhada de alterações comportamentais aparentemente adaptativas, como a redução do voo e chamamento para cópula. As plantas, por sua vez, respondem com a abertura dos estômatos, de maneira muito semelhante ao estresse hídrico, devido à ativação de rotas bioquímicas associadas ao ácido abscísico. O longo histórico co-evolutivo entre plantas e insetos herbívoros indica que alterações em um organismo refletem na resposta adaptativa do outro. Assim, mesmo que a variação na pressão barométrica afete apenas um dos organismos, a interação inseto-planta deve ser alterada, porém, esta abordagem nunca foi estudada. Utilizando como modelo o milho, *Zea mays* L. (Poales: Poaceae) e a lagarta-cartucho-do-milho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), nós investigamos o desempenho alimentar do inseto e defesas induzidas de plantas intactas e com indução pela herbivoria frente a diferentes pressões barométricas. Para isso foram desenvolvidos dispositivos automatizados e os ensaios foram conduzidos dentro de uma câmara barométrica. As lagartas consumiram maiores áreas foliares em pressão baixa do que alta, porém o ganho de massa foi similar nas pressões testadas. Plantas intactas, danificadas pela lagarta e com aplicação do regurgito de *S. frugiperda* não produziram defesas induzidas pela pressão barométrica, apesar dos tratamentos com indução pelo herbívoro emitirem misturas mais complexa de voláteis comparado às plantas intactas. Além disso, plantas com indução mecânica apresentaram maiores níveis do fitohormônio ácido jasmônico. Nesse contexto, nós hipotetizamos que condições de estresse, como pressão baixa, aumentam o consumo foliar e taxa metabólica das lagartas, resultando em incremento de massa similar a condições não estressantes. Em contrapartida, plantas de milho aparentemente não utilizam a pressão como fator abiótico preditor de alterações climáticas e aumento de herbivoria. Para o melhor do nosso conhecimento, este foi o primeiro estudo a investigar os efeitos da pressão barométrica na interação planta-inseto herbívoro e os resultados obtidos podem repercutir na inclusão da pressão como fator que transmuta ensaios biológicos.

Palavras-chave: Interação planta-inseto; Pressão atmosférica; Fator abiótico; Fitohormônio

ABSTRACT

The barometric pressure effect upon *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) feeding behavior and maize plants (*Zea mays* L.) induced defences

Severe raining and other wheather events can affect plant and insect's fitness. Recent studies have shown that these organisms are able to detect sudden barometric pressure variations that generally precede an adverse wheather condition. For insects, this perception is followed by behavioral modifications that are apparently adaptive, as, for instance, the reduction in flights and the calling for mating. Plants, in turn, respond with stomata opening, similar to hydric stress, once biochemical routes associated to the abscisic acid are activated. The historical co-evolutive process between plants and herbivore insects indicate that changes in one organism reflects in the adaptive responses of the other. In that sense, even if the fluctuation of the barometric pressure has direct effects in a single organism, the insect-plant interaction may be altered. However, this approach has never been examined. Taking as models maize plants, *Zea mays* L. (Poales: Poaceae), and the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) we have investigated the feeding performance and induced defences of intact and herbivore-induced plants under different barometric pressures. For that, we developed automated devices and the assays were conducted inside of a barometric chamber. The fall armyworms larvae consumed greater leaf areas under low than high pressures, but the weight gain was similar among the pressures tested. Wound-induced maize did not displayed defenses by the barometric pressure changes, although the treatments with herbivore induction have emitted more complex volatiles blends when compared to intact maize. Besides that, plants with mechanical damage presented higher levels of the phytohormone jasmonic acid. In this context, we have hypothesized that stress conditions by low pressures increase the leaf area consumption by *S. frugiperda*, possibly associated to higher metabolic rates of armyworms, resulting in a weight gain similar to the non-stress conditions. On the other hand, corn plants apparently do not use the barometric pressure as an abiotic predictor of wheather changes and increase of herbivory. To the best of our knowlegde this is the first study investigating the barometrtc pressure effects on plant-herbivore insect interaction. Our results may potencially impact in the inclusion of pressure as factor that reshape biological assays.

Keywords: Plant-insect interaction; Atmospheric pressure; Abiotic factor; Phytohormone

1. INTRODUÇÃO

A variação dos componentes abióticos do ambiente pode afetar drasticamente o desenvolvimento de plantas e insetos. As chuvas e tempestades, por exemplo, podem representar condições letais para os organismos (Walker et al., 1984) o que favorece a procura por abrigo e/ou interrupção de suas atividades (Wellington, 1946b). Essa alteração ambiental pode ser influenciada pela variação na pressão barométrica (= pressão atmosférica). Assim, o aumento na pressão barométrica possibilita dias ensolarados e com poucos ventos, ao passo que a queda na pressão barométrica pode decorrer em chuvas fortes ou tempestades acompanhadas de ventos fortes (Tanner et al., 1991).

A percepção da oscilação na pressão barométrica pelos organismos é importante para a adoção de estratégias que aumentem sua chance de sucesso em um ambiente com constante mudança nos padrões climáticos (Wellington, 1946b). Para os insetos já foi demonstrado que, mantendo as demais variáveis abióticas constantes e oscilando apenas a pressão, há a diminuição ou interrupção do voo (Fournier et al., 2005), chamamento de parceiros (Marchand e Mcneil, 2000; Pellegrino et al., 2013), cópula (Pellegrino et al., 2013; Austin et al., 2014) e oviposição (Leskey e Prokopy, 2003). Para as plantas, é conhecida a capacidade de percepção de grandes oscilações da pressão (Braam, 2005) e, quando em queda dos valores barométricos, há o aumento da transpiração dada pela maior abertura dos estômatos (Mott e Parkhurst, 1991; Corey et al., 2001).

Embora a pressão barométrica possa afetar o desempenho de plantas e insetos mesmo em condições de laboratório – onde é possível controlar a maior parte dos demais fatores abióticos – há uma escassez de estudos sobre o tema. Em plantas, até o momento, somente foi investigado o efeito da pressão barométrica sobre seu desenvolvimento visando seu cultivo em outros planetas (Corey et al., 2001; Paul et al., 2004; He et al., 2013). Nos insetos, por sua vez, os estudos até aqui foram realizados de forma isolada (Rousse et al., 2009; Pellegrino et al., 2013; Austin et al., 2014), sem o entendimento desse componente abiótico em um cenário mais complexo, como na interação inseto-planta.

Tendo em vista a importância e limitação de informações sobre o tema, nesse trabalho investigamos a influência da variação da pressão barométrica na interação planta-inseto. Como modelo, utilizamos plantas de milho, *Zea mays* L. (Poales: Poaceae) e lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), em um sistema bem conhecido e estudado, cujos genomas já foram sequenciados (Hake e Walbot, 1980; Kakumani et al., 2014) e que apresentam grande importância econômica no cenário agrícola. Assim, sob diferentes condições de pressão barométrica – ou seja, estável, baixa e alta pressão – foram avaliadas o desempenho alimentar de *S. frugiperda*, emissões de voláteis constitutivos e induzidos pela herbivoria de *S. frugiperda*, além dos níveis dos fitohormônios em plantas de milho.

Para avaliar se a emissão de voláteis da planta induzida pela herbivoria não se deveu a um possível comportamento alimentar de *S. frugiperda* alterado pela pressão barométrica, foi também mensurado, a indução das defesas da planta a partir do regurgito das lagartas, e o seu desempenho

alimentar sob os diferentes regimes de oscilação de pressão. A nossa hipótese foi que a oscilação abrupta de pressão promoveria a diminuição no comportamento alimentar, como postulado por Pellegrino et al. (2013) e, conseqüentemente, a diminuição nas defesas da planta induzidas pela herbivoria.

Este trabalho representa o primeiro estudo sobre a influência da variação de pressão barométrica na interação inseto-planta, especificamente na investigação do efeito da pressão atmosférica no comportamento alimentar de lagartas herbívoras e nas defesas induzidas de plantas contra insetos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. A interação planta-inseto

A condição fixa das plantas no substrato impossibilita a fuga mediante o ataque de insetos herbívoros e, para sua defesa, os vegetais desenvolveram sofisticados mecanismos de percepção e de respostas à herbivoria (Bruce, 2014). Os insetos podem manipular a ativação das defesas induzidas das plantas por meio de proteínas nas secreções orais que inibem a produção de compostos defensivos, mas, com o tempo, algumas plantas se adaptaram a reconhecer essas moléculas de modo que elas passaram a atuar no reconhecimento da herbivoria pela planta (Hogenhout e Bos, 2011). As defesas das plantas podem ser constitutivas, devido a presença de metabólitos secundários tóxicos aos herbívoros ou, após o ataque dos insetos, as plantas podem produzir novos compostos defensivos, designadas defesas induzidas, que atuam no comportamento ou na biologia do herbívoro (Mithöfer e Boland, 2012). Além disso, as plantas passam a emitir uma mistura complexa de compostos orgânicos voláteis após a herbivoria, que atuam indiretamente no controle da população dos insetos, pois promovem o recrutamento de inimigos naturais específicos, como predadores e parasitoides (McCormick et al., 2012). Dentre os compostos voláteis emitidos, os terpenoides, sintetizados a partir da ativação do ácido jasmônico na via octadecanoide (Wasternack e Hause, 2013), são amplamente conhecidos pelo papel central na comunicação da planta com o terceiro nível trófico (Turlings, Bernasconi, et al., 1998; Turlings, Lengwiler, et al., 1998; Hoballah et al., 2002; Fontana et al., 2011). Adicionalmente, esses compostos também podem agir diretamente nos insetos como repelentes para a oviposição das fêmeas dos herbívoros (De Moraes et al., 2001; Kessler e Baldwin, 2001).

A indução de defesas das plantas contra a herbivoria é regulada pelos hormônios vegetais (Bari & Jones, 2009; Erb et al., 2012; Pieterse et al., 2012), cuja biossíntese é intensificada após o contato do interior do tecido com as secreções orais dos herbívoros (Howe e Jander, 2008), aliado aos danos celulares (Heil, 2009). O ácido jasmônico (AJ) é considerado o principal fitohormônio envolvido na iniciação da produção de defesa de plantas à artrópodes mastigadores e patógenos biotróficos (Howe e Jander, 2008; Koo e Howe, 2009), desencadeando defesas refinadas e sinais móveis na planta como estratégia de contra-ataque (Wasternack et al. 2013). Diferentemente, o ácido salicílico (AS) é associado a insetos sugadores e infecções por patógenos biotróficos (Erb et al., 2012), atuando na resistência sistêmica adquirida das plantas, uma vez que ativa cascatas defensivas responsáveis primariamente pela eliminação de tecidos vegetais danificados (Delaney et al., 1994; Park et al., 2007). O ácido abscísico (ABA), por sua vez, apresenta o papel de regulação da planta contra os estresses abióticos, como seca e encharcamento (Erb et al., 2012), por atuar no controle da respiração, dada pela abertura e fechamento dos estômatos (Loreto et al., 2012). Nesse cenário, a interação entre vias hormonais da planta pode afetar significativamente a produção de respostas defensivas contra o ataque de insetos. Desse modo, enquanto o AS silencia a ativação da via do AJ, em *cross-talk* negativo (Pieterse et al., 2012), o ABA pode ativar o AJ na regulação das defesas (Tooker e De Moraes, 2011), possivelmente pelo compartilhamento de algumas proteínas regulatórias (Erb et al., 2012).

As condições abióticas do ambiente também alteram drasticamente a interação planta-inseto e defesas induzidas contra herbivoria (Holopainen e Gershenzon, 2010). O isopreno, base para formação de compostos voláteis defensivos, como os terpenoides, são produzidos por vias metabólicas estimuladas por fatores abióticos (Loreto e Schnitzler, 2010). Dessa forma, alteração de temperatura, luminosidade, umidade, fertilização, salinidade e outros, afetam consideravelmente a mistura de voláteis emitidos pelas plantas (Gouinguéné e Turlings, 2002). Com isso, aumento de luminosidade, temperaturas e pressão de vapor na planta, por exemplo, levam à grande produção de compostos voláteis, que poder atuar indiretamente como barreira térmica contra radiação solar e dessecação das células vegetais, inibindo a formação de sesquiterpenos (Loreto e Schnitzler, 2010). Por outro lado, estresses relacionados a acidez, salinização e baixa umidade do solo diminuem a emissão de voláteis, devido o fechamento dos estômatos e redução da fotossíntese (Loreto e Schnitzler, 2010).

Nesse cenário, a associação de mudanças nos padrões abióticos e herbivoria também apresentam efeito aditivo na indução de defesas das plantas, aumentando a quantidade de compostos orgânicos voláteis defensivos emitidos pelo vegetal (Gouinguéné e Turlings, 2002; Vuorinen et al., 2004). Aparentemente, a resposta frente a combinação de herbivoria e fator abiótico depende do elemento mais estressante à planta, que destina seu contra-ataque para a condição de maior risco (Holopainen e Gershenzon, 2010). No entanto, estudos recentes indicam que a resposta transcricional das defesas vegetais são mais proeminentes ao estresse mais recentemente sofrido (Coolen et al., 2016; Nguyen et al., 2016). Assim, uma condição inicialmente desfavorável, dada por variação abiótica ou dano por herbívoros, pode promover resistência a uma nova situação adversa (Coolen et al., 2016). Contudo, generalizações sobre os efeitos na interação planta-inseto são difíceis de serem estabelecidas, visto que as respostas da planta são muito dependentes dos organismos modelos abordados, tipos e intensidades de estresses simulados (Nguyen et al., 2016).

2.2. A pressão barométrica

A pressão barométrica pode ser definida como a força exercida por unidade de área pela coluna total de ar acima de um nível considerado (Wellington, 1946b). Conforme a equação ideal dos gases, os valores de pressão estão diretamente correlacionados à densidade das moléculas. Dessa forma, a topografia altera os padrões de pressão barométrica (Holton e Hakim, 2012). Como moléculas de maiores massas tendem a ficar mais próximas ao solo devido ação da gravidade, quanto menor a altitude, maior será a quantidade de moléculas e, portanto, maior a densidade e pressão do ar (Barry e Chorley, 2009). Assim, a elevação em cada 9 m de altitude corresponde a redução de 1 mbar na pressão barométrica, sendo que a pressão de referência é de 1013,25 mbar ao nível do mar (Holton e Hakim, 2012).

A pressão também varia conforme a temperatura do ar. Nesse sentido, em um sistema fechado, por exemplo, a elevação da temperatura leva ao aumento da pressão, dado pela maior energia cinética e colisão entre as moléculas (Barry e Chorley, 2009). Assim, regiões quentes tendem a ter zonas de pressão mais alta comparado a regiões frias. Adicionalmente, o aquecimento pelo sol gera dois picos extremos ao longo de um dia, sendo que, em regiões temperadas, os valores máximos de

pressão baixa por volta das 4 e 16h, enquanto que os de pressão alta são as 10 e 22h (Holton e Hakim, 2012). Subjacente a isso, a temperatura influencia a distribuição da pressão na latitude, sem sobreposição ao efeito da altitude. Dessa forma, em regiões equatoriais baixas, as temperaturas altas favorecem a queda na pressão pela dilatação do ar; regiões de latitudes média tendem a ter maior variação entre pressões altas e baixas; e regiões de altas latitudes tendem a pressões altas (Barry e Chorley, 2009). Esse gradiente, por sua vez, é um dos fatores que afeta a formação de ventos e movimento entre massas de ar, que dissipam o excesso de calor dos trópicos para regiões polares, balanceando a distribuição de energia no planeta (Hurley e Boos, 2014).

Predições de condições do tempo são respaldadas inicialmente nos valores da pressão barométrica. Em uma localidade o aumento da pressão favorece a descida dos gases atmosféricos ao solo, que se aquecem e se afastam da saturação, o que impossibilita a formação de nuvens e, conseqüentemente, a precipitação (Holton e Hakim, 2012; Hurley e Boos, 2014). Já quando ocorre a queda na pressão barométrica, os gases tomam as camadas mais altas da atmosfera e atingem seu ponto de saturação, o que pode gerar a precipitação (Holton e Hakim, 2012; Hurley e Boos, 2014). Assim, horas antes de chuvas, os valores de pressão barométrica diminuem levemente (< 5 mbar), enquanto que mudanças abruptas de diminuição na pressão (< 30 mbar), indicam aproximação de tempestades tropicais ou ciclones (Wellington, 1946b).

Subjacentemente, a atuação da pressão barométrica na composição de micro-climas atua diretamente na distribuição e comportamento de espécies no ambiente (Wellington, 1946b). Condições adversas, como ciclones e tempestades tropicais, afetam a distribuição de algas, crustáceos e pequenos peixes no mar, comprometendo peixes grandes e mamíferos consumidores (Tilmant et al., 1994). Similarmente, chuvas podem alterar a abundância e distribuição de plantas, insetos, aves e mamíferos terrestres em grandes escalas espaço-temporais (Tanner et al., 1991). Aparentemente, alguns desses organismos apresentam mecanismos de percepção da pressão para adoção de comportamentos que aumentem suas chances de sucesso (Wellington, 1946a). Órgãos cordotonais, por exemplo, são os mecanismos mais conhecidos de percepção de pressão pelos animais (Wellington, 1946b), presentes em invertebrados e vertebrados. Em humanos, estes órgãos estão localizados na região timpânica e estão associados a percepção desconfortável de quedas rápidas nos valores de pressão, movimentação ascendente na topografia de uma região, decolagem e aterrissagem de aeronaves (Du et al., 2015) e dores em locais com traumas ortopédicos (Mcalindon et al., 2007; Shulman et al., 2016). Interessantemente, a pressão barométrica parece influenciar também os comportamentos humanos, sendo que estados depressivos são positivamente correlacionados a períodos de pressão baixa (Schory et al., 2003). Nesse contexto, a inclusão desse fator abiótico em estudos biológicos pode revelar importantes padrões de interação dos organismos com o ambiente.

2.2.1. A pressão barométrica no comportamento de insetos

O efeito da oscilação na pressão barométrica é pouco explorado na entomologia. Poucos estudos até hoje manipularam a pressão a fim de observar respostas comportamentais nos insetos. A

descoberta recente de Pellegrino et al. (2013) de que insetos de diversas ordens alteram suas atividades com a mudança na pressão aumentou o concernimento desse componente abiótico nos ensaios controlados de laboratório nos anos seguintes (Austin et al., 2014; Mcfarlane et al., 2015; Zagvazdina et al., 2015; Dagaëff et al., 2016; Musiolek e Kočárek, 2016; Smith et al., 2016). Boa parte destes estudos abordaram atividades de cópula e voo, porém, o efeito da pressão barométrica continua inexplorado para diversos outros comportamentos.

Nesse cenário, com relação à busca hospedeira, parasitoides de ovos como *Trichogramma pretiosum* e *Trichogramma evanescens* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) apresentam retardo no início do voo sob a rápida queda na pressão – o que pode estar correlacionado a uma maior chance de sobrevivência – caso a mudança nesse fator abiótico seja seguida de condições climáticas adversas (Fournier et al., 2005). Um resultado semelhante foi observado no padrão de voo de *Fopius arisanus* (Hymenoptera: Braconidae), que respondeu às variações barométricas correlacionadas ao fotoperíodo (Rousse et al., 2009).

O comportamento de cópula também pode ser influenciado por variações na pressão barométrica. *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae) e o percevejo *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psylloidea) apresentam redução no número de acasalamentos com a queda da pressão (Austin et al., 2014; Zagvazdina et al., 2015). Fêmeas de *Pseudaletia unipuncta* (Lepidoptera: Noctuidae), *Macrosiphum euphorbiae* (Hemiptera: Aphididae) (Pellegrino et al., 2013) e *Aphidius nigripes* (Hymenoptera: Aphididae) (Marchand e Mcneil, 2000) reduziram o chamamento sob condições de queda da pressão barométrica. Para todos estes organismos de ordens e tamanho diversos, a estabilidade ou aumento da pressão não teve interferência neste comportamento. Contrariamente a estes exemplos, *Conotrachelus nenuphar* (Coleoptera: Curculionidae), sob condições de queda de pressão, apresentou aumento na taxa oviposição comparada à pressão estável, o que foi relacionado a uma maior discriminação dos voláteis da planta hospedeira (Leskey e Prokopy, 2003).

2.2.2. A pressão barométrica para as plantas

As plantas também aparentam possuir mecanismos de percepção da pressão (Braam, 2005). No entanto, pouco se sabe sobre o efeito de baixas e altas pressões, bem como das oscilações na pressão barométrica para estes organismos. É relatado que, em baixas pressões, há um aumento da taxa de transpiração das plantas independentemente da umidade relativa do ar, devido a baixas pressões parciais de oxigênio. (Mott e Parkhurst, 1991; Corey et al., 2001). Essa alteração, por sua vez, está associada ao aumento da expressão de genes relacionados à dessecação e via do ABA, bem como a redução do tamanho dos estômatos e do aumento da resistência da planta pela produção de fenóis (Ozturk et al., 2002; Paul et al., 2004; Tang et al., 2015). Além disso, situações de hipobaria geralmente aumentam os níveis de etileno produzido pela planta (He et al., 2003), fitohormônio esse capaz de modular as atividades do AJ (Pieterse et al., 2012). Em adição, o aumento na emissão de etileno está correlacionado ao crescimento irregular e esterilidade de hortaliças nessas condições de cultivo (He e Davies, 2012). Subjacentemente a estes aspectos, baixas pressões são utilizadas como tratamento pós-colheita de frutas, induzindo a atuação de quitinases, que são enzimas capazes de atuar degradando o revestimento externo de insetos e fungos (Hashmi et al., 2013).

2.3. O sistema de estudo: milho e *Spodoptera frugiperda*

O milho é um dos principais grãos produzidos no Brasil, representando grande importância para a alimentação humana e animal. A planta de milho, por sua vez, é o substrato alimentar preferencial da lagarta-cartucho-do-milho, *S. frugiperda*, principal praga da cultura no país, atacando desde plantas jovens às espigas (Cruz, 1995). Este inseto polífago apresenta grande capacidade de dispersão e ocupa regiões que estão compreendidas do Uruguai ao sudeste dos Estados Unidos (Nagoshi e Meagher, 2008). Este herbívoro possui de 4 a 7 instars, que variam conforme a alimentação e condições abióticas e, o ciclo total, de ovo-adulto, é de cerca de 30 dias (Sparks, 1979).

A interação entre milho e *S. frugiperda* é bastante estudada devido à importância econômica desses organismos para muitas regiões agrícolas do mundo. Dessa forma, além do conhecimento da preferência de fêmeas da mariposa por plantas de milho não atacadas (Signoretti et al., 2012), alguns estudos apontam a preferência das lagartas por voláteis de plantas de milho já atacadas por coespecíficos, o que pode indicar uma boa qualidade nutricional do hospedeiro ou debilidade das defesas da planta, mediados parcialmente pelo monoterpeno β -linalool (Carroll et al., 2006; Carroll et al., 2008; Von Mérey et al., 2013). Por outro lado, tem sido relatado que o consumo foliar do milho pela *S. frugiperda* induz a expressão de genes relacionados às vias metabólicas de defesa da planta (Chuang et al., 2014). Além disso, já são conhecidos os genomas do milho (Hake e Walbot, 1980) e da lagarta-cartucho-do-milho (Kakumani et al., 2014), fornecendo subsídio para manipulação genética desses organismos.

3. TEXTO DE SISTEMATIZAÇÃO

Nas próximas páginas encontra-se o manuscrito resultante desta dissertação, sendo que as figuras e tabelas que o complementam estão nas últimas páginas após as referências. Os resultados contidos no documento evidenciam que a pressão barométrica altera o comportamento alimentar de *S. frugiperda*, entretanto não influencia na produção de defesas por plantas intactas e não interfere na relação planta-inseto herbívoro. Nós discutimos esses efeitos baseado em alterações fisiológicas dos organismos. Este foi um trabalho pioneiro dentro da área de ecologia química, que contou com o desenvolvimento de dispositivos experimentais inéditos, passíveis de implementação em diversos ensaios biológicos.

Referências

- AUSTIN, C. J.; GUGLIELMO, C. G.; MOEHRING, A. J. A direct test of the effects of changing atmospheric pressure on the mating behavior of *Drosophila melanogaster*. **Evolutionary Ecology**, v. 28, n. 3, p. 535-544, 2014. ISSN 0269-7653.
- BARI, R.; JONES, J.D.G. Role of plant hormones in plant defence responses. **Plant Molecular Biology**, v. 69, n. 4, p. 473-488, 2009.
- BARRY, R. G.; CHORLEY, R. J. **Atmosphere, Weather and Climate**. Routledge, 2009. ISBN 1135267499.
- BRAAM, J. In touch: plant responses to mechanical stimuli. **New Phytologist**, v. 165, n. 2, p. 373-389, 2005. ISSN 1469-8137.
- BRUCE, T. J. Interplay between insects and plants—dynamic and complex interactions that have coevolved over millions of years but act in milliseconds. **Journal of Experimental Botany**, p. eru391, 2014. ISSN 0022-0957.
- CARROLL, M. J. et al. Attraction of *Spodoptera frugiperda* larvae to volatiles from herbivore-damaged maize seedlings. **Journal of Chemical Ecology**, v. 32, n. 9, p. 1911-1924, 2006. ISSN 0098-0331.
- CARROLL, M. J.; SCHMELZ, E. A.; TEAL, P. E. The attraction of *Spodoptera frugiperda* neonates to cowpea seedlings is mediated by volatiles induced by conspecific herbivory and the elicitor inceptin. **Journal of Chemical Ecology**, v. 34, n. 3, p. 291-300, 2008. ISSN 0098-0331.
- CHUANG, W.-P. et al. Herbivore cues from the fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) larvae trigger direct defenses in maize. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 27, n. 5, p. 461-470, 2014. ISSN 0894-0282.
- COOLEN, S. et al. Transcriptome dynamics of *Arabidopsis* during sequential biotic and abiotic stresses. **The Plant Journal**, v. 86, n. 3, p. 249-267, 2016. ISSN 1365-313X.
- COREY, K. A.; BARTA, D.; WHEELER, R. Toward Martian agriculture: responses of plants to hypobaria. **Life Support & Biosphere Science: International Journal of Earth Space**, v. 8, n. 2, p. 103-114, 2001. ISSN 1069-9422.
- CRUZ, I. A lagarta-do-cartucho na cultura do milho. **Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo**, 1995.
- DAGAEFF, A.-C. et al. *Drosophila* mate copying correlates with atmospheric pressure in a speed learning situation. **Animal Behaviour**, v. 121, p. 163-174, 2016. ISSN 0003-3472.
- DE MORAES, C. M.; MESCHER, M. C.; TUMLINSON, J. H. Caterpillar-induced nocturnal plant volatiles repel conspecific females. **Nature**, v. 410, n. 6828, p. 577-580, 2001. ISSN 0028-0836.
- DELANEY, T. P. et al. A central role of salicylic acid in plant disease resistance. **Science**, v. 266, n. 5188, p. 1247, 1994.
- DU, J. et al. An Experimental Study of the Effects of Low Barometric Pressure on Human Hearing Level. **Proceedings of the 15th International Conference on Man–Machine–Environment System Engineering**, 2015, Springer. p.563-570.

- ERB, M.; MELDAU, S.; HOWE, G. A. Role of phytohormones in insect-specific plant reactions. **Trends in Plant Science**, v. 17, n. 5, p. 250-259, 2012. ISSN 1360-1385.
- FONTANA, A. et al. Attractiveness of constitutive and herbivore-induced sesquiterpene blends of maize to the parasitic wasp *Cotesia marginiventris* (Cresson). **Journal of Chemical Ecology**, v. 37, n. 6, p. 582-591, 2011. ISSN 0098-0331.
- FOURNIER, F. et al. Effect of barometric pressure on flight initiation by *Trichogramma pretiosum* and *Trichogramma evanescens* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Environmental Entomology**, v. 34, n. 6, p. 1534-1540, 2005. ISSN 0046-225X.
- GOINGUENÉ, S. P.; TURLINGS, T. C. The effects of abiotic factors on induced volatile emissions in corn plants. **Plant Physiology**, v. 129, n. 3, p. 1296-1307, 2002. ISSN 1532-2548.
- HAKE, S.; WALBOT, V. The genome of *Zea mays*, its organization and homology to related grasses. **Chromosoma**, v. 79, n. 3, p. 251-270, 1980. ISSN 0009-5915.
- HASHMI, M. S. et al. Hypobaric treatment stimulates defence-related enzymes in strawberry. **Postharvest Biology and Technology**, v. 85, p. 77-82, 2013. ISSN 0925-5214.
- HE, C.; DAVIES, F. T. Ethylene reduces plant gas exchange and growth of lettuce grown from seed to harvest under hypobaric and ambient total pressure. **Journal of Plant Physiology**, v. 169, n. 4, p. 369-378, 2012. ISSN 0176-1617.
- HE, C. et al. Effect of hypobaric conditions on ethylene evolution and growth of lettuce and wheat. **Journal of Plant Physiology**, v. 160, n. 11, p. 1341-1350, 2003. ISSN 0176-1617.
- HE, C. et al. Hypobaria and hypoxia affects phytochemical production, gas exchange, and growth of lettuce. **Photosynthetica**, v. 51, n. 3, p. 465-473, 2013. ISSN 0300-3604.
- HEIL, M. Damaged-self recognition in plant herbivore defence. **Trends in Plant Science**, v. 14, n. 7, p. 356-363, 2009. ISSN 1360-1385.
- HOBALLAH, M. E. F.; TAMÒ, C.; TURLINGS, T. C. Differential attractiveness of induced odors emitted by eight maize varieties for the parasitoid *Cotesia marginiventris*: is quality or quantity important? **Journal of Chemical Ecology**, v. 28, n. 5, p. 951-968, 2002. ISSN 0098-0331.
- HOGENHOUT, S. A.; BOS, J. I. Effector proteins that modulate plant–insect interactions. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 14, n. 4, p. 422-428, 2011. ISSN 1369-5266.
- HOLOPAINEN, J. K.; GERSHENZON, J. Multiple stress factors and the emission of plant VOCs. **Trends in Plant Science**, v. 15, n. 3, p. 176-184, 2010. ISSN 1360-1385.
- HOLTON, J. R.; HAKIM, G. J. **An introduction to Dynamic Meteorology**. Academic press, 2012. ISBN 0123848679.
- HOWE, G. A.; JANDER, G. Plant immunity to insect herbivores. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 41-66, 2008. ISSN 1543-5008.
- HURLEY, J. V.; BOOS, W. R. A global climatology of monsoon low-pressure systems. **Quarterly Journal of the Royal Meteorological Society**, 2014. ISSN 1477-870X.
- KAKUMANI, P. K. et al. A draft genome assembly of the army worm, *Spodoptera frugiperda*. **Genomics**, v. 104, n. 2, p. 134-143, 2014. ISSN 0888-7543.
- KESSLER, A.; BALDWIN, I. T. Defensive function of herbivore-induced plant volatile emissions in nature. **Science**, v. 291, n. 5511, p. 2141-2144, 2001. ISSN 0036-8075.

- KOO, A. J.; HOWE, G. A. The wound hormone jasmonate. **Phytochemistry**, v. 70, n. 13, p. 1571-1580, 2009. ISSN 0031-9422.
- LESKEY, T. C.; PROKOPY, R. J. Influence of barometric pressure on odor discrimination and oviposition by adult plum curculios (Coleoptera: Curculionidae). **European Journal of Entomology**, v. 100, n. 4, p. 517-520, 2003. ISSN 1210-5759.
- LORETO, F.; SCHNITZLER, J.-P. Abiotic stresses and induced BVOCs. **Trends in Plant Science**, v. 15, n. 3, p. 154-166, 2010. ISSN 1360-1385.
- MARCHAND, D.; MCNEIL, J. N. Effects of wind speed and atmospheric pressure on mate searching behavior in the aphid parasitoid *Aphidius nigripes* (Hymenoptera: Aphidiidae). **Journal of Insect Behavior**, v. 13, n. 2, p. 187-199, 2000. ISSN 0892-7553.
- MCALINDON, T. et al. Changes in barometric pressure and ambient temperature influence osteoarthritis pain. **The American Journal of Medicine**, v. 120, n. 5, p. 429-434, 2007. ISSN 0002-9343.
- MCCORMICK, A. C.; UNSICKER, S. B.; GERSHENZON, J. The specificity of herbivore-induced plant volatiles in attracting herbivore enemies. **Trends in Plant Science**, v. 17, n. 5, p. 303-310, 2012. ISSN 1360-1385.
- MCFARLANE, D. J. et al. Behavioral Responses of a Tiny Insect, the Flower Thrips *Frankliniella schultzei* Trybom (Thysanoptera, Thripidae), to Atmospheric Pressure Change. **Journal of Insect Behavior**, v. 28, n. 4, p. 473-481, 2015. ISSN 0892-7553.
- MITHÖFER, A.; BOLAND, W. Plant defense against herbivores: chemical aspects. **Annual Review of Plant Biology**, v. 63, p. 431-450, 2012. ISSN 1543-5008.
- MOTT, K.; PARKHURST, D. Stomatal responses to humidity in air and helox. **Plant, Cell & Environment**, v. 14, n. 5, p. 509-515, 1991. ISSN 1365-3040.
- MUSIOLEK, D.; KOČÁREK, P. Weather-dependent microhabitat use by *Tetrix tenuicornis* (Orthoptera: Tetrigidae). **The Science of Nature**, v. 103, n. 7-8, p. 68, 2016. ISSN 0028-1042.
- NAGOSHI, R. N.; MEAGHER, R. L. Review of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) genetic complexity and migration. **Florida Entomologist**, v. 91, n. 4, p. 546-554, 2008. ISSN 0015-4040.
- NGUYEN, D. et al. How plants handle multiple stresses: hormonal interactions underlying responses to abiotic stress and insect herbivory. **Plant Molecular Biology**, v. 91, n. 6, p. 727-740, 2016. ISSN 0167-4412.
- OZTURK, Z. N. et al. Monitoring large-scale changes in transcript abundance in drought-and salt-stressed barley. **Plant Molecular Biology**, v. 48, n. 5-6, p. 551-573, 2002. ISSN 0167-4412.
- PARK, S. et al. Methyl salicylate is a critical mobile signal for plant systemic acquired resistance. **Science**, v. 318, n. 5847, p. 113-116, 2007.
- PAUL, A.-L. et al. Hypobaric biology: *Arabidopsis* gene expression at low atmospheric pressure. **Plant Physiology**, v. 134, n. 1, p. 215-223, 2004. ISSN 0032-0889.
- PELLEGRINO, A. C. et al. Weather forecasting by insects: modified sexual behaviour in response to atmospheric pressure changes. 2013. ISSN 1932-6203.
- PIETERSE, C. M. et al. Hormonal modulation of plant immunity. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, v. 28, p. 489-521, 2012. ISSN 1081-0706.

- ROUSSE, P. et al. Biotic and abiotic factors affecting the flight activity of *Fopius arisanus*, an egg-pupal parasitoid of fruit fly pests. **Environmental Entomology**, v. 38, n. 3, p. 896-903, 2009. ISSN 0046-225X.
- SCHORY, T. J. et al. Barometric pressure, emergency psychiatric visits, and violent acts. **The Canadian Journal of Psychiatry**, v. 48, n. 9, p. 624-627, 2003. ISSN 0706-7437.
- SHULMAN, B. S. et al. Nature's wrath—The effect of weather on pain following orthopaedic trauma. **Injury**, v. 47, n. 8, p. 1841-1846, 2016. ISSN 0020-1383.
- SIGNORETTI, A.; PEÑAFLORES, M.; BENTO, J. Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)(Lepidoptera: Noctuidae), female moths respond to herbivore-induced corn volatiles. **Neotropical Entomology**, v. 41, n. 1, p. 22-26, 2012. ISSN 1519-566X.
- SMITH, E. A.; SHIELDS, E.; NAULT, B. Impact of Abiotic Factors on Onion Thrips (Thysanoptera: Thripidae) Aerial Dispersal in an Onion Ecosystem. **Environmental Entomology**, p. nvw089, 2016. ISSN 0046-225X.
- SPARKS, A. N. A review of the biology of the fall armyworm. **Florida Entomologist**, p. 82-87, 1979. ISSN 0015-4040.
- TANG, Y. et al. The morphology, physiology and nutritional quality of lettuce grown under hypobaric and hypoxia. **Acta Astronautica**, v. 112, p. 29-36, 2015. ISSN 0094-5765.
- TANNER, E.; KAPOV, V.; HEALEY, J. Hurricane effects on forest ecosystems in the Caribbean. **Biotropica**, p. 513-521, 1991. ISSN 0006-3606.
- TILMANT, J. T. et al. Hurricane Andrew's effects on marine resources. **BioScience**, v. 44, n. 4, p. 230-237, 1994. ISSN 0006-3568.
- TOOKER, J. F.; DE MORAES, C. M. Feeding by a gall-inducing caterpillar species alters levels of indole-3-acetic and abscisic acid in *Solidago altissima* (Asteraceae) stems. **Arthropod-Plant Interactions**, v. 5, n. 2, p. 115-124, 2011. ISSN 1872-8855.
- TURLINGS, T. C. et al. The induction of volatile emissions in maize by three herbivore species with different feeding habits: possible consequences for their natural enemies. **Biological Control**, v. 11, n. 2, p. 122-129, 1998. ISSN 1049-9644.
- TURLINGS, T. C. et al. Timing of induced volatile emissions in maize seedlings. **Planta**, v. 207, n. 1, p. 146-152, 1998. ISSN 0032-0935.
- VON MÉRÉY, G. E. et al. Herbivore-induced maize leaf volatiles affect attraction and feeding behavior of *Spodoptera littoralis* caterpillars. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, 2013.
- VUORINEN, T.; NERG, A.-M.; HOLOPAINEN, J. K. Ozone exposure triggers the emission of herbivore-induced plant volatiles, but does not disturb tritrophic signalling. **Environmental Pollution**, v. 131, n. 2, p. 305-311, 2004. ISSN 0269-7491.
- WALKER, G. P.; NAULT, L. R.; SIMONET, D. E. Natural mortality factors acting on potato aphid (*Macrosiphum euphorbiae*) populations in processing-tomato fields in Ohio. **Environmental Entomology**, v. 13, n. 3, p. 724-732, 1984. ISSN 0046-225X.
- WASTERNAK, C.; HAUSE, B. Jasmonates: biosynthesis, perception, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. An update to the 2007 review in Annals of Botany. **Annals of Botany**, v. 111, n. 6, p. 1021-1058, 2013. ISSN 0305-7364.

- WELLINGTON, W. Some reactions of muscoid Diptera to changes in atmospheric pressure. **Canadian Journal of Research**, v. 24, n. 4, p. 105-117, 1946a. ISSN 1923-4287.
- WELLINGTON, W. The effects of variations in atmospheric pressure upon insects. **Canadian Journal of Research**, v. 24, n. 2, p. 51-70, 1946b. ISSN 1923-4287.
- ZAGVAZDINA, N. et al. Effects of atmospheric pressure trends on calling, mate-seeking, and phototaxis of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 108, n. 5, p. 762-770, 2015.

SOB PRESSÃO: COMPORTAMENTO ALIMENTAR DE *Spodoptera frugiperda* E DEFESAS INDUZIDAS DE PLANTAS DE MILHO EM DIFERENTES PRESSÕES BAROMÉTRICAS

Resumo

A percepção da oscilação da pressão barométrica altera diversos comportamentos dos insetos, garantindo estratégias de sobrevivência frente às alterações drásticas do tempo. Entretanto o comportamento alimentar contínuo de insetos herbívoros, assim como a indução de defesas de suas plantas hospedeiras nunca foram investigados em condições de manipulação da pressão barométrica. Frente a isso nós realizamos ensaios de desempenho alimentar da lagarta-do-cartucho-do-milho, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) e análise de compostos voláteis e níveis hormonais de plantas de milho, *Zea mays* L. (Poaceae), intactas e danificadas pelo herbívoro mediante a diferentes pressões barométricas. As lagartas consumiram maiores áreas foliares em pressão baixa do que alta, contudo não houve ganho de massa diferenciado nas pressões testadas. Plantas intactas, danificadas pela lagarta e com aplicação do regurgito de *S. frugiperda* não produziram defesas induzidas pela pressão barométrica. As plantas com indução pela alimentação e regurgito emitiram compostos voláteis apenas relacionados a herbivoria. Além disso, as plantas com indução mecânica apresentaram maiores níveis do fitohormônio ácido jasmônico. Nesse contexto, nós hipotetizamos que a pressão barométrica afeta o comportamento alimentar de *S. frugiperda* em condições de estresse, como pressão baixa, aumentando o consumo foliar e taxa metabólica das lagartas, o que resulta em incremento de massa similar a condições não estressantes. Em contrapartida, plantas de milho aparentemente não utilizam a pressão como fator abiótico preditor de alterações climáticas e aumento de herbivoria. Para o melhor do nosso conhecimento, este foi o primeiro estudo a investigar os efeitos da pressão barométrica na interação planta-inseto herbívoro e os resultados obtidos podem repercutir na inclusão da pressão como fator que remodela ensaios biológicos.

Palavras-chaves: Pressão atmosférica; Interação planta-inseto; Lagarta-do-cartucho-do-milho; Fitohormônios; Fator abiótico

UNDER PRESSURE: FEEDING BEHAVIOR OF *Spodoptera frugiperda* AND MAIZE INDUCED DEFENCES IN DIFFERENT BAROMETRIC PRESSURES

Abstract

Sensing barometric pressure variation modifies several insect behaviors, ensuring insect survival while dealing with radical oscillations in weather. However, the feeding behavior of herbivore insects and the induced defenses of their host plants had never been investigated under controlled pressure conditions. Aware of that, we have conducted under different barometric pressures feeding performance assays with armyworms, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) and organic volatile compounds and hormone levels analysis of intact and damaged maize plants, *Zea mays* L. (Poaceae). The armyworms consumed greater leaf areas under low pressure, yet the weight gain was equivalent under all tested pressures. All the plant treatments did not displayed induced defenses influenced by the barometric pressure. Regurgitant-treated and hervivore-damaged plants released volatile compounds only regarding to herbivory. Besides that, plants with mechanical induction presented higher levels of the phytohormone jasmonic acid. In this context, we have hypothesized that the pressure affects the behavior of *S. frugiperda*. Furthermore stressful conditions, as low pressure, increase the leaf area consumption and the metabolic rates of armyworms, resulting in weight gain similar to non-stressful conditions. On the other hand, maize plants apparently do not access pressure as an abiotic predictor of weather oscillations and herbivory increase. To the best of our knowledge, this was the first study to investigate the effects of barometric pressure in the plant-herbivore insect interaction and the obtained results can rebound in the inclusion of pressure as a redesigned factor for biological essays.

Key-words: Atmospheric pressure; Plant-insect interaction; Fall armyworm; Phytohormones; Abiotic factor

Introdução

A capacidade de resistir ou escapar de alterações climáticas abruptas são imprescindíveis para os insetos, visto seu tamanho diminuto [1, 2]. Os insetos assim como animais vertebrados possuem a habilidade de antever a proximidade de variações do tempo que representam perigo. Nesse sentido, já foi relatado, por exemplo, que tubarões [3] e serpentes marinhas [4] se orientam para águas profundas e seguras antes da chegada de tempestades tropicais, do mesmo modo que os insetos reduzem o engajamento em voos [5-7] com a proximidade de fortes chuvas. Surpreendentemente, em ambos os fenômenos as variações comportamentais decorrem previamente às alterações de fatores usuais para predições do tempo, como temperatura, ventos e precipitação. O fator abiótico responsável por essas estratégias de sobrevivência permanece pouco contemplado na maioria dos estudos: a pressão barométrica [3-6]. Nesse sentido, a pressão geralmente é o primeiro componente a oscilar nas variações do tempo, decaindo consideravelmente horas antes de ciclones (< 30 mbar) e fortes chuvas (< 5 mbar) [8], podendo desempenhar papel central no comportamento dos insetos sob possíveis condições adversas, garantindo sua sobrevivência no ambiente [9].

Além de atuar como variável de predição de condições severas do tempo, a pressão barométrica pode também, por outro lado, indicar a chegada de um estímulo favorável, desencadeando respostas benéficas nos insetos, visando o aumento de seu sucesso reprodutivo. Pressões barométricas estáveis e altas indicam dias ensolarados e com poucos ventos [8], e estão diretamente relacionadas ao aumento de respostas olfativas frente aos feromônios sexuais [10], cópulas [11, 12] e busca de hospedeiros por parasitoides [13-16]. Alternativamente, longos períodos ensolarados favorecem a atividade fotossintética das plantas e seu incremento de biomassa, o que repercute em maior forrageio, herbivoria e explosão populacional dos insetos [17, 18].

Nesse contexto, aliado a habilidade de prever e sobrepujar adversidades climáticas por meio da percepção da pressão barométrica, a sobrevivência e sucesso reprodutivo de insetos herbívoros também é dependente das interações que eles estabelecem com sua fonte de alimento [19]. As plantas, apesar de serem sésseis, apresentam sofisticados mecanismos de defesas contra herbivoria, que podem agir diretamente, por meio barreiras físicas e compostos tóxicos ao herbívoro [20], ou

indiretamente, a partir da emissão de compostos orgânicos voláteis (VOC's) que recrutam inimigos naturais do herbívoro [21]. Assim, embora a habilidade de alguns insetos utilizarem a pressão barométrica como pista para alteração de comportamentos esporádicos, dentre os quais cópula [11, 22] e voo [6, 7], pouco se sabe sobre a influência desta variável como predição para a herbivoria e, consequentemente, para defesas induzidas nas plantas.

As defesas das plantas são primariamente reguladas pelas vias hormonais, como as via do ácido jasmônico (AJ), salicílico (AS) e abscísico (ABA), sendo que a intensidade de ativação é regulada pela herbivoria e/ou alterações de fatores abióticos [23, 24]. É muito conhecido que as vias do AJ atuam principalmente na regulação de defesas contra insetos mastigadores, ao passo que o AS atua contra insetos sugadores e no *cross-talk* negativo com o AJ [25]. Além disso, o ABA regula alterações fisiológicas relacionadas a estresses abióticos como a seca e encharcamento, podendo co-atuar na indução de vias do AJ [24]. Interessantemente, trabalhos que observaram alterações fisiológicas de plantas em pressões muito baixas evidenciaram redução da abertura estomática e aumento da fotossíntese [26, 27], assim como ativação de vias defensivas pelo AJ e ABA [28-30]. Adicionalmente, a queda da pressão barométrica pode aumentar a disponibilidade de gás carbônico e níveis de oxigênio reativo nas células vegetais [31], levando ao incremento na produção de isopreno e monoterpenos [32], compostos primordiais para defesas [33], os quais pode compor o contra-ataque de plantas, mediante a explosão populacional de insetos herbívoros decorrentes nos períodos de precipitação. Entretanto, investigações de um possível mecanismo de antecipação das defesas baseadas na pressão barométricas são raramente exploradas. Os estudos sobre a resposta das plantas frente a mudanças na pressão barométrica objetivaram somente condições hipobáricas para crescimento de vegetais em Marte [27, 31]. A capacidade das plantas de previamente detectar e se preparar para mudanças climáticas adversas mediante a pressão barométrica em condições locais ainda permanece obscura.

Dado a escassez de estudos e a relevância do assunto para trabalhos de campos e em condições laboratoriais controladas, nós utilizamos o inseto herbívoro, lagarta-cartucho-do-milho, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) e plântulas de milho, *Zea mays* ssp. *mayz* L. (Poaceae), para avaliar respostas isoladas e em conjunto frente a oscilações da pressão controladas em uma câmara

barométrica e relacionadas as mudanças do tempo. A resposta de *S. frugiperda* frente a pressão alta, estável ou baixa foi mensurada pelo desempenho alimentar em discos foliares. A indução de defesas de plântulas de milho intactas e danificadas por *S. frugiperda* após variação da pressão foi avaliada a partir da coleta de compostos orgânicos voláteis e a quantificação dos níveis hormonais. Adicionalmente, para investigar se as defesas induzidas na planta de milho não foram influenciadas pelo comportamento alimentar de *S. frugiperda*, alterado pela pressão barométrica, as plantas foram induzidas automatizadamente com o regurgito das lagartas. A nossa hipótese inicial foi que a oscilação abrupta da pressão promoveria a diminuição no comportamento alimentar [22] e, conseqüentemente, a diminuição nas defesas de plantas intactas e induzidas pela herbivoria, como estratégia de conservação de energia frente ao início de condições ambientais adversas.

Material e métodos

Plantas e insetos

Sementes de milho, *Z. mays* ssp. *mays*, da variedade Delprim (Delley Semences et Plantes SA) foram plantadas em copos plásticos (250 mL) contendo substrato comercial Basiplant® e fertilizadas com 0,02 g de Golden Mix® (20N: 20P: 20K). As plantas foram mantidas em casa de vegetação telada e livre de insetos, sob condições naturais de luz, temperatura e umidade (18-34°C, UR 50±10%) por 10 dias, até apresentarem duas folhas parcialmente desdobrada e a terceira em início de brotação. Lagartas-cartucho-do-milho, *S. frugiperda* foram mantidas em condições laboratoriais (23 ± 2°C, RH 50 ± 10%, 12L:12D) e alimentadas com dieta artificial [34].

Variação na pressão barométrica

Os dados de estações meteorológicas automáticas do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) foram utilizados para determinar a média e variação máxima anual da pressão barométrica na localidade onde o estudo foi conduzido (Piracicaba-SP, Brasil, 22°43'31" S, 47° 38'57" W e 566 m). Com base nisso, foram adotados três patamares de pressão nos bioensaios: (i) pressão estável (PE), 950 mbar; (ii) pressão alta (PA), 958 mbar; e (iii) pressão baixa (PB), 942 mbar. Esses valores de pressão foram regulados por uma câmara barométrica de acrílico (50 cm de altura, 80 cm de comprimento, 40 cm de profundidade), contida nas instalações do Laboratório de

Ecologia Química e Comportamento de Insetos (Esalq/USP). A câmara foi composta por duas válvulas solenoides Norgren© ¼", um sensor de pressão YOUNG© modelo 61302V, uma bomba de vácuo/compressão, e um sistema de aquisição e controle de dados.

No início de cada experimento, plantas de milho e/ou lagartas de *S. frugiperda* foram acondicionados dentro da câmara barométrica, que foi selada hermeticamente, e mantida em condições controladas de temperatura, umidade e iluminação artificial ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, $70\% \pm 10\%$, 2500 lux). Considerando que a pressão barométrica ambiental varia constantemente, a pressão dentro da câmara foi regulada para atingir $950 \pm 0,03$ mbar dentro de uma hora em todos os experimentos. Em seguida, a pressão foi mantida estável por 5 horas para aclimação dos organismos. Posteriormente, a pressão foi reduzida a taxas constantes por 6h, até atingir os valores desejados de PA, PB ou manutenção em PE. A partir do alcance destes patamares, os testes foram iniciados e duraram 12h. Os horários de início da variação da pressão e, conseqüentemente, do período de 12h de avaliação dos ensaios foram sempre fixos, às 19h, e das 7-19h (fotoperíodo), respectivamente.

Desempenho alimentar de S. frugiperda

Para avaliar se a pressão barométrica interfere no desempenho alimentar de *S. frugiperda* de modo independente de uma possível influência pela produção de defesas da planta, foram testadas o ganho de massa e área foliar consumida das lagartas em discos foliares de milho frente à PE, PA e PB. Para este ensaio, foi desenvolvido um dispositivo automático composto por uma caixa de acrílico (27 cm de altura, 11 cm de comprimento, 11 cm de largura) com dois compartimentos verticais separados por uma rampa giratória conectada a um motor de giro, acionado via controle remoto (Fig. 1a). Lagartas de 5º instar foram pesadas e acondicionadas no compartimento superior do dispositivo automático, conjuntamente com um fragmento foliar ($\pm 0,5 \text{ cm}^2$), suficiente somente para evitar uma inanição das lagartas até o início do ensaio. No compartimento inferior do dispositivo foi acondicionada uma placa de Petri (6 cm de diâmetro) contendo gesso umedecido e um disco foliar de milho (4,7 cm de diâmetro). A câmara barométrica foi então fechada e iniciou-se a variação da pressão até as pressões de ensaio. Ao atingir PA, PB ou PE, o controle remoto do dispositivo automático foi acionado, rotacionando a rampa entre os dois compartimentos e permitindo que a lagarta tivesse acesso e consumisse o disco foliar

nas 12 horas seguidas. Após este período, as lagartas foram retiradas do sistema e sua massa foi mensurada novamente. Os discos foliares foram escaneados e as suas imagens analisadas no software Image J 1.44P (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) para o cálculo da área foliar consumida (cm²). Foram realizadas seis repetições para cada condição de oscilação de pressão. Cada repetição foi conduzida individualmente e consistiu da média de valores obtidos para quatro pseudo-repetições.

Figura 1. Dispositivos automatizados desenvolvidos para ensaio na câmara barométrica. (a) ensaio de desempenho alimentar: caixa de acrílico acoplada a motor de giro com compartimentalização para disco foliar de milho e lagarta de *Spodoptera frugiperda*, (b) indução do milho pela herbivoria: cuba de vidro acoplada a motor de giro com compartimentalização para planta e lagarta *S. frugiperda*, e (c) indução mecânica do milho: lixa e seringa acopladas a motor de giro para raspagem do limbo foliar e aplicação de regurgito de *S. frugiperda*

Coleta e análise de voláteis: indução pela pressão e herbivoria

Compostos orgânicos voláteis de plantas de milho intactas (denominadas: controles ou “Cont”) e plantas danificadas pela herbivoria de *S. frugiperda* (denominadas “Sf”) foram coletados mediante indução de diferentes condições de pressão barométrica. Para indução apenas pela pressão barométrica, uma plântula intacta foi acondicionada em uma cuba vertical (10 cm de diâmetro, 5 cm de altura), contendo um filtro de carvão ativado na extremidade superior, a fim de permitir a regulação da pressão internamente e evitar contaminações. Para indução pela pressão barométrica seguida pela herbivoria, plantas de milho foram acondicionadas no compartimento inferior e uma lagarta de 5º instar de *S. frugiperda* no compartimento superior de uma cuba de vidro (46 cm de altura, 8,5 cm de diâmetro), com rampa rotatória entre as divisões, conectada a um motor de giro acionado via controle remoto (Fig. 1b). A lagarta de *S. frugiperda* ficou restrita a uma gaiola de Teflon® (5 cm de comprimento, 2 cm de diâmetro), com uma pequena porção de folha de milho para alimentação até início do ensaio após a variação da pressão. Na extremidade lateral inferior das cubas de vidro foi acoplada uma bomba de pressão conectada a um filtro de carvão ativado e, na extremidade lateral superior, um filtro contendo polímero adsorvente Haysep® (30 mg, Supelco, PA, USA) ligado a sílica em gel e uma bomba a vácuo. Posteriormente, a câmara foi fechada hermeticamente, e a variação de pressão foi iniciada até atingir PE, PA ou PB. Ao atingir estes patamares de pressão, o controle remoto do dispositivo automático da cuba de vidro para indução pela herbivoria foi acionado liberando o acesso à planta pela lagarta. Concomitantemente, as bombas para aeração dos compostos orgânicos voláteis foram ligadas, e o fluxo de ar regulado para 0,4 L/min de pressão e 0,2 L/min de vácuo em cada cuba, sendo que a coleta dos compostos foi realizada durante 12 horas no fotoperíodo (7-19h). Após esta etapa, a câmara barométrica foi aberta, o filtro de polímero foi lavado com 150 µL de hexano e os extratos estocado em vials em freezer -30°C até a análise. Em cada amostra foi adicionado 20 ng de acetato de nonila como padrão interno. Posteriormente, foi injetado uma alíquota de 2 µL de cada amostra em um cromatógrafo gasoso por ionização de chama (GC-FID) Shimadzu usando Hélio como gás de arraste e coluna capilar apolar HP1 (JeW Scientific, Folsom, CA; 30m x 0,25mm x 0,25 µm). A temperatura da coluna foi mantida a 40°C por 5 min, elevada a uma taxa de 5°C/min até atingir 150°C e depois a 20°C/min até 250°C. A quantificação de cada composto

foi realizada por meio da sua área de pico comparada à área de pico do padrão interno. A confirmação da identidade dos compostos foi conduzida pela injeção das amostras em um cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas (GC-MS) Shimadzu Quadripolo QP2010 Ultra, também utilizando Hélio como gás de arraste, coluna capilar apolar HP1 e programação de aquecimento idêntica ao utilizada no GC-FID. Os compostos foram identificados comparando-se os espectros de massa com os da biblioteca NIST08, índice de Kovats (KI), assim como com o espectro dos padrões sintéticos, quando disponível. Foram realizadas seis repetições de plantas intactas e induzidas pela herbivoria de *S. frugiperda* para cada condição de pressão.

Quantificação de hormônios vegetais: indução pela pressão e herbivoria

Foram realizadas a extração e detecção dos níveis de ácido jasmônico (AJ), ácido salicílico (AS) e ácido abscísico (ABA) das plântulas de milho utilizadas em todos os ensaios [35, 36]. Logo após a coleta de voláteis das plantas de milho, foram retiradas e pesadas cerca de 100 mg de tecido vegetal, que foi imediatamente congelado em nitrogênio líquido e mantido em freezer a -80°C até o processamento da amostra. Posteriormente, o material foi homogeneizado e os fitohormônios das amostras separados pela adição de diclorometano, transferidos para frascos e derivatizados a partir de ácidos carboxílicos em ésteres metílicos utilizando trimetilsilildiazometano (Sigma-Aldrich). O solvente foi evaporado em um fluxo de ar e o frasco de vidro contendo o material foi aquecido até 200°C por 2 min para a liberação dos voláteis. Os compostos foram coletados em filtros contendo o polímero Haysep® (30 mg) conectados a uma bomba a vácuo com fluxo de a 1L/min. Em seguida, os compostos retidos no polímero foram lavados utilizando 150 µL de diclorometano e os extratos mantidos em freezer a -80°C até a análise, dada pela injeção de uma alíquota de 1 µL de cada amostra no GC-MS. A temperatura da coluna foi mantida a 40°C por 1 min, elevada a uma taxa de 10°C/min até atingir 250°C. A identificação dos hormônios vegetais ocorreu com base na intensidade de íons e tempo de retenção dos íons $[M+H]^+$ dos ésteres metílicos dos hormônios naturais (AS: íon 153 e 7,5 min, $[M+H]^+$ íon 157 e 7,6 min; AJ: íon 225 e 11,7 min, $[M+H]^+$ íon 227 e 11,9 min; ABA: íon 279 e 14,1 min, $[M+H]^+$ íon 285 e 14,5 min). Foram realizadas seis repetições de plantas de milho intactas e induzidas pela herbivoria de *S. frugiperda* para cada condição de pressão.

Indução de defesas mecanicamente

A fim de excluir qualquer efeito do comportamento alimentar de *S. frugiperda*, alterado pela pressão barométrica nas defesas induzidas na planta pela herbivoria, foi desenvolvido um dispositivo automático para indução mecânica e aplicação de regurgito de lagartas de *S. frugiperda* em plantas intactas de milho (denominadas “Reg”) (Fig. 1c). O dispositivo automático consistiu de um suporte suspendendo uma broca mecânica com lixa e uma seringa de 10 μ L conectada a uma trava de porta de automóveis. Essas estruturas foram acopladas a um motor de giro ligado a um receptor de rádio acionado via controle remoto. Para os ensaios, uma planta de milho intacta foi acondicionada em uma cuba de vidro sem compartimentalizações (46 cm de altura, 8,5 cm de diâmetro), juntamente com o dispositivo automático. A parte superior da cuba foi revestida com um filtro de carvão ativado, a fim de isolar os compostos voláteis dentro da estrutura e evitar contaminações externas. Conjuntamente, uma planta intacta acondicionada em uma cuba de vidro (10 cm de diâmetro, 5 cm de altura) foi testada como controle (denominadas “Creg”). Nesse sentido, ao se atingir o patamar de pressão de ensaio, PA, PB ou PE, o controle remoto foi acionado e uma porção da segunda folha da planta de milho intacta foi machucada pela broca mecânica com lixa. Em seguida, a trava de carro foi acionada, empurrando o êmbolo da seringa e depositando na superfície machucada da folha 2,5 μ L de regurgito de lagartas de 5º instar de *S. frugiperda*, coletados um dia antes dos ensaios e estocados em freezer a -30°C. Concomitantemente a esta indução, o sistema de coleta de voláteis foi acionado. Dessa forma, a coleta e análise dos compostos voláteis e fitohormônios seguiu os mesmos procedimentos descritos anteriormente.

Análises estatísticas

Os dados de ganho de massa e área foliar consumida por *S. frugiperda* nos ensaios de desempenho alimentar foram analisados por um modelo linear generalizado misto (glmm), considerando a pressão como efeito fixo e as amostras como efeito aleatório, correlacionas com as sub-amostras, ou seja, as pseudo-repetições. Os dados de defesas induzidas na planta de milho foram testados por modelos lineares individuais para parcelas subdivididas. Os modelos foram ajustados a cada variável de resposta (compostos voláteis individuais, classes de compostos voláteis, total de voláteis emitidos e fitohormônios individuais), incluindo a influência da pressão e, quando pelo

menos uma observação para os tratamentos controles não era zero, o tratamento e a interação entre pressão e tratamento. Assim, para todos os dados foram realizados testes-F para avaliar a significância estatística dos efeitos fixos e as comparações múltiplas foram realizadas por meio da obtenção dos intervalos de confiança de 95% para os preditores lineares. A qualidade do ajuste foi avaliada utilizando gráficos semi-normais com envelopes de simulação [37]. Além disso, foi realizado uma análise de componente principal para as classes de compostos voláteis. Todas as análises foram realizadas no software estatístico R versão 3.1.1 (www.R-project.org).

Resultados

Desempenho alimentar de S. frugiperda

O consumo foliar de lagartas de *S. frugiperda* foi maior em condições de baixa pressão comparado a alta pressão, apesar de ambas não diferiram do consumo obtido em pressão estável (Fig. 2a, glmm, $F_{2,15} = 3,24$, $P = 0,04$). Adicionalmente, não houve diferença no ganho de massa das lagartas nos três patamares de pressão (Fig. 2b, glmm, $F_{2,15} = 1,08$, $P = 0,37$).

Figura 2. Ensaio de desempenho alimentar de *Spodoptera frugiperda* em diferentes pressões barométrica. Quantificação (média $\pm$ EP) da (a) área foliar consumida e (b) ganho de massa de lagartas de 5º instar. Letras iguais não diferem ao nível de significância de 5% de acordo com o modelo linear generalizado misto seguido do teste de Tukey para comparações múltiplas; ns = não significativo

Defesas da planta induzidas pela herbivoria

A emissão total de compostos orgânicos voláteis foi diferenciada entre plantas controle e induzidas pela herbivoria de *S. frugiperda* (Fig. 3, ANOVA, $F_{1,25} = 4,45$, $P = 0,04$). Entretanto, não houve diferença na emissão de classes de compostos químicos (ANOVA, $F_{2,10} < 0,91$, $P > 0,05$), total de compostos (ANOVA, $F_{2,25} = 0,40$, $P = 0,68$) ou compostos individuais (Tabela S1, ANOVA, $F_{2,10} < 1,48$, $P > 0,05$), destes tratamentos nas três diferentes pressões barométricas. O primeiro componente, que agregou 82,45% da variância, claramente separou plantas intactas de plantas danificadas por *S. frugiperda* na análise de componentes principais, indicando a atuação de todas as classes de compostos para essa distinção (Fig. 4a). Contudo, por essa análise não foi possível separar os tratamentos com relação ao efeito da pressão. Além disso, não houve diferença entre os tratamentos, nos níveis de AS (Fig. 5, ANOVA, $F_{2,30} = 0,79$, $P = 0,46$), AJ (ANOVA, $F_{2,30} = 0,63$, $P = 0,54$) e ABA (ANOVA, $F_{2,30} = 0,45$, $P = 0,64$).

Figura 3. Composição de voláteis de planta de milho intactas (controle) e induzidas pela herbivoria de *Spodoptera frugiperda* em diferentes pressões barométricas. Quantificação (média $\pm$ EP) das classes de compostos (a) voláteis de folha verde, (b) monoterpene, (c) homoterpeno (d) benzenoides, (e) sesquiterpenos e (f) total emitido. Letras iguais não diferem ao nível de significância de 5% de acordo com o modelo linear individual seguido do teste de Tukey para comparações múltiplas; ns = não significativo

Figura 4. Análise de componentes principais (PCA) com compostos voláteis de plantas de milho como variáveis e testados em pressão baixa (PB), estável (PE) e alta (PA). (a) PCA de plantas intactas (Cont) e induzidas pela herbivoria de *Spodoptera frugiperda* (Sf); (b) PCA de plantas intactas (Creg) e induzidas pela aplicação de regurgito de *S. frugiperda* (Reg)

■ Pressão Alta ■ Pressão Estável ■ Pressão Baixa

a) Ácido Jasmônico

b) Ácido Salicílico

c) Ácido Abscísico

Figura 5. Níveis de fitohormônios defensivos em folha de milho intactas (controle) e induzidas pela herbivoria de *Spodoptera frugiperda* em diferentes pressões barométricas. Quantidade dos hormônios (média $\pm$ EP): (a) ácido jasmônico, (b) ácido salicílico e (c) ácido abscísico, média $\pm$ EP. ns = não significativo, ao nível de 5% de acordo com o modelo linear individual seguido do teste de Tukey para comparações múltiplas

Defesas da planta induzidas mecanicamente

A emissão total de compostos foi similar entre os tratamentos nas três pressões barométricas testadas (Fig. 6, ANOVA, $F_{2,24} = 0,79$, $P = 0,46$). Com relação as classes de compostos, a emissão de voláteis de folha verde (ANOVA, $F_{1,24} = 9,05$, $P = 0,01$), sesquiterpenos (ANOVA, $F_{1,24} = 5,57$, $P = 0,03$) e homoterpeno (ANOVA, $F_{4,20} = 3,40$, $P = 0,03$) foi maior em plantas induzidas mecanicamente do que em plantas controle. Contrariamente, os monoterpenos foram liberados em maiores quantidades por plantas intactas do que plantas induzidas pelo regurgito (ANOVA, $F_{1,24} = 7,21$, $P = 0,01$). Não houve diferença no tipo de indução para emissão de benzenoides (ANOVA, $F_{4,20} = 1,42$, $P = 0,26$). Em adição, não houve efeito da pressão na emissão de compostos totais ou classes de compostos (ANOVA, $F_{1,12} < 4,14$, $P > 0,05$). Com relação aos compostos individuais, apenas o (E)-4,8-dimetil-1,3,7-nonatrieno (DMNT), E-2-hexenal, (E)-beta-farneseno e (E)- α -bergamoteno apresentaram diferença entre o tratamento, sendo liberados em maiores quantidades por plantas induzidas com regurgito do que plantas intactas (Tabela S2, ANOVA, $F_{1,12} > 3,40$, $P < 0,05$).

A análise de componentes principais distinguir plantas intactas de plantas com aplicação de regurgito pelo primeiro componente principal, que agregou 51,5% da variância (Fig. 4b). Além disso, plantas induzidas mecanicamente foram isoladas dos demais tratamentos, possivelmente relacionada a emissão de voláteis de folhas verdes e sesquiterpenos (Fig. 4b). Adicionalmente, não houve diferença nos níveis de AS (Fig. 7, ANOVA, $F_{2,24} = 1,48$, $P = 0,25$) e ABA (ANOVA, $F_{2,24} = 1,17$, $P = 0,33$) entre os tratamentos testados. Entretanto, os níveis de AJ foram maiores em plantas induzidas pelo regurgito do que plantas controles (ANOVA, $F_{2,24} = 11,84$, $P < 0,01$), apesar de não diferenciar entre as três condições de pressão barométrica (ANOVA, $F_{2,24} = 2,63$, $P = 0,09$).

Figura 6. Composição de voláteis de planta de milho intactas (controle) e induzidas pela aplicação de regurgito de *Spodoptera frugiperda* em diferentes pressões barométricas. Quantificação das classes de compostos (média ± EP): (a) voláteis de folha verde, (b) monoterpeno, (c) homoterpeno (d) benzenoides, (e) sesquiterpenos e (f) total emitido. Letras iguais não diferem ao nível de significância de 5% de acordo com o modelo linear individual seguido do teste de Tukey para comparações múltiplas; ns = não significativo

■ Pressão Alta ■ Pressão Estável ■ Pressão Baixa

a) Ácido Jasmônico

b) Ácido Salicílico

c) Ácido Abscísico

Figura 7. Níveis de fitohormônios defensivos em folha de milho intactas (controle) e induzidas pela aplicação do regurgito de *Spodoptera frugiperda* em diferentes pressões barométricas. Quantidade dos hormônios (média $\pm$ EP): (a) ácido jasmônico, (b) ácido salicílico e (c) ácido abscísico. Letras iguais não diferem ao nível de significância de 5% de acordo com o modelo linear individual seguido do teste de Tukey para comparações múltiplas; ns = não significativo

Discussão

Diversos estudos demonstram que os organismos alteram seu padrão de comportamento diante das adversidades, como uma estratégia de sobrevivência [38]. Embora ainda pouco investigada, a percepção dos insetos para as alterações da pressão barométrica no ambiente, parece ter um papel importante na história de vida e na redução de mortalidade desses organismos [22]. Nesse sentido, nossos resultados mostraram que lagartas de *S. frugiperda* aumentaram seu consumo foliar em pressão baixa do que em pressão alta, refutando nossa hipótese inicial de que a queda na pressão inibiria este comportamento alimentar. Contudo, para alguns insetos, como simúlideos [39] e grandes migrações alimentares de gafanhotos [9, 40], a condição de pressão baixa no ambiente aparentemente é um estímulo ao incremento alimentar, antecipando a chegada de ventos fortes prejudiciais ao forrageio. No caso de lagartas, como *S. frugiperda*, o aumento observado na atividade alimentar em pressão baixa poderia também representar uma estratégia adaptativa. Assim, o maior consumo de alimento aumentaria a capacidade de resistência do inseto [41], o que tenderia a maximizar o fitness em condições de alto risco de mortalidade e futura escassez de fontes alimentares adequadas [16]. Além disso, a maior alimentação e exposição em períodos de pressão baixa conferiria maior chance de sobrevivência para estas lagartas, visto que a busca hospedeira por parasitoides e predadores é menor sob essa condição abiótica [6, 7, 14, 16].

Os resultados dos ensaios de consumo indicaram que a área foliar ingerida em pressão barométrica estável não diferiu da consumida em pressão alta ou baixa. Isso pode ser atribuído ao fato de a pressão estável ser o ponto intermediário entre condições discrepantes do tempo [8], que repercutem diferentemente nas estratégias adotadas pelos organismos e mecanismos compensatórios de sobrevivência. Por sua vez, insetos maiores [16] e oriundos de ambientes com pouca variação e hostilidade [11] são menos sensíveis as alterações ambientais. Desse modo, a resposta menos definida de consumo em pressões estáveis poderia ser influenciada pelo tamanho robusto de lagartas de quinto instar de *S. frugiperda*, aliado ao comportamento inato de alimentação abrigada dentro do cartucho de plantas de milho [42].

A pressão barométrica não afetou o ganho de massa das lagartas de *S. frugiperda*, apesar do consumo foliar ter sido alterado. Aparentemente, o tempo utilizado nos

ensaios não foi suficiente para o incremento de massa, visto que as variações entre a massa final e inicial das lagartas foram pequenas ($< 0,05$ g). Uma hipótese contrária que também poderia explicar os resultados seria que o tempo de ensaio pode ter sido longo o suficiente para os insetos se aclimatarem à mudança de pressão [43]. Dessa forma, apesar de possivelmente as lagartas comerem mais nas horas iniciais em pressão baixa, pode ter ocorrido uma compensação de consumo das lagartas nas demais horas de experimento, quando nas outras pressões, por uma aclimação à condição abiótica [43], resultando em ganho de massa similar nas três pressões testadas. Adicionalmente, o comportamento alimentar é uma atividade essencial e contínua para estágios imaturos de Lepidoptera, e disfunções nesta atividade podem comprometer drasticamente o sucesso reprodutivo do adulto [44]. Sob este ponto de vista é esperado pouca alteração no ganho de massa das lagartas frente às mudanças na pressão, comparado com outros comportamentos esporádicos, como o acasalamento nos adultos [11, 22].

Subjacente a estes aspectos, geralmente a queda da pressão é acompanhada pela diminuição da pressão parcial de oxigênio nas regiões mais próximas do solo, podendo afetar tecidos e órgãos dos insetos [15, 45]. Devido a isso, a taxa respiratória de *S. frugiperda* pode ter aumentado quando em condição de pressão baixa, o que geraria aumento do metabolismo e do consumo energético, reduzindo o incremento de massa assimilada [9, 46]. Nesse cenário, apesar da potencial queda de pressão parcial de oxigênio ter sido ínfima [45], mudanças pequenas são capazes de ativar mecanismos compensatórios interno nos insetos amenizando efeitos colaterais [9], o que pode estar relacionado com diferentes consumos foliares e ganhos de massa similares nas três pressões testadas. Em adição, nós repetimos o ensaio de desempenho das lagartas privando-as de alimentação para avaliar possíveis efeitos fisiológicos a longo prazo da pressão barométrica (Fig. S1). Entretanto a pressão não influenciou na massa das lagartas, tempo de formação de pupa e massa das pupas após o ensaio, indicando que não houve alterações de outras variáveis associadas à pressão dentro da câmara barométrica.

Nós testamos plântulas de milho intactas a fim de avaliar quando a pressão barométrica influenciaria a indução de defesas nestas plantas, que é a fonte de alimento de lagartas de *S. frugiperda*. Distintas pressões barométricas não induziram defesas indiretas nas plantas intactas, que foram avaliadas pela emissão de

compostos orgânicos voláteis, e tão pouco elicitaram as vias hormonais do AS, AJ e ABA. A produção de compostos defensivos é custosa para as plantas, visto que recursos fotossintéticos assimilados para crescimento e reprodução necessitariam ser convertidos em defesas [47]. Nós hipotetizamos que as plantas intactas não produziram mecanismos de resistência frente a variação da pressão devido a uma estratégia de conservação de energia na ausência de comprometimento dos tecidos vegetais. Assim, similarmente ao que ocorre na indução de defesas por herbivoria ou infecção por patógenos, as defesas da planta só seriam ativadas após o primeiro dano físico [48], e a pressão barométrica, nesse caso, poderia potencializar este efeito.

Nesse sentido, nós observamos uma maior produção de compostos voláteis em plantas de milho induzidas pela herbivoria de *S. frugiperda*, do que em plantas intactas, independente da pressão testada. A maior emissão de voláteis por plantas induzidas pela herbivoria é amplamente relatada na interação milho-*Spodoptera* spp. [49-53], o que confere um mecanismo de resistência inerente à planta contra o desenvolvimento do herbívoro e recrutamento de inimigos naturais da lagarta [51, 52]. Adicionalmente, todas as classes de compostos emitidas foram responsáveis pela distinção dos tratamentos, de acordo com a análise de componentes principais, sendo que plantas intactas emitiram apenas pequenas quantidades de monoterpenos, como β -myrceno e β -linalool, responsáveis por atração de lagartas generalistas de instares elevados [53].

Nesse contexto, nós esperávamos maior indução de AJ e ABA e queda dos níveis de AS em plantas de milho pela herbivoria em relação às plantas intactas, entretanto não houve diferença nas quantidades de nenhum hormônio vegetal. A elicitação de vias hormonais testadas, por sua vez, depende do instar do inseto herbívoro [24], tempo após dano [54] e variedade da planta [49]. Nesse sentido, o uso de lagartas de quinto instar de *S. frugiperda* podem ter apresentado menor ativação nas respostas hormonais de defesa nas plantas de milho, pois a variedade Delprim apresenta baixos níveis de elicitação de vias defensivas [55]. Além disso, o tempo de herbivoria utilizado pode ter sido insuficiente para diferenças nítidas nos níveis de fitohormônios, e os voláteis emitidos podem ter sido originários de reservatórios celulares [48]. Aliado a isso, não podemos desconsiderar o fato de cada repetição foi conduzida em dias diferentes, portanto as plantas foram sujeitas a diferentes condições de cultivo (temperatura, umidade, incidência solar, estações do ano, etc.), o que pode ter

mascarado à indução de respostas hormonais [56-58] e, conseqüentemente, de compostos orgânicos voláteis.

Contrariamente ao previsto, a indução de pressão barométrica seguida pela herbivoria não diferiu entre as três condições testadas (pressão baixa, estável e alta). Apesar de plantas intactas, aparentemente, não utilizarem a pressão barométrica como estímulo à indução de defesas, nós esperávamos maior emissão de compostos voláteis quando a herbivoria ocorresse em pressão baixa comparado a pressão alta – visto que a lagarta se alimentou mais nessa pressão no ensaio de desempenho. Para eliminar um possível efeito da alimentação variada do inseto e testar se diferentes pressões teriam efeito aditivo ou sinérgico na indução de defesas após a herbivoria, nós induzimos mecanicamente as plantas de milho. Plântulas intactas liberaram quantidades maiores de monoterpenos comparado a plantas induzidas pelo regurgito, o que pode ter sido responsável pela emissão total de compostos similares entre esses tratamentos. Como plantas intactas naturalmente liberam quantidades irrisórias de compostos defensivos [48], a maior detecção de emissão de todas as classes de voláteis nas plantas controles da indução mecânica comparado às plantas controles do dano pela herbivoria pode ser explicada novamente pela estação de cultivo. Assim, períodos do ano com temperaturas diárias próximas de 35°C aumentam o metabolismo da planta e induzem estresse por calor e luminosidade [59]. Esses fatores abióticos de cultivo, por sua vez, aumentam o metabolismo da via do metieritritol fosfato nos plastídeos [32], levando a maior liberação de monoterpenos como medida de proteção [32, 56, 57].

Na indução mecânica e padronizada, a emissão de homoterpeno, sesquiterpenos e voláteis de folha verde foi maior do que nas plantas intactas, explicitado por liberações significativas de DMNT, E-2-hexenal, (E)-beta-farneseno e (E)- α -bergamoteno, comumente associados a indução por herbivoria [52, 55]. Nesse cenário, a indução térmica também pode ter contribuído para emissão destes compostos e elicitação da rota hormonal do AJ [32]. Assim, no estresse por calor e incidência solar, a via do metileritritol-fosfato pode atuar em *cross-talk* com a via do mevalonato [32, 60]. O mevalonato, por sua vez, pode ativar a rota hormonal octadecanoide, do AJ, e aumentar a conversão de bases de carbonos C5, isoprenos, em terpenoides e voláteis de folhas verdes [60].

Embora pouco evidente, houve separação de plantas tratadas com regurgito na pressão baixa na análise de componentes principais e maiores liberação de voláteis de folha verde e sesquiterpenos por este tratamento, apesar de não diagnosticado diferença estatística. Nós especulamos que a pressão baixa possivelmente esteja ativando as vias metieritritol-fosfato e mevalonato para produção de isopreno, levando a um aumento desses compostos e ativação dos níveis de AJ, este já observado em hipobaria [28-30]. Entretanto, possivelmente nossas condições experimentais, como cultivo das plantas e tempo de avaliação, não foram satisfatórias para detectar a ação destes mecanismos. Além disso, diferentes valores de pressão barométrica podem influenciar a volatilidade de compostos químicos, especialmente as pressões baixas favorecendo sua dispersão [61]. Contudo, nós nos certificamos que o sistema de aeração utilizado compensou qualquer interferência física na volatilidade de compostos (Fig. S2), visto que a recaptura de compostos voláteis sintéticos similares aos da amostra de milho e em concentrações conhecidas foi similar nas três pressões de ensaio.

Em resumo, nosso estudo demonstrou que lagartas de *S. frugiperda* tem seu desempenho alimentar alterado pela pressão barométrica, se alimentando mais em pressões baixas do que em pressões altas. Apesar dessa discrepância, o ganho de massa do inseto foi similar nas duas pressões, possivelmente devido a uma compensação metabólica pela alteração da condição abiótica. Além disso, nós observamos que plantas intactas de milho aparentemente não foram induzidas por variações da pressão. Adicionalmente, diferentes patamares de pressão barométrica não modificaram a produção de defesas do milho contra a herbivoria de *S. frugiperda*, apesar da ativação das vias defensivas do AJ contra o herbívoro. Contudo, a variação dos dados de defesas de plantas sugere à necessidade de novos ensaios com condições mais controladas de crescimento vegetal, a fim de elucidar possíveis padrões de indução frente a pressão barométrica ou reduzir as variações para endossar a ausência de evidência de um possível efeito deste fator abiótico nas estratégias defensivas do milho.

Para o melhor do nosso conhecimento, este foi o primeiro estudo a controlar a pressão barométrica e investigar os efeitos de sua oscilação relacionadas às mudanças no tempo para o comportamento alimentar de um herbívoro, indução de defesas de plantas e interação planta-inseto herbívoro. Dada à escassez de trabalhos no tema,

foi necessário o desenvolvimento de metodologias e dispositivos de ensaios inéditos, que podem contribuir para trabalhos futuros na área de ecologia química. Novas investigações podem elucidar o papel desse fator abiótico ainda pouco explorado, podendo repercutir drasticamente no planejamento de bioensaios em laboratórios e auxiliar o entendimento de padrões ecológicos e evolutivos de plantas e insetos. Vislumbra-se ainda, a possibilidade de alterações na compreensão das interações envolvendo plantas e insetos, incluindo o recrutamento de inimigos naturais frente às mudanças do tempo.

Agradecimentos

Nós somos gratos a Arodí Prado Fávaris pela assistência técnica. Esse trabalho foi financiado pelo Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia (INCT) – Semioquímicos na Agricultura, Processos 573761/2008-6 e 133043/2015-0 (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP).

Referências

1. Walker GP, Nault LR, Simonet DE. Natural mortality factors acting on potato aphid (*Macrosiphum euphorbiae*) populations in processing-tomato fields in Ohio. *Environmental Entomology*. 1984;13(3):724-32.
2. Weisser WW, Volkl W, Hassell MP. The importance of adverse weather conditions for behaviour and population ecology of an aphid parasitoid. *Journal of Animal Ecology*. 1997;386-400.
3. Heupel M, Simpfendorfer C, Hueter R. Running before the storm: blacktip sharks respond to falling barometric pressure associated with Tropical Storm Gabrielle. *Journal of Fish Biology*. 2003;63(5):1357-63.
4. Liu Y-L, Lillywhite H, Tu M-C. Sea snakes anticipate tropical cyclone. *Marine Biology*. 2010;157(11):2369-73.
5. Kim M, Lim J, Wang S. Predicting mating flights through meteorological cues using multi-scale logistic regression. *Environmetrics*. 2009;20(3):275-82.
6. Fournier F, Pelletier D, Vigneault C, Goyette B, Boivin G. Effect of barometric pressure on flight initiation by *Trichogramma pretiosum* and *Trichogramma evanescens* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Environmental Entomology*. 2005;34(6):1534-40.
7. Rousse P, Gourdon F, Roubaud M, Chiroleu F, Quilici S. Biotic and abiotic factors affecting the flight activity of *Fopius arisanus*, an egg-pupal parasitoid of fruit fly pests. *Environmental Entomology*. 2009;38(3):896-903.
8. Barry RG, Chorley RJ. *Atmosphere, Weather and Climate*: Routledge; 2009.
9. Wellington W. The effects of variations in atmospheric pressure upon insects. *Canadian Journal of Research*. 1946;24(2):51-70.
10. Lanier GN, Burns BW. Barometric flux. *Journal of Chemical Ecology*. 1978;4(2):139-47.
11. Austin CJ, Guglielmo CG, Moehring AJ. A direct test of the effects of changing atmospheric pressure on the mating behavior of *Drosophila melanogaster*. *Evolutionary Ecology*. 2014;28(3):535-44.
12. Zagvazdina N, Paris T, Udell B, Stanislauskas M, McNeill S, Allan S, et al. Effects of atmospheric pressure trends on calling, mate-seeking, and phototaxis of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). *Annals of the Entomological Society of America*. 2015;108(5):762-70.
13. Roermund Hv, Lenteren Jv. Residence times of the whitefly parasitoid *Encarsia formosa* Gahan (Hym. Aphelinidae) on tomato leaflets. *Journal of Applied Entomology*. 1995;119(1-5):465-71.
14. Steinberg S, Dicke M, Vet L, Wanningen R. Response of the braconid parasitoid *Cotesia* (= *Apanteles*) *glomerata* to volatile infochemicals: effects of bioassay set-up, parasitoid age and experience and barometric flux. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 1992;63(2):163-75.
15. Crespo JE, Castelo MK. Barometric pressure influences host-orientation behavior in the larva of a dipteran ectoparasitoid. *Journal of Insect Physiology*. 2012;58(12):1562-7.
16. Leskey TC, Prokopy RJ. Influence of barometric pressure on odor discrimination and oviposition by adult plum curculios (Coleoptera: Curculionidae). *European Journal of Entomology*. 2003;100(4):517-20.

17. Paige K. Bats and barometric pressure: conserving limited energy and tracking insects from the roost. *Functional Ecology*. 1995;463-7.
18. Tanaka L, Tanaka S. Rainfall and seasonal changes in arthropod abundance on a tropical oceanic island. *Biotropica*. 1982;114-23.
19. Bruce TJ. Interplay between insects and plants—dynamic and complex interactions that have coevolved over millions of years but act in milliseconds. *Journal of Experimental Botany*. 2014;eru391.
20. Chen MS. Inducible direct plant defense against insect herbivores: a review. *Insect Science*. 2008;15(2):101-14.
21. Kessler A, Baldwin IT. Defensive function of herbivore-induced plant volatile emissions in nature. *Science*. 2001;291(5511):2141-4.
22. Pellegrino AC, Peñaflores MFGV, Nardi C, Bezner-Kerr W, Guglielmo CG, Bento JMS, et al. Weather forecasting by insects: modified sexual behaviour in response to atmospheric pressure changes. *Plos One*, v. 8, n. 10, p. e75004, 2013.
23. Pieterse CM, Van der Does D, Zamioudis C, Leon-Reyes A, Van Wees SC. Hormonal modulation of plant immunity. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. 2012;28:489-521.
24. Erb M, Meldau S, Howe GA. Role of phytohormones in insect-specific plant reactions. *Trends in Plant Science*. 2012;17(5):250-9.
25. Wasternack C, Hause B. Jasmonates: biosynthesis, perception, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. An update to the 2007 review in *Annals of Botany*. 2013;111(6):1021-58.
26. Mott K, Parkhurst D. Stomatal responses to humidity in air and helox. *Plant, Cell & Environment*. 1991;14(5):509-15.
27. Corey K, Bates M, Adams S. Carbon dioxide exchange of lettuce plants under hypobaric conditions. *Advances in Space Research*. 1996;18(4):265-72.
28. Braam J. In touch: plant responses to mechanical stimuli. *New Phytologist*. 2005;165(2):373-89.
29. Ferl RJ, Schuerger AC, Paul A-L, Gurley WB, Corey K, Bucklin R. Plant adaptation to low atmospheric pressures- Potential molecular responses. *Life Support & Biosphere Science- International Journal of Earth/Space*. 2001;8(2):93-101.
30. Paul A-L, Schuerger AC, Popp MP, Richards JT, Manak MS, Ferl RJ. Hypobaric biology: *Arabidopsis* gene expression at low atmospheric pressure. *Plant Physiology*. 2004;134(1):215-23.
31. He C, Jacobo-Velázquez D, Cisneros-Zevallos L, Davies F. Hypobaric and hypoxia affects phytochemical production, gas exchange, and growth of lettuce. *Photosynthetica*. 2013;51(3):465-73.
32. Loreto F, Schnitzler J-P. Abiotic stresses and induced BVOCs. *Trends in Plant Science*. 2010;15(3):154-66.
33. Dudareva N, Pichersky E, Gershenzon J. Biochemistry of plant volatiles. *Plant Physiology*. 2004;135(4):1893-902.
34. Parra JRP. Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico. ESALQ/FEALQ, Piracicaba-SP, Brazil, 1999.

35. Schmelz EA, Engelberth J, Alborn HT, O'Donnell P, Sammons M, Toshima H, et al. Simultaneous analysis of phytohormones, phytotoxins, and volatile organic compounds in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2003;100(18):10552-7.
36. Schmelz EA, Engelberth J, Tumlinson JH, Block A, Alborn HT. The use of vapor phase extraction in metabolic profiling of phytohormones and other metabolites. *The Plant Journal*. 2004;39(5):790-808.
37. Demétrio CG, Hinde J, Moral RA. Models for overdispersed data in entomology. *Ecological Modelling Applied to Entomology*: Springer; 2014. p. 219-59.
38. Roitberg BD, Sircom J, Roitberg CA. Life expectancy and reproduction. *Nature*. 1993;364:108.
39. Underhill G. Some factors influencing feeding activity of simuliids in the field. *Journal of Economic Entomology*. 1940;33(6):915-7.
40. Shields EJ, Testa A. Fall migratory flight initiation of the potato leafhopper, *Empoasca fabae* (Homoptera: Cicadellidae): observations in the lower atmosphere using remote piloted vehicles. *Agricultural and Forest Meteorology*. 1999;97(4):317-30.
41. Scriber J, Slansky Jr F. The nutritional ecology of immature insects. *Annual Review of Entomology*. 1981;26(1):183-211.
42. Sparks AN. A review of the biology of the fall armyworm. *Florida Entomologist*. 1979;82-7.
43. Haufe W. The effects of atmospheric pressure on the flight responses of *Aedes aegypti* (L.). *Bulletin of Entomological Research*. 1954;45(03):507-26.
44. Greenberg S, Sappington T, Legaspi B, Liu T, Setamou M. Feeding and life history of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) on different host plants. *Annals of the Entomological Society of America*. 2001;94(4):566-75.
45. Dillon ME, Frazier MR. *Drosophila melanogaster* locomotion in cold thin air. *Journal of Experimental Biology*. 2006;209(2):364-71.
46. Klok CJ, Sinclair BJ, Chown SL. Upper thermal tolerance and oxygen limitation in terrestrial arthropods. *Journal of Experimental Biology*. 2004;207(13):2361-70.
47. Johnson MT, Campbell SA, Barrett SC. Evolutionary interactions between plant reproduction and defense against herbivores. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 2015;46:191-213.
48. Paré PW, Tumlinson JH. Plant volatiles as a defense against insect herbivores. *Plant physiology*. 1999;121(2):325-32.
49. Gouinguené S, Degen T, Turlings TC. Variability in herbivore-induced odour emissions among maize cultivars and their wild ancestors (teosinte). *Chemoecology*. 2001;11(1):9-16.
50. Gouinguené S, Alborn H, Turlings TC. Induction of volatile emissions in maize by different larval instars of *Spodoptera littoralis*. *Journal of Chemical Ecology*. 2003;29(1):145-62.
51. Turlings TC, Bernasconi M, Bertossa R, Bigler F, Caloz G, Dorn S. The induction of volatile emissions in maize by three herbivore species with different feeding habits: possible consequences for their natural enemies. *Biological Control*. 1998;11(2):122-9.
52. Turlings TC, Lengwiler UB, Bernasconi ML, Wechsler D. Timing of induced volatile emissions in maize seedlings. *Planta*. 1998;207(1):146-52.

53. Carroll MJ, Schmelz EA, Meagher RL, Teal PE. Attraction of *Spodoptera frugiperda* larvae to volatiles from herbivore-damaged maize seedlings. *Journal of Chemical Ecology*. 2006;32(9):1911-24.
54. Schmelz EA, Alborn HT, Banchio E, Tumlinson JH. Quantitative relationships between induced jasmonic acid levels and volatile emission in *Zea mays* during *Spodoptera exigua* herbivory. *Planta*. 2003;216(4):665-73.
55. Schnee C, Köllner TG, Gershenzon J, Degenhardt J. The maize gene terpene synthase 1 encodes a sesquiterpene synthase catalyzing the formation of (E)- β -farnesene, (E)-nerolidol, and (E, E)-farnesol after herbivore damage. *Plant Physiology*. 2002;130(4):2049-60.
56. Peñuelas J, Llusà J. The complexity of factors driving volatile organic compound emissions by plants. *Biologia Plantarum*. 2001;44(4):481-7.
57. Penuelas J, Llusà J, Asensio D, Munné-Bosch S. Linking isoprene with plant thermotolerance, antioxidants and monoterpene emissions. *Plant, Cell & Environment*. 2005;28(3):278-86.
58. Coolen S, Proietti S, Hickman R, Davila Olivas NH, Huang PP, Van Verk MC, et al. Transcriptome dynamics of *Arabidopsis* during sequential biotic and abiotic stresses. *The Plant Journal*. 2016;86(3):249-67.
59. Gouinguéné SP, Turlings TC. The effects of abiotic factors on induced volatile emissions in corn plants. *Plant Physiology*. 2002;129(3):1296-307.
60. Dudareva N, Klempien A, Muhlemann JK, Kaplan I. Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. *New Phytologist*. 2013;198(1):16-32.
61. Chapman JA. Response behaviour of scolytid beetles and odour meteorology. *The Canadian Entomologist*. 1967;99(11):1132-7.

ANEXOS: Figuras e Tabelas Suplementares

Tabela S1: Composição de voláteis emitidos por plantas de milho intactas (Cont) e danificadas por lagartas de *Spodoptera frugiperda* (Sf) em pressão barométrica alta (PA), estável (PE) e baixa (PB); Média $\pm$ EP em ng.g⁻¹ da massa seca da planta com base em padrão interno

		Cont ^a			Sf ^b		
		PA	PE	PB	PA	PE	PB
Voláteis de Folha Verde	^l (E)-2-Hexenal ^{ns}	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	39,7 $\pm$ 23,1	16,1 $\pm$ 1,4,1	18,9 $\pm$ 14,3
	^l (Z)-3-Hexen-1-ol ^{ns}	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	3,1 $\pm$ 3,1	6,7 $\pm$ 5,5	11,5 $\pm$ 10,4
	^l Acetato de 3-hexen-1-ol ^{ns}	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	39,5 $\pm$ 20,8	54,5 $\pm$ 40,8	50,0 $\pm$ 49,2
	Total ^{ns}	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	82,5 $\pm$ 38,3	77,3 $\pm$ 60,4	80,5 $\pm$ 73,5
Monoterpenos	^l β -myrceno ^{ns}	16,4 $\pm$ 8,7	5,6 $\pm$ 3,6	10,9 $\pm$ 7,5	19,0 $\pm$ 7,8	34,1 $\pm$ 26,0	16,9 $\pm$ 13,1
	^l D-limoneno ^{ns}	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	2,4 $\pm$ 1,3	3,2 $\pm$ 1,6	0,8 $\pm$ 0,8
	^l cis- β -ocimeno ^{ns}	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	3,0 $\pm$ 1,3	11,8 $\pm$ 10,8	4,2 $\pm$ 4,2
	^l β -linalol ^{ns}	210,3 $\pm$ 87,7	57,1 $\pm$ 38,1	87,7 $\pm$ 86,7	312,3 $\pm$ 127,2	652,6 $\pm$ 563,4	317,8 $\pm$ 274,2
	Acetato de Geranila ^{ns}	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	22,6 $\pm$ 10,3	94,3 $\pm$ 89,4	1,1 $\pm$ 0,9
	Total ^{ns}	284,5 $\pm$ 93,5	62,7 $\pm$ 41,7	98,7 $\pm$ 93,5	359,5 $\pm$ 145,1	796,2 $\pm$ 690,7	340,7 $\pm$ 290,1
Homoterpeno	(E)-4,8-dimetil-1,3,7-nonatrieno ^{ns}	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	105,6 $\pm$ 63,6	225,2 $\pm$ 217,1	502,6 $\pm$ 385,5
Benzenoides	^l Acetato de benzila ^{ns}	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	8,0 $\pm$ 4,9	34,2 $\pm$ 23,0	11,4 $\pm$ 11,4
	^l Salicilato de metila ^{ns}	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	9,7 $\pm$ 4,7	3,2 $\pm$ 2,2	3,6 $\pm$ 3,6
	^l Indol ^{ns}	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	70,2 $\pm$ 54,4	247,0 $\pm$ 241,7	144,8 $\pm$ 143,0
	Total ^{ns}	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	88,0 $\pm$ 57,5	284,5 $\pm$ 264,4	159,9 $\pm$ 158,1
Sesquiterpenos	^l β -cariofileno ^{ns}	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	66,4 $\pm$ 39,1	102,2 $\pm$ 85,2	74,2 $\pm$ 72,9
	(E)- α -bergamoteno ^{ns}	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	61,3 $\pm$ 30,3	178,5 $\pm$ 173,4	63,6 $\pm$ 63,6
	^l trans- β -farneseno ^{ns}	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	115,4 $\pm$ 58,7	327,9 $\pm$ 315,9	120,1 $\pm$ 118,3
	β -bisaboleno ^{ns}	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	6,7 $\pm$ 3,6	9,3 $\pm$ 6,9	6,2 $\pm$ 4,7
	Total ^{ns}	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	250,1 $\pm$ 130,3	618,1 $\pm$ 580,8	264,2 $\pm$ 259,5
<i>Emissão Total</i> ^{n.s.}		260,5 $\pm$ 93,9	62,7 $\pm$ 41,7	98,7 $\pm$ 93,5	885,9 $\pm$ 387,6	20001,6 $\pm$ 1811,8	1348,1 $\pm$ 917,3

Letras iguais não diferem ao nível de significância de 5% de acordo com o modelo linear individual seguido de comparações múltiplas pelo teste de Tukey.

^{ns} = não há diferença significativa. ^l = composto confirmado com padrão sintético

Tabela S2: Composição de voláteis emitidos por plantas de milho intactas (Creg) e induzidas mecanicamente com regurgito de *Spodoptera frugiperda* (Reg) em pressão barométrica alta (PA), estável (PE) e baixa (PB); Média $\pm$ EP em ng.g⁻¹ da massa seca da planta com base em padrão interno

		Creg			Reg		
		PA	PE	PB	PA	PE	PB
Voláteis de Folha Verde	^l (E)-2-Hexenal	2,9 $\pm$ 0,5 ^{bA}	4,6 $\pm$ 2,7 ^{bA}	3,9 $\pm$ 0,5 ^{bA}	9,2 $\pm$ 3,3 ^{aA}	7,7 $\pm$ 2,3 ^{aA}	16,0 $\pm$ 5,8 ^{aA}
	^l (Z)-3-Hexen-1-ol	7,0 $\pm$ 2,2 ^{aA}	52,0 $\pm$ 48,4 ^{aA}	34,4 $\pm$ 15,7 ^{aA}	59,4 $\pm$ 4,6 ^{aA}	88,7 $\pm$ 17,3 ^{aA}	84,8 $\pm$ 23,3 ^{aA}
	^l Acetato de 3-hexen-1-ol	3,4 $\pm$ 1,2 ^{aA}	0,0 $\pm$ 0,0 ^{aA}	4,1 $\pm$ 3,0 ^{aA}	18,2 $\pm$ 6,5 ^{aA}	9,3 $\pm$ 3,2 ^{aA}	24,2 $\pm$ 11,9 ^{aA}
	Total	13,2 $\pm$ 2,3 ^{bA}	56,5 $\pm$ 51,1 ^{bA}	42,5 $\pm$ 15,5 ^{bA}	86,7 $\pm$ 9,3 ^{aA}	105,8 $\pm$ 19,1 ^{aA}	125,0 $\pm$ 36,8 ^{aA}
Monoterpenos	^l β -myrceno	32,0 $\pm$ 7,4 ^{aA}	36,6 $\pm$ 9,3 ^{aA}	33,4 $\pm$ 5,2 ^{aA}	15,7 $\pm$ 2,3 ^{bA}	22,7 $\pm$ 5,2 ^{bA}	33,1 $\pm$ 6,0 ^{bA}
	^l D-limoneno	23,9 $\pm$ 2,1 ^{bAB}	9,9 $\pm$ 1,6 ^{bB}	40,9 $\pm$ 10,9 ^{bA}	43,7 $\pm$ 27,6 ^{aAB}	40,8 $\pm$ 14,0 ^{aB}	86,0 $\pm$ 13,0 ^{aA}
	^l cis- β -ocimeno	8,6 $\pm$ 4,5 ^{aA}	2,9 $\pm$ 2,2 ^{aA}	12,3 $\pm$ 5,2 ^{aA}	8,0 $\pm$ 3,0 ^{aA}	9,3 $\pm$ 1,8 ^{aA}	11,4 $\pm$ 3,5 ^{aA}
	^l β -linalol	275,4 $\pm$ 100,2 ^{aA}	454,3 $\pm$ 139,0 ^{aA}	359,6 $\pm$ 96,2 ^{aA}	120,1 $\pm$ 37,4 ^{bA}	92,2 $\pm$ 29,5 ^{bA}	178,7 $\pm$ 60,0 ^{bA}
	Acetato de Geranila	0,7 $\pm$ 0,5 ^{aA}	2,6 $\pm$ 1,6 ^{aA}	1,1 $\pm$ 0,7 ^{aA}	3,7 $\pm$ 1,8 ^{aA}	0,5 $\pm$ 0,5 ^{aA}	4,6 $\pm$ 3,3 ^{aA}
Total		340,7 $\pm$ 103,9 ^{aA}	506,4 $\pm$ 148,1 ^{aA}	447,3 $\pm$ 99,2 ^{aA}	191,2 $\pm$ 70,5 ^{bA}	165,2 $\pm$ 46,4 ^{bA}	313,8 $\pm$ 65,4 ^{bA}
Homoterpeno	(E)-4,8-dimetil-1,3,7-nonatrieno	0,6 $\pm$ 0,5 ^{bA}	0,0 $\pm$ 0,0 ^{bA}	0,1 $\pm$ 0,1 ^{bA}	12,1 $\pm$ 4,4 ^{aA}	8,7 $\pm$ 7,6 ^{aA}	28,0 $\pm$ 9,5 ^{aA}
Benzenoides	^l Acetato de benzila	1,3 $\pm$ 0,7 ^{bA}	0,5 $\pm$ 0,5 ^{bA}	0,6 $\pm$ 0,6 ^{bA}	6,4 $\pm$ 2,0 ^{aA}	15,8 $\pm$ 10,3 ^{aA}	4,3 $\pm$ 1,8 ^{aA}
	^l Salicilato de metila	8,9 $\pm$ 2,6 ^{aA}	5,9 $\pm$ 2,9 ^{aA}	7,9 $\pm$ 1,8 ^{aA}	9,7 $\pm$ 5,9 ^{aA}	4,0 $\pm$ 1,3 ^{aA}	4,4 $\pm$ 2,2 ^{aA}
	^l Indol	1,8 $\pm$ 0,9 ^{aA}	6,9 $\pm$ 4,0 ^{aA}	1,6 $\pm$ 0,7 ^{aA}	5,4 $\pm$ 1,7 ^{aA}	7,7 $\pm$ 2,8 ^{aA}	1,8 $\pm$ 1,8 ^{aA}
	Total	12,0 $\pm$ 2,1 ^{aA}	13,3 $\pm$ 5,5 ^{aA}	10,1 $\pm$ 1,7 ^{aA}	21,5 $\pm$ 9,2 ^{aA}	27,5 $\pm$ 10,2 ^{aA}	10,5 $\pm$ 3,7 ^{aA}
Sesquiterpenos	^l β -cariofileno	7,7 $\pm$ 1,7 ^{aA}	7,4 $\pm$ 3,1 ^{aA}	6,9 $\pm$ 1,3 ^{aA}	22,0 $\pm$ 18,4 ^{aA}	2,9 $\pm$ 1,2 ^{aA}	6,3 $\pm$ 5,2 ^{aA}
	(E)- α -bergamoteno	1,0 $\pm$ 0,7 ^b	0,5 $\pm$ 0,5 ^b	0,0 $\pm$ 0,0 ^b	16,9 $\pm$ 7,1 ^a	10,9 $\pm$ 2,1 ^{ab}	39,8 $\pm$ 20,2 ^{ab}
	^l trans- β -farneseno	4,8 $\pm$ 1,3 ^{bA}	4,6 $\pm$ 1,0 ^{bA}	25,7 $\pm$ 24,0 ^{bA}	33,3 $\pm$ 13,8 ^{aA}	15,8 $\pm$ 4,8 ^{aA}	59,4 $\pm$ 27,1 ^{aA}
	β -bisaboleno	4,8 $\pm$ 1,1 ^{aA}	4,1 $\pm$ 1,3 ^{aA}	5,0 $\pm$ 1,0 ^{aA}	8,5 $\pm$ 4,3 ^{aA}	3,0 $\pm$ 0,5 ^{aA}	7,4 $\pm$ 1,4 ^{aA}
	Total	18,3 $\pm$ 4,2 ^{bA}	16,6 $\pm$ 4,6 ^{bA}	37,6 $\pm$ 22,7 ^{bA}	80,7 $\pm$ 33,5 ^{aA}	32,6 $\pm$ 7,6 ^{aA}	113,1 $\pm$ 50,1 ^{aA}
Emissão Total		260,5 $\pm$ 93,9 ^{aA}	499,7 $\pm$ 94,7 ^{aA}	592,8 $\pm$ 170,8 ^{aA}	537,5 $\pm$ 121,4 ^{aA}	391,4 $\pm$ 114,1 ^{aA}	339,6 $\pm$ 70,1 ^{aA}

Letras minúsculas iguais não diferem para tipo de indução e letras maiúsculas iguais não diferem para a pressão barométrica, todos ao nível de significância de 5% de acordo com o modelo linear individual seguido de comparações múltiplas pelo teste de Tukey. ^l = composto confirmado com padrão sintético

Figura S1: Efeitos fisiológicos de longo prazo no desempenho de lagartas de 5º instar de *Spodoptera frugiperda* quando expostas a diferentes pressões barométricas sob privação de alimentação por 12 horas. (a) variação da massa das lagartas logo após término do ensaio, (b) tempo até formação de pupas e (c) massa das pupas formadas. Foi empregada a mesma metodologia dos ensaios de desempenho alimentar, entretanto não foi ofertado alimento e os parâmetros foram avaliados após às 12 h de exposição às diferentes pressões barométricas. Barras indicam média $\pm$ EP de 4 amostras compostas de 4 sub-amostras. ns = não há diferença significativa ao nível de 5% de acordo com o modelo linear generalizado misto seguido do teste de Tukey para comparações múltiplas

Figura S2: Ensaio de recaptura de compostos voláteis sintéticos sob diferentes condições de pressão barométrica. Uma pastilha de dispersão de odores contendo 1 μl de uma solução de 150 $\text{ng} \cdot \mu\text{l}^{-1}$ dos compostos cis-3-hexen-1-ol, limoneno, β -linalool, salicilato de metila, indol e β -cariofileno (Sigma-Aldrich, EUA) foi acondicionada na cuba de vidro para extração dos voláteis. A câmara barométrica foi regulada para atingir as pressões de ensaio em 10 minutos e a coleta dos compostos foi iniciada seguindo mesmo métodos de aeração descritos nos outros ensaios. Barras indicam o total de voláteis recapturados (Média $\pm$ EP, $N = 4$). ns = não há diferença significativa ao nível de 5% de acordo com o modelo linear individualizado seguido do teste de Tukey para comparações múltiplas