

GUILHERME VIEIRA PIMENTEL

COMPORTAMENTO DE OVIPOSIÇÃO E DESEMPENHO LARVAL DE
Diatraea saccharalis EM GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2016

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade Federal
de Viçosa - Campus Viçosa

T

- P644c
2016 Pimentel, Guilherme Vieira, 1991-
Comportamento de oviposição e desempenho larval de *Diatraea saccharalis* em genótipos de cana-de-açúcar / Guilherme Vieira Pimentel. - Viçosa, MG, 2016.
xi, 70f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.
- Inclui apêndices.
Orientador: Márcio Henrique Pereira Barbosa.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.
1. *Diatraea saccharalis*. 2. Broca da cana-de-açúcar - Comportamento. 3. Oviposição. 4. Larvas. 5. Cana-de-açúcar - Resistência a doenças e pragas. 6. Cana-de-açúcar - Seleção de planta - Melhoramento genético. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Fitotecnia. Programa de Pós-graduação em Fitotecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 632.7

GUILHERME VIEIRA PIMENTEL

COMPORTAMENTO DE OVIPOSIÇÃO E DESEMPENHO LARVAL DE
Diatraea saccharalis EM GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR

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

APROVADA: 24 de fevereiro de 2016.

Eugênio Eduardo de Oliveira
(Coorientador)

Luiz Alexandre Peternelli
(Coorientador)

Bruno Portela Brasileiro

Márcio Henrique Pereira Barbosa
(Orientador)

A meu pai Gentil, minha mãe Angela e minha irmã Luana,
pela confiança depositada em mim.

Dedico.

**Seja humilde para admitir seus erros,
inteligente para aprender com eles e
maduro para corrigi-los.**
(Desconhecido)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pelo milagre da vida e por ter me proporcionado a capacidade e determinação de seguir em frente. Também me encheu de força e fez com que todos ao meu redor dissessem as palavras certas, nas horas certas.

À minha família, meus pais Gentil Pimentel e Angela Maria Vieira Pimentel, pela dedicação incondicional, exemplos de vida e por transmitirem ensinamentos que me tornaram a pessoa que sou. Minha irmã Luana Vieira Pimentel Ribeiro, pela amizade e por estar sempre ao meu lado apoiando minhas decisões. Ao meu cunhado Danilo Sampaio Ribeiro da Rocha, pelos ensinamentos, apoio e amizade. Aos meus avós Reinaldo Vieira, Gilda Helena Gonçalves Vieira e Francisco Pimentel (in memoriam) e Anezia Lino Pimentel (in memoriam).

À Universidade Federal de Viçosa e ao programa de pós-graduação em Fitotecnia pela oportunidade de estudo.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao professor Dr. Márcio Henrique Pereira Barbosa, pela orientação, amizade, ensinamentos e pela confiança a mim designada.

Aos professores Dr. Eugênio Eduardo de Oliveira, e Dr. Luiz Alexandre Peternelli pelo apoio e auxílio durante o desenvolvimento do trabalho.

Ao professor Dr. Eraldo Rodrigues de Lima e Josie Gomes de Almeida Barros, pelo apoio e auxílio durante a condução do trabalho no laboratório de semioquímicos.

Ao Dr. Bruno Portela Brasileiro, por me dar suporte, auxílio durante as análises estatísticas e compartilhar de seus conhecimentos de estatística experimental sendo de grande valia nesse trabalho.

Aos colegas Vinicius de V. Chaves, Bruno S. de Oliveira, Carla Cristina M. Arce, Adriano C. Tomaz e Alan E. Coutinho, os quais auxiliaram nas diversas etapas do trabalho.

A todos os meus professores pelos conhecimentos compartilhados, e por serem peças fundamentais da minha formação.

A toda equipe do Centro de Pesquisa e Melhoramento de Cana-de-Açúcar (CECA) pela enorme ajuda nos experimentos, em especial a Silvania Lourenço, pela

amizade e auxílio em todas as atividades deste trabalho. A Telma F. N. Queiroz, pela amizade e auxílio no desenvolvimento do trabalho no laboratório de biotecnologia.

Aos amigos sempre presente da Agro, Franklin J. Machado, Aline V. de Barros, Josiane G. Amaral e Gustavo B. Rocha.

À Daiane M. Gomes, pelo amor, carinho, apoio por todos esses anos, por acreditar em mim, e estar sempre ao meu lado.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, meu muito obrigado!

SUMÁRIO

RESUMO-----	viii
ABSTRACT-----	x
INTRODUÇÃO GERAL-----	1
REFERÊNCIAS-----	3
CAPÍTULO 1: PREFERÊNCIA PARA OVIPOSIÇÃO DE <i>Diatraea saccharalis</i> EM GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR -----	6
RESUMO -----	6
ABSTRACT -----	8
1. INTRODUÇÃO-----	9
2. MATERIAL E MÉTODOS-----	11
2.1. Sem chance de escolha-----	12
2.2. Com chance de escolha-----	14
2.2.1. Distribuição das posturas -----	16
2.2.2. Compostos voláteis das plantas -----	17
2.3. Análise Estatística-----	18
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO-----	19
3.1. Sem chance de escolha-----	19
3.2. Com chance de escolha-----	21
3.2.1. Distribuição das posturas -----	28
3.2.2. Compostos voláteis das plantas -----	29
4. APÊNDICES -----	33
5. CONCLUSÕES -----	34
6. REFERÊNCIAS-----	35
CAPÍTULO 2: DESEMPENHO LARVAL DE <i>Diatraea saccharalis</i> EM GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR -----	45
RESUMO-----	45
ABSTRACT-----	46
1. INTRODUÇÃO-----	47
2. MATERIAL E MÉTODOS -----	49
2.1. Desempenho larval em folhas de cana-de-açúcar-----	50

2.2. Desempenho larval no interior dos colmos de cana-de-açúcar -----	51
2.3. Análise Estatística-----	52
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO-----	53
3.1. Desempenho larval em folhas de cana-de-açúcar -----	53
3.2. Desempenho larval no interior dos colmos de cana-de-açúcar -----	58
3.3. Experimentos Complementares-----	61
4. APÊNDICES -----	62
5. CONCLUSÕES -----	64
6. REFERÊNCIAS-----	65
CONSIDERAÇÕES GERAIS-----	70

RESUMO

PIMENTEL, Guilherme Vieira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Fevereiro de 2016. **Comportamento de oviposição e desempenho larval de *Diatraea saccharalis* em genótipos de cana-de-açúcar.** Orientador: Márcio Henrique Pereira Barbosa. Coorientadores: Eugênio Eduardo de Oliveira e Luiz Alexandre Peternelli.

A implantação de variedades de cana-de-açúcar resistentes à broca-da-cana é uma ferramenta importante para reduzir a perda na produção causada por esta praga chave. Objetivou-se neste estudo, avaliar a preferência de oviposição e o desempenho larval de *Diatraea saccharalis* em genótipos de cana-de-açúcar, assim como, caracterizar os mecanismos e as causas de resistência a esta praga. Desta forma, pode-se ajudar a selecionar os genótipos a serem utilizadas como genitores em programas de melhoramento de cana-de-açúcar visando à obtenção de variedades resistentes. Os experimentos foram realizados no Centro de Experimentação em Cana-de-açúcar (CECA) da Universidade Federal de Viçosa (UFV). No primeiro capítulo, foi avaliada a preferência de oviposição com e sem chance de escolha da *D. saccharalis* em oito clones de cana-de-açúcar (IJ76-314, IM76-228, RB825336, RB867515, RB985523, SP80-1842, SP80-3280 e TUC71-7), onde foram avaliadas em todas as parcelas dos dois experimentos a quantidade de ovos, posturas e razão ovos por postura. Após a avaliação dos clones no experimento sem chance de escolha, estes foram utilizados no teste de fertilidade dos ovos. No experimento com chance de escolha também foram avaliadas as características das plantas (largura foliar, leituras SPAD, teor de lignina e a captação de voláteis das plantas) e dos insetos (distribuição das posturas nas plantas). No segundo capítulo, avaliou-se o efeito dos mesmos oito clones na sobrevivência das lagartas recém-eclodidas e a escala de dano visual nas folhas de cana-de-açúcar aos quatro meses de idade. No experimento de desempenho larval no interior dos colmos de cana-de-açúcar, os mesmos clones foram utilizados aos seis meses de idade, onde avaliou em todas as parcelas a porcentagem de sobrevivência larval, índice de infestação, o ganho de peso médio dos insetos, porcentagem de pupação e injúria. Em estudo complementar, no mesmo experimento foram acrescentados 16 clones de cana-de-açúcar, totalizando 24 genótipos avaliados. O clone IM76-228 foi o menos preferido para a oviposição no experimento com chance de escolha, e apresentou maior quantidade de compostos voláteis. Quando avaliado o experimento sem chance de escolha e fertilidade dos ovos não revelaram diferenças significativas entre as variáveis. A *D. saccharalis* prefere ovipositar no terço apical das folhas de cana-de-açúcar. O

IM76-228 e a variedade RB867515 apresentaram as menores porcentagens de sobrevivência das lagartas recém-eclodidas da *D. saccharalis*, sendo a menor nota dano visual para IM76-228, em folhas de cana-de-açúcar aos quatro meses de idade. O desempenho larval no interior dos colmos de cana-de-açúcar foi menor no clone IM76-228 tendo apresentado, os menores índices de infestação e injúria.

ABSTRACT

PIMENTEL, Guilherme Vieira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February 2016. **Oviposition behavior and *Diatraea saccharalis*' larval performance in sugarcane genotypes.** Advisor: Márcio Henrique Pereira Barbosa. Co-advisors: Eugênio Eduardo de Oliveira and Luiz Alexandre Peternelli.

The introduction of varieties of sugarcane borer resistant sugarcane is an important tool to reduce the loss in production caused by this key pest. The aim of this study was to evaluate the oviposition preference and *Diatraea saccharalis*' larval performance in sugarcane genotypes, as well as to characterize the mechanisms and causes of resistance to this pest. In this manner, it can help the selection of the genotypes to be used as genitors in programs of sugarcane breeding in order to obtain resistant varieties. The experiments were performed at the Experience Center in Sugarcane (CECA) from Universidade Federal de Viçosa (UFV). In the first chapter, we evaluated the oviposition preference with and without choice of *Diatraea saccharalis* in eight sugarcane clones (IJ76-314, IM76-228, RB825336, RB867515, RB985523, SP80-1842, SP80- 3280 and TUC71-7), which were evaluated in all portions of the two experiments the amount of eggs, postures and reason eggs/posture. After evaluation of the clones in the experiment no choice, these were used in the fertility test of eggs. In the experiment with free choice were also evaluated the characteristics of plant (leaf width, SPAD readings, lignin content and uptake of volatile plants) and insects (distribution of positions in plants). In the second chapter, the paper evaluated the effect of the same eight clones survival of the newly hatched larvae and the visual damage level in the leaves of sugar cane with four months-age. Besides, the study dealt with the effect of genotypes on the establishment of the caterpillars inside the stalks at six months age. At the end of the experiment, it was possible to evaluate the percentage of larval survival, rate of infestation, the average weight gain of insects, percentage of pupation and injury. In a complementary study, in the larval development experiment were added 16 clones of sugarcane, totaling 24 genotypes. The clone IM76-228 was the least preferred for oviposition in free choice experiment and had higher amounts of volatility compounds. When evaluated the experiment no choice and fertility of eggs revealed no significant differences between the variables. The *Diatraea saccharalis* prefer to lay eggs in the apical third of the sugarcane leaves. The IM76-228 and RB867515 variety had the lowest percentages of survival, with the smallest visual damage note to IM76-228 in

sugarcane leaves at four months old. Larval performance inside of sugarcane stalks was lower in clone IM76-228 and presented the lowest rates of infestation and injury.

INTRODUÇÃO GERAL

O interesse mundial em cana-de-açúcar aumentou significativamente nas últimas décadas. O exemplo brasileiro de produção de etanol de cana-de-açúcar como um combustível líquido tem mostrado que culturas dedicadas a biomassa renovável pode dar uma contribuição importante aos requisitos de energia do mundo e, ao mesmo tempo, contribuir para a redução das emissões de gases de efeito estufa. O Brasil é líder mundial na produção de cana-de-açúcar e seus derivados, e é um dos líderes no desenvolvimento biotecnológico de novas variedades de cana-de-açúcar. De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), a previsão do total de cana moída na safra 2015/16 é de 663,11 milhões de toneladas, e a estimativa é que a produção do país tenha um incremento de 4,5% em relação à safra passada (CONAB, 2015). Nos próximos anos, os mercados do açúcar e do etanol serão norteados pela crescente demanda deste último produto.

Insetos pragas constituem um estresse biótico importante entre os vários fatores limitantes que afetam a produção de cana-de-açúcar (Dinardo-Miranda, 2008). Na agricultura mundial, as estimativas das perdas na produtividade provocadas por pragas e doenças correspondem a 37% da produção, dos quais 13% são causadas por insetos pragas (Silva-Filho & Falco, 2000). Nesse contexto, a utilização de variedades tolerantes a insetos tem sido uma alternativa eficaz para o controle de pragas na agricultura, sendo a tecnologia mais importante e de menor custo para o produtor, e o desenvolvimento dessas variedades pode ser melhorada com o conhecimento dos mecanismos de resistência das plantas e os genes envolvidos (Broekgaarden et al., 2011).

Programas de melhoramento de plantas visando resistência a insetos necessitam de planejamento adequado, visto que envolvem diversas etapas de execução, sendo essencial que o programa conte com uma equipe multidisciplinar, havendo uma cooperação entre entomologistas e melhoristas. Estima-se que a cada dólar investido em programas de resistência, exista retorno aproximado de 300 dólares, justificando a continuidade de pesquisas em busca de fontes de resistência (Wiseman & Davis, 1990). A melhoria da eficiência na seleção de materiais genéticos resistentes a pragas é uma demanda importante do Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar da Universidade Federal de Viçosa (PMGCA/UFV).

Diversos programas de melhoramento de cana-de-açúcar não têm feito screening de grandes populações visando à resistência a insetos, e em alguns casos nem mesmo protocolos para avaliação da resistência de cultivares e clones selecionados, estão disponíveis para uso, devido à dificuldade com bioensaios com insetos (móveis) em larga escala.

Comparado com as doenças da cana-de-açúcar, relativamente pouco tem sido feito em criação e seleção de clones com resistência a insetos-pragas (Berding et al., 2004; Barbosa & Silveira, 2012). No entanto, algumas variedades estão sendo relatadas como resistentes a brocas e insetos sugadores (Allsopp et al., 2000; White et al., 2001; Akbar et al., 2010; Zhou et al., 2010; Garcia et al., 2011; Valverde, 2012; Soares, 2014; Tomaz, 2014, Chaves et al., 2014; Chaves, 2015), podendo-se assim estudar a resistência da planta, em uma abordagem de longa duração, para minimizar os danos causados pelas insetos pragas.

Entre os insetos pragas, a broca-da-cana, *Diatraea saccharalis*, tem impactado negativamente a qualidade tecnológica da cana-de-açúcar utilizada como matéria-prima na indústria, reduzindo a produtividade e o teor de açúcar nos colmos e aumentando o conteúdo de fibra. A ocorrência de *D. saccharalis* nos canaviais pode ser extremamente destrutiva, chegando a inviabilizar a atividade agrícola dependendo da intensidade de ataque. Para cada 1% de intensidade de infestação (II%) de broca, ocorrem perdas de 0,25% de açúcar, 0,20% de álcool e 0,77% na produção de colmos (Almeida et al., 1997), enquanto que para Arrigoni (2002), os prejuízos causados por *D. saccharalis* podem chegar a 0,49% de açúcar, 0,28% de álcool e 1,50% na produção.

Em cana-de-açúcar, Bischoff et al. (2009), demonstraram que por meio do melhoramento tradicional tem sido selecionados variedades tolerantes à broca-da-cana, embora o reconhecimento dos fatores que conferem resistência às plantas ao ataque da broca seja limitado e parcial, encontrando diferenças nos resultados obtidos por alguns pesquisadores (Sosa, 1988; White et al 2006; Dinardo-Miranda et al., 2012).

Este estudo teve como objetivo geral avaliar o desempenho larval e a preferência de oviposição de *Diatraea saccharalis* em genótipos de cana-de-açúcar, assim como, caracterizar os mecanismos e as causas de resistência a esta praga.

REFERÊNCIAS

- Akbar, W.; Showler, A.; Reagan, T.; White, W. 2010. Categorizing sugarcane cultivar resistance to the sugarcane aphid and yellow sugarcane aphid (Hemiptera: Aphididae). *Journal of economic entomology*, v.103 (4), p.1431-1437.
- Allsopp, P.G.; McGill, N.G.; Stringer, J.K. 2000. Host-plant resistance in sugarcane to pink ground pearls, *Eumargarodes laingi* (Hemiptera: Margarodidae): Confirmation and further screening of clones. *Australian journal of entomology*, v.39, p.316-321.
- Almeida, L. C.; Arrigoni, E. B.; Rodrigues Filho, J. P. 1997. Modelo de análise econômica para avaliação do controle biológico da broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis*. In: Seminário Copersucar de Tecnologia Agronômica, 7. Piracicaba. Anais. Piracicaba: Copersucar, 1997.p. 95-104.
- Arrigoni, E. de B. 2002. Broca da cana-de-acucar – importância econômica e situação atual. In: ARRIGONI, E. DE B.; DINARDO-MIRANDA, L.L.; ROSSETO, R. Pragas da cana-de-açúcar – importância econômica e enfoques atuais. Piracicaba: STAB, p.1-4.
- Barbosa, M.H.P.; Silveira, L.C.I. 2012. Melhoramento genético e recomendação de cultivares. In: SANTOS, F.; BOREM, A.; CALDAS, C. (Eds.). Cana-de-açúcar: bioenergia, açúcar e etanol, 2º ed. UFV, Viçosa-MG, p.313-331.
- Berding, N.; Hogarth, M.; Cox, M. 2004. Plant improvement of sugarcane. In: JAMES, G. (Ed.). Sugarcane (2nd ed.). Blackwell Science, Oxford-UK, p.20–53.
- Bischoff, K.P., K.A. Gravois, T.E. Reagan, J.W. Hoy, C.M. Laborde, C.A. Kimbeng, G.L. Hawkins, AND M.J. 2009. Pontif. Registration of ‘L 99-226’ Sugarcane. *J. Plant Reg.* 3:241-247.
- Broekgaarden, C.; Snoeren, T.A.; Dicke, M.; Vosman, B. 2011. Exploiting natural variation to identify insect-resistance genes. *Plant Biotechnol J*, 9, 819-825.

Chaves, V. V. 2015. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila “a” em genótipos de cana-de-açúcar infestados por cigarrinha-das-raízes *Mahanarva fimbriolata*. Viçosa: UFV, 2015. 33f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

Chaves, V. D. V., Pimentel, G. V., Valverde, A. H. P., Silva, L. A., Barbosa, M. H. P., & Peternelli, L. A. 2014. Biology and preferred oviposition site of the *Mahanarva indentata* froghopper (Hemiptera: Cercopidae) on sugarcane. *Florida Entomologist*, 97(1), 73-79.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento (2015) <http://www.conab.gov.br>. Acessado em 27 de Novembro de 2015.

Dinardo-Miranda, L.L. Pragas. In: Dinardo-miranda, L.L.; Vasconcelos, A.C.M.; Landell, M.G.A. (Eds). 2008. Cana-de-açúcar. IAC, São Paulo, p. 349 – 404.

Dinardo-Miranda, L.L; Anjos, I.A; Da Costa, V.P; Fracasso, J.V. 2012. Resistance of sugarcane cultivars to *Diatraea saccharalis*. *Pesquisa agropecuária brasileira*, v. 47(1), p. 1-7.

Garcia, J.F.; Prado, S.; Vendramim, J.; Botelho, P. 2011. Effect of sugarcane varieties on the development of *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae). *Revista colombiana de entomología*, v.37 (1), p.16-20.

Silva-Filho, M.C.; Falco, M.C. 2000. Interação planta-inseto: adaptação dos insetos aos inibidores de proteinase produzidos pelas plantas. *Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento*, 2: 38-42.

Soares, B. O. 2014. Metodologia e avaliação de mecanismos de resistência da cana-de-açúcar à cigarrinha das raízes. Viçosa: UFV, 2014. 60f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

Sosa, O. 1988. Pubescence in sugarcane as a plant resistance character affecting oviposition and mobility by the sugarcane borer (Lepidoptera: Pyralidae). J. Econ. Entomol. v. 81, p. 661-667.

Tomaz, A. C. 2014. Genetic divergence and resistance of sugarcane genotypes to *Diatraea saccharalis*. Viçosa: UFV, 2014. 55f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

Valverde, A. H. P. 2012. Screening for resistance and identification of tolerance in sugarcane genotypes to spittlebug *Mahanarva fimbriolata*. Viçosa: UFV, 2012. 58f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

White, W.H., J.D. Miller, S.B. Milligan, D.M. Burner, AND B.L. 2001. Legreagan. Inheritance of sugarcane borer resistance in sugarcane derived from two measures of insect damage. Crop Sci. 41:1706–on the arthropod fauna of a Louisiana sugarcane field. Environ. p. 1710.

White, W.H; Tew, T.L; Richard, E.P. 2006. Association of sugarcane pith, rind hardness, and fiber with resistance to the sugarcane borer. Journal American Society Sugar Cane Technologists, v. 26, p. 87-100.

Wiseman, B.R.; Davis, F.M. 1990. Plant resistance to insects attacking corn and grain sorghum. Florida Entomologist, v.73, n.3, p.446-458.

Zhou, M.M.; Kimbeng, C. A.; Silva J. A.; White, W. H. 2010. Cross-resistance between the mexican rice borer and the sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae): a case study using sugarcane breeding populations. Crop science, v. 50, p. 706–710.

CAPÍTULO 1
PREFERÊNCIA PARA OVIPOSIÇÃO DE *Diatraea saccharalis*
EM GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR

RESUMO

A broca-da-cana *Diatraea saccharalis* Fabr. (Lepidoptera: Crambidae) é uma das mais importantes pragas de cana-de-açúcar no Brasil e é amplamente distribuída nos canaviais de todo o país. O objetivo desse trabalho foi avaliar a preferência de oviposição pela *D. saccharalis* com e sem chance de escolha, em genótipos de cana-de-açúcar, *Saccharum* spp.. Os experimentos foram realizados em laboratório com a utilização de gaiolas. Os clones de cana-de-açúcar utilizados foram: IJ76-314, IM76-228, RB825336, RB867515, RB985523, SP80-1842, SP80-3280 e TUC71-7. No experimento sem chance de escolha, onde a escolha delimita à apenas um genótipo, foram liberados no centro das gaiolas 12 casais de *D. saccharalis* de aproximadamente um dia de idade. Os clones avaliados no experimento sem chance de escolha foram utilizados para o teste de fertilidade dos ovos. Para o experimento com chance de escolha, onde a escolha delimita à vários genótipos, foram liberados 24 casais de *D. saccharalis* de aproximadamente um dia de idade distribuídos uniformemente no interior das gaiolas. Em ambos os experimentos, 24 horas após a liberação dos adultos, as plantas de cada genótipo foram retiradas para a contagem de ovos e substituídas por plantas não ovipositadas. Após o mesmo período de tempo as novas plantas foram coletadas e inspecionadas, totalizando 48 horas de experimentação. Foram avaliadas em todas as parcelas dos dois experimentos os caracteres: posturas unitárias, posturas pequenas, posturas medianas, posturas grandes, total de posturas, o número total de ovos por planta e a razão ovos por postura. No experimento com chance de escolha também foram avaliadas a largura máxima da folha +1, o teor de lignina, a distribuição das posturas na planta, as leituras SPAD basal, SPAD mediana e SPAD apical das regiões foliares, além da média do SPAD. Os experimentos sem chance de escolha e teste de fertilidade dos ovos não revelaram diferenças significativas entre as médias dos caracteres, demonstrando assim, que os genótipos são igualmente preferidos para oviposição pela *D. saccharalis*. Quando avaliado com chance de escolha, o genótipo IM76-228 apresentou a menor preferência por oviposição pela *D. saccharalis*, em relação a variedade RB867515 de maior preferência, caracterizando resistência do tipo

antixenose. No estudo de voláteis, trinta e três compostos foram selecionados, dos quais treze diferiram entre os clones testados, tendo sido observados maiores quantidades de compostos voláteis no IM76-228. A distribuição das posturas nas plantas apresentou forte evidência de preferência da *D. saccharalis* para ovipositar no terço apical das folhas de cana-de-açúcar.

Palavras-chave: *Diatraea saccharalis*, oviposição e IM76-228

ABSTRACT

The sugarcane borer *Diatraea saccharalis* Fabr. (Lepidoptera: Crambidae) is one of the most important pests of sugarcane in Brazil and it is broadly distributed in the cane fields around the country. The objective of this study was to evaluate the non-preference for oviposition by *Diatraea saccharalis* with and without choice in sugarcane genotypes, (*Saccharum* spp.). The confines experiments were performed in the laboratory and clones of sugarcane were: IJ76-314, IM76-228, RB825336, RB867515, RB985523, SP80-1842, SP80-3280 and TUC71-7. In the trial without choice, which choice delimits the only one genotype, it was released 12 *Diatraea saccharalis* couples with approximately one-day-old. The clones studied in the experiment without choice were used to test the fertility of the eggs. For the experiment with free choice, which choice defines the various genotypes, it was released 24 sugarcane borer couples with approximately one-day-old uniformly inside the cages. In both experiments, 24 hours after the release of adult plants, each genotype plant were removed for egg counts and replaced by non-oviposited plants. After the same period of time, the new plants were collected and inspected, totalizing 48 hours of experimentation. It was evaluated, in all the installments of the two experiments, the variables: unit posture, small postures, medium postures, large postures, total of postures, total number of eggs per plant and the ratio eggs per postures. In the experiment with choice, it was also assessed the maximum sheet width +1, the lignin content, the distribution of postures in the plant, the basal SPAD readings, the median SPAD, the apical SPAD in leaves areas and the SPAD average. The experiments without choice and egg's fertility didn't reveal significant differences between the variables, demonstrating that the genotypes are also preferred for oviposition by *Diatraea saccharalis*. When it was measured with choice, the IM76-228 genotype showed the lowest preference for oviposition by *Diatraea saccharalis*, describing the resistance type known as antixenosis. In the study of volatility, it was selected thirty-three compounds and thirteen differed from tested clones. The distribution of posture in plants showed strong evidence about the preference of the *Diatraea saccharalis* to oviposit eggs in the apical third of the sugarcane leaves.

Keywords: *Diatraea saccharalis*, oviposition, IM76-228

1. INTRODUÇÃO

A *Diatraea saccharalis* Fabr. (Lepidoptera: Crambidae), conhecida como broca-da-cana é uma das mais importantes pragas da cana-de-açúcar no Brasil, por reduzir significativamente a produtividade em campo e a qualidade da matéria-prima (Dinardo-Miranda, 2008). Essa praga apresenta desenvolvimento holometabólico, isto é, passa pelas fases de ovo, larva, pupa e adulto (Botelho & Macedo, 2002), cuja duração do ciclo biológico é bastante variável e dependente de diversos fatores, principalmente, do clima e da planta hospedeira (Dossi et al., 2004).

O adulto da broca-da-cana é uma mariposa com asas anteriores de coloração amarelo-palha com manchas escuras, e com aspecto de dois “V” invertidos. As asas posteriores são brancas. Apresenta dimorfismo sexual, sendo a fêmea maior, apresentando abdome volumoso e as asas de coloração menos pigmentadas do que as do macho. O macho apresenta como característica principal cerdas no último par de pernas, que são ausentes na fêmea (Botelho & Macedo, 2002).

O período de vida médio do adulto é de cinco dias (Botelho & Macedo, 2002). Após o acasalamento, a fêmea faz a postura nas folhas da cana-de-açúcar, de preferência na face dorsal com um período de oviposição de até quatro dias, onde são colocados a maioria dos ovos. O número de ovos em cada postura é variável, sendo esta imbricada, assemelhando-se a um segmento de couro de cobra ou escama de peixe (Gallo et al., 2002). A *D. saccharalis* oviposita de 300 a 600 ovos de forma agrupada e, em massas de cinco a 50 ovos (Terán et al., 1988). No início, são de coloração amarelo-pálida, passando à rósea até chegar a marrom-escuro, quando são visíveis as cápsulas cefálicas dos embriões no interior do ovo (Botelho & Macedo, 2002).

Após a eclosão, que se dá em 4 a 9 dias, as lagartas recém-eclodidas alimentam-se do parênquima das folhas da cana-de-açúcar, convergindo em seguida para a bainha (Gallo et al., 2002). Os danos causados pelas lagartas através da alimentação no interior dos colmos resultam na abertura de galerias e quando o ataque ocorre em canaviais jovens causam a morte da gema apical, sintoma conhecido como “coração morto”. Em canaviais mais desenvolvidos, o ataque da praga resulta em redução da produtividade agrícola, pois os colmos perdem peso, são menores e mais finos, muitos secam e morrem, outros se quebram pela ação do vento, já que estão mais frágeis devido às galerias em seu interior (Gallo et al., 2002; Dinardo-Miranda, 2010).

Com o crescente impacto da *D. saccharalis* nos canaviais, novas estratégias devem ser desenvolvidas de forma sustentável, viável financeiramente (Demetrio et al., 2008) e que incorpore todas as táticas relevantes, incluindo resistência do tipo antixenose para oviposição.

Embora existam poucas informações acerca dos tipos de resistência a *D. saccharalis* (Boiça Junior et al., 1997; Silva, 2009), alguns estudos em diversas variedades de cana-de-açúcar confirmam que os principais mecanismos de resistência a insetos broqueadores são antixenose (não preferência) e antibiose (Meagher et al., 1996), dividindo-os em resistência da folha e do caule, envolvendo barreiras físicas e químicas.

Muitas evidências sugerem que os caracteres morfológicos e químicos das plantas agem como barreiras à alimentação e oviposição por insetos, tais como a presença de nervuras (Horton, 1990), orientação das folhas (Rojas & Wyatt, 1999), sinais químicos da planta (Bentz & Larew, 1992), folha pubescence (Greco et al., 1998), cor (Levinson et al., 2003), estágio fenológico (Moré et al., 2003), e forma da folha (Hirota & Kato, 2001). Outros fatores, tais como estresse, o estado nutricional (Showler & Moran, 2003) e a presença de ovos coespecíficos (Hilker & Meiners, 2002; Ulmer et al., 2003; Hilker et al., 2005) também podem influenciar a seleção hospedeira por insetos herbívoros indiretamente afetando a expressão fenotípica de plantas.

Na resistência das folhas, a pilosidade das folhas e colmos foi relatada por Sosa (1990) como barreiras físicas que afetam a oviposição dos insetos, visto que fêmeas de *D. saccharalis* tiveram preferência em ovipositar sobre canas glabras do que em canas com tricomas. De acordo com Smith (2005), a antixenose ocasionada pela presença de tricomas é um mecanismo de defesa que algumas plantas, incluindo a cana-de-açúcar, apresentam contra o ataque de insetos da família Pyralidae.

Entretanto, Dinardo-Miranda et al. (2012), não encontraram uma relação clara entre a presença de tricomas e a quantidade de ovos de *D. saccharalis*, sugerindo a importância de outros fatores como a emissão de voláteis. A altura e a arquitetura da planta são características que influenciam na resistência das variedades, pois plantas mais altas e com folhas mais eretas facilitam a oviposição (Agarwal, 1969). Em compensação plantas altas podem significar maior produtividade e folhas eretas melhoram a capacidade fotossintética (Long et al., 2006).

Estudos anteriores com *D. saccharalis* têm demonstrado diferenças significativas na suscetibilidade de variedades de arroz para preferência de oviposição (Hamm et al., 2012; Sidhu, 2013) e em cana-de-açúcar (Souza, 2011; Dinardo-Miranda et al., 2012). Este tipo de estudo tem como vantagens facilitar a aferição e a gestão da broca-da-cana, podendo ser utilizado na prospecção e no desenvolvimento de variedades resistentes.

De acordo com Rutherford (2014), há um consenso crescente de que variedades resistentes é o produto mais eficaz e adequado para a gestão de pragas e doenças. No entanto, a ausência de técnicas para avaliar e classificar as populações da cana-de-açúcar para resistência à broca tem dificultado o desenvolvimento de variedades resistentes (White et al., 2006).

O objetivo do presente trabalho foi determinar a preferência pela oviposição da *D. saccharalis* com e sem chance de escolha, além de caracterizar os mecanismos e as causas de resistência entre os genótipos de cana-de-açúcar, visando facilitar a prospecção de variedades resistentes.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos para determinar a preferência pela oviposição da *D. saccharalis* com e sem chance de escolha foram realizados de abril a novembro de 2015 no Centro de Experimentação em Cana-de-açúcar (CECA) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), localizado no município de Oratórios (20° 25' 5" S, 42° 47' 28" W; altitude = 492 m), em Minas Gerais, Brasil.

Os insetos utilizados em todos os experimentos foram obtidos a partir de uma criação em massa com dieta artificial de acordo com a metodologia proposta por Hansley & Hammond (1968), adaptado por Araújo et al. (1985).

Para a obtenção das plantas usadas nos experimentos, os colmos foram seccionadas em toletes de 5 cm contendo uma gema lateral e germinados em bandejas de plástico de 36 cm x 50 cm com substrato agrícola (Plantmax® Agro). Em seguida, 30 dias após o plantio, as mudas foram transplantadas para vasos plásticos de 500 ml com substrato e mantidas em casa de vegetação ($26 \pm 10^{\circ}\text{C}$ de temperatura, $75 \pm 20\%$ de umidade relativa e 12 ± 2 horas fotofase), sendo uma planta por vaso (Figura 1). Quando as plantas atingiram 50 dias de idade foram iniciados os testes.

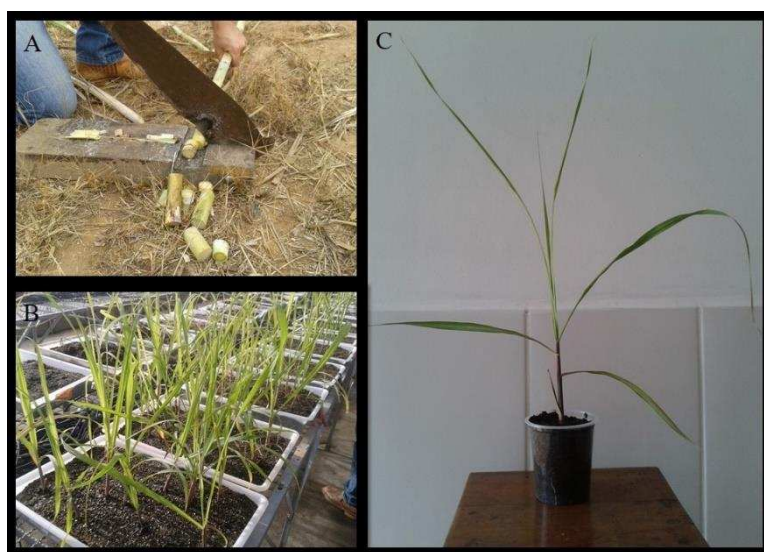


Figura 1 – Preparo das mudas. A) colmos de cana-de-açúcar seccionados em pequenos toletes contendo uma gema lateral; B) germinação em bandejas plásticas; C) Plantas com 50 dias utilizadas nos testes de preferência de oviposição.

Para a realização dos experimentos foram utilizadas gaiolas de 0,5 m de largura $\times$ 0,8 m de comprimento $\times$ 1,0 m de altura, vedada com tela anti-afídeo.

2.1. Sem chance de escolha

O experimento sem chance de escolha (teste preliminar), caracteriza por ser um teste onde existe uma única escolha (genótipo), foi realizado no delineamento inteiramente casualizado (DIC) com 4 repetições em esquema fatorial 3×2 , sendo avaliados duas variedades (RB867515 e SP80-3280) e o clone (IM76-228) e 2 posições (centro e laterais da gaiola) das plantas no interior das gaiolas. Cada parcela foi constituída por 4 plantas.

Inicialmente foram liberados no centro das gaiolas 12 casais de *D. saccharalis* de aproximadamente um dia de idade, onde foi testada a interferência das posições das plantas dentro das gaiolas na escolha pela oviposição, assim como as diferenças entre os genótipos e a interação genótipo $\times$ posição (Figura 2).

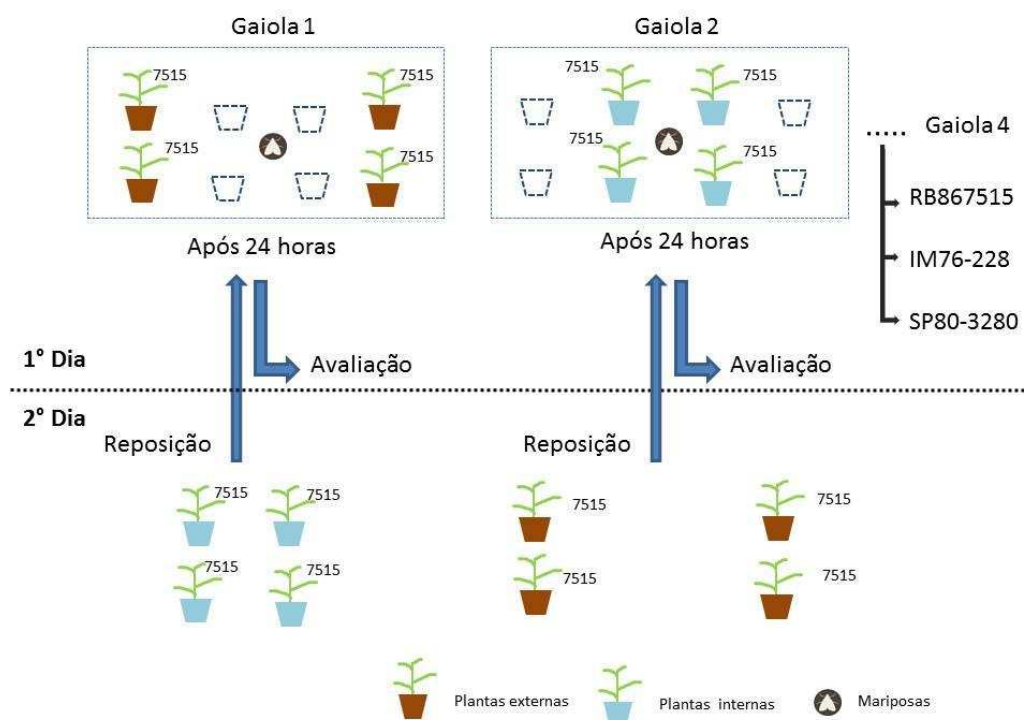


Figura 2 – Esquema detalhado da instalação das parcelas no experimento sem chance de escolha.

Vinte e quatro horas após a liberação dos adultos, as plantas de cada genótipo foram retiradas para a contagem de ovos e substituídas por plantas não ovipositadas. Após o mesmo período de tempo as novas plantas de cada genótipo foram coletadas e inspecionadas. Para cada troca das plantas foi feito um rodizio entre as posições das plantas dentro das gaiolas. Cada gaiola foi constituída de 2 parcelas, 4 plantas na posição central e 4 plantas na posição lateral.

As posturas de ovos foram identificadas e classificadas como unitárias (PU), pequenas (PP), medianas (PM) ou grandes (PG) em todas as plantas, possibilitando calcular o total de posturas (TP), onde: $TP = PU + PP + PM + PG$. Para a definição do número médio de ovos por postura, um total de 90 posturas em diferentes plantas foram contabilizadas com o auxílio de um estereoscópio, sendo 30 posturas pequenas (PP), 30 posturas medianas (PM) e 30 posturas grandes (PG). Com isso, foi possível calcular o número total de ovos por planta ($TO = n^{\circ} \text{ de PU} \times 1 + n^{\circ} \text{ de PP} \times n^{\circ} \text{ médio de ovos PP} + n^{\circ} \text{ de PM} \times n^{\circ} \text{ médio de ovos PM} + n^{\circ} \text{ de PG} \times n^{\circ} \text{ médio de ovos PG}$) e a razão ovos por postura (O/P).

A contagem de ovos ocorreu quando as posturas apresentaram coloração marrom-escuro, momento em que são visíveis as cápsulas cefálicas dos embriões no interior do

ovo. O número de ovos por parcela foi calculado considerando o número médio de ovos, de acordo com o tamanho das posturas e a quantidade de posturas em cada parcela.

Os três genótipos IM76-228, SP80-3280 e RB867515 avaliados no teste sem chance de escolha, também foram utilizados para o teste de fertilidade dos ovos. No total, 10 plantas de cada genótipo foram utilizadas para contagem do número total de ovos. Após 7 dias da oviposição foram obtidas as porcentagens de lagartas eclodidas (EC %), em cada genótipo.

2.2. Com chance de escolha

No experimento com chance de escolha, caracteriza por ser um teste onde existe mais de uma escolha (genótipo), foram avaliados 8 genótipos (IJ76-314, IM76-228, RB825336, RB867515, RB985523, SP80-1842, SP80-3280 e TUC71-7) em 5 repetições no delineamento em blocos casualizados (DBC). Cada parcela foi constituída por 2 plantas.

Foram liberados 24 casais de *D. saccharalis* de aproximadamente um dia de idade distribuídas uniformemente no interior das gaiolas. Vinte e quatro horas após a liberação dos adultos, as plantas de cada genótipo foram retiradas para a contagem de ovos e substituídas por plantas não ovipositadas. Após o mesmo período de tempo as novas plantas foram coletadas e inspecionadas. Portanto, conforme já mencionado, a parcela foi constituída de 2 plantas, a do primeiro e do segundo dia de inspeção (Figura 3).

A contagem das posturas (TP), dos ovos (TO) e da razão ovos por postura (O/P) foi semelhante ao realizado no ensaio sem chance de escolha. No entanto, um total de 180 posturas em diferentes plantas, 60 posturas pequenas (PP), 60 posturas medianas (PM) e 60 posturas grandes (PG) foram utilizadas na contabilização do número médio de ovos por postura, para definir o total de ovos por planta ($TO = n^{\circ} \text{ de PU} \times 1 + n^{\circ} \text{ de PP} \times n^{\circ} \text{ médio de ovos PP} + n^{\circ} \text{ de PM} \times n^{\circ} \text{ médio de ovos PM} + n^{\circ} \text{ de PG} \times n^{\circ} \text{ médio de ovos PG}$).

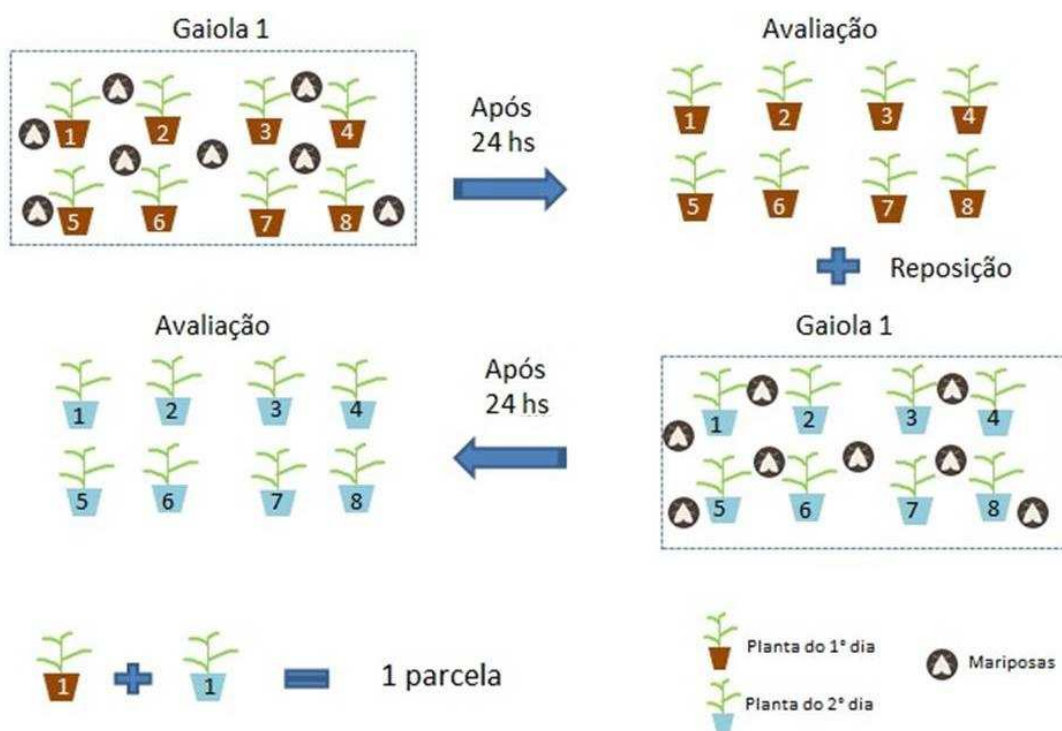


Figura 3 – Esquema detalhado da instalação das parcelas no experimento com chance de escolha.

Para quantificar a intensidade de verde da folha, foi utilizado o medidor de clorofila SPAD-502 (Konica MinoltaSensing, Osaka, Japan) empregado para medir o teor de clorofila das plantas, pois as medições SPAD correlacionam satisfatoriamente com as estimativas visuais da condição de folhagem (Fontes & Araujo, 2007). Foram realizadas três leituras da folha +1 de todas as plantas do ensaio, conforme o sistema de Kuijper (Figura 4) nas regiões basal, mediana e apical, com isso, foi possível obter a média das regiões foliares. Avaliou-se também a largura foliar máxima da folha +1, com auxílio de um paquímetro digital.

Os caracteres avaliadas em todas as parcelas foram: a largura máxima da folha +1 (LF), leituras SPAD basal (SPAD-B), mediana (SPAD-M) e apical (SPAD-A) das regiões foliares, além da média do SPAD (SPAD-MÉDIO).

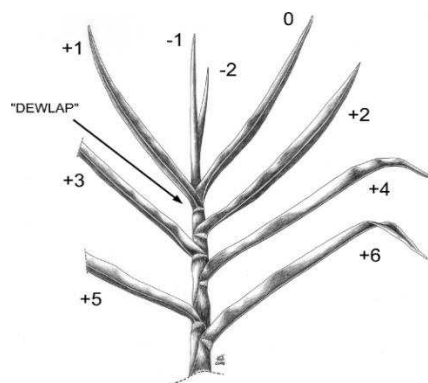


Figura 4 - Sistema Kuiper de numeração de folhas (Cheavegatti-Gianotto, 2011), consiste em designar como +1 a primeira folha de cima para baixo, que se apresenta inserida com a aurícula (colarinho) bem visível (dewlap). As folhas de baixo passariam a receber a numeração +2, +3, etc. As acima da +1 seriam 0, -1, -2, -3, etc.

Ao final do experimento com chance de escolha, ocorreu a colheita das plantas, onde os colmos de cada genótipo foram submetidos à estufa (65°C) por 24 horas para secagem. Após esse período, os colmos foram triturados, peneirados em sequência de peneiras de 20 e 80 mesh. O material retido na peneira de 80 mesh foi identificado e armazenado para posterior leitura no espectrômetro de infravermelho próximo (Near-infrared - NIR).

Para a obtenção dos espectros de infravermelho próximo (NIR), aproximadamente 1 grama da amostra armazenada foi depositada em um recipiente de quartzo onde foi realizada a leitura no instrumento NIR.

Os espectros NIR foram obtidos segundo metodologia proposta por Assis (2014). O Software Matlab 7.8 (Math Works, Natick, USA), modelo já conhecido (Assis, 2014) foi usado para a previsão multivariada construído para o teor de lignina.

2.2.1. Distribuição das posturas

A distribuição das posturas de ovos na planta (DP) foi avaliada no delineamento em blocos casualizados (DBC) com 10 repetições em esquema fatorial 8x4, com 8 genótipos (IJ76-314, IM76-228, RB825336, RB867515, RB985523, SP80-1842, SP80-3280 e TUC71-7) e 4 locais de posturas (colmo, região basal, mediana e apical das folhas). Cada parcela foi constituída por 1 planta.

2.2.2. Compostos voláteis das plantas

Para a extração dos compostos voláteis das plantas de cana-de-açúcar foram feitas as aerações em 3 genótipos (IM76-228, RB867515 e SP80-3280), previamente selecionados com base no teste com chance de escolha pela preferência de oviposição da *D. saccharalis*.

Inicialmente determinou-se o melhor tempo de aeração na captação dos voláteis para maior concentração destes. Para tanto, 3 plantas/vaso de cana-de-açúcar da variedade RB867515 de mesma idade fenológica (60 dias) foram acondicionadas em campânulas de vidro, por um período de 24 e 48 horas. Foram conectados a estas campânulas de vidro, os filtros de carvão ativo para a limpeza do ar que entra nos tubos e os filtro de resina HayeSep-Q (80/100 mesh; Alltech, Deerfield, IL, USA), onde os compostos orgânicos voláteis ficaram adsorvidos. Posteriormente a determinação do melhor tempo foram feitas as aerações dos três genótipos em conjunto (Figura 5).

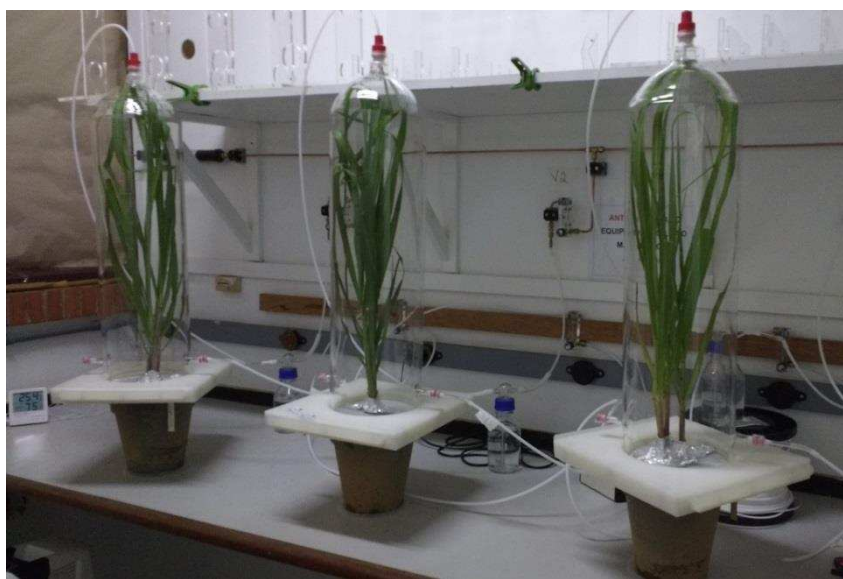


Figura 5 - Esquema detalhado da instalação de aeração dos genótipos de cana-de-açúcar, RB867515 (esquerda), IM76-228 (centro) e SP80-3280 (direita).

A aeração foi feita com o auxílio de um compressor, que empurra o ar fazendo com que este passe pelo filtro de carvão ativo, e de uma bomba de vácuo, que faz a sucção deste ar dentro das campânulas. Este processo permite que ocorra o carregamento dos compostos voláteis que ficaram adsorvidos à resina HayeSep-Q no filtro de saída, por um fluxo de ar de 0,5 L/min. Todo o material de vidro utilizado foi aquecido a 280°C durante 8 horas antes da utilização. Após a aeração, o compressor e a

bomba a vácuo foram desligados e os compostos orgânicos voláteis retidos na resina HayeSep-Q foram extraídos com a lavagem dos mesmos com 300 µL de n-hexano (Sigma Aldrich, USA), coletados em tubos de francke-vials e armazenados em freezer a -20°C.

Para identificação dos compostos, inicialmente os volumes das amostras foram reduzidos a 50 µl, a nitrogênio gasoso em vidros de francke-vials. Posteriormente adicionou-se a essas amostras o padrão interno (n-heptil acetato, “internal standard” - IS), concentração final 20 ng/µl. Este padrão interno é conhecido por ser separável dos demais compostos e não estar presente na amostra, servindo como um parâmetro de comparação.

As amostras diluídas em hexano foram analisadas em um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massa (GC-MS, Shimadzu, Modelo QP2010), por meio da injeção manual de 1 µl do extraído de hexano. O GC-MS utilizado está equipado com uma coluna capilar de sílica fundida (30 m x 0,25 mm) revestida com Rtx[®]-5MS (df= 0,25 µm; J W Scientific Folsom, CA, USA), utilizando o hélio com gás carreador (1mL/min.). A temperatura da coluna se inicia a 35°C, permanecendo por 5 minutos, e eleva a uma taxa de 8°C/min., até atingir 280°C, permanecendo por mais 5 minutos, totalizando um tempo de análise aproximadamente de 40 minutos.

As análises foram realizadas em modo splitless. Os dados foram analisados pelo programa GCMS solutions (Shimadzu Corporation) e a identificação baseou-se na comparação dos espectros de massa de cada composto com o banco de dados das bibliotecas NIST08 MS, FFNSC e Wiley. Com os tempos de retenção dos compostos e dos padrões de hidrocarbonetos (C7 – C30), foram identificados os compostos das amostras tendo como base os índices de Kovats (KI) tabelados por Adams et al. (2007).

2.3. Análise estatística

Para a análise estatística das variáveis de oviposição (PU, PP, PM, PG, TP, TO, O/P) foi realizada a transformação dos dados de contagem via raiz quadrada ($x + 0,5$). Para os dados de percentagens (DP %, EC % e Lignina %) foi realizada a transformação via arco seno da raiz quadrada de $x/100$. Após a análise de variância de todas as variáveis avaliadas nos experimentos com e sem chance de escolha, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Essas análises foram executadas com o auxílio do software R (R Development Core Team, 2014).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Sem chance de escolha

De acordo com a análise de preferência para oviposição sem chance de escolha, a média do número de ovos em relação ao tamanho das posturas foram: posturas pequenas com 9,66 ovos, posturas medianas com 24,95 ovos e posturas grandes com 62,72 ovos.

No teste preliminar de localização das plantas dentro das gaiolas pela preferência de oviposição à *D. saccharalis* sem chance de escolha, não houve diferença significativas a 5% de probabilidade pelo teste F entre os genótipos, posições e interação genótipo $\times$ posição (Apêndice 1). Demonstrando assim, que independentemente da posição das plantas no interior das gaiolas, os genótipos (IM76-228, RB867515 e SP80-3280) são igualmente preferidos para oviposição pela *D. saccharalis* (Tabela 1).

Tabela 1 - Número total de posturas (TP = PU + PP + PM + PG), o número total de ovos por planta (TO), razão ovos por postura (O/P), e porcentagem de eclosão (EC %) para avaliação da oviposição e fertilidades dos ovos de *Diatraea saccharalis*, em genótipos de cana-de-açúcar sem chance de escolha.

Genótipos	TP	TO	O/P	EC %
SP80-3280	2,59 $\pm$ 1,69 ⁽¹⁾	67,51 $\pm$ 39,97	16,89 $\pm$ 5,20	21,90 $\pm$ 15,16
RB867515	7,28 $\pm$ 8,39	73,64 $\pm$ 77,64	27,71 $\pm$ 15,56	25,30 $\pm$ 20,20
IM76-228	0,78 $\pm$ 0,41	32,69 $\pm$ 16,68	16,50 $\pm$ 6,38	38,65 $\pm$ 25,13
Média geral	3,55	57,95	20,36	28,62
CV (%)	56,16	95,23	78,66	50,64
p-valor	0,1337	0,5646	0,228	0,1545

⁽¹⁾ Média $\pm$ desvio padrão

Souza (2011) em seu estudo observou diferenças significativas entre as variedades, para a quantidade de ovos e posturas no experimento sem chance de escolha. Em sua metodologia, após 24 horas da liberação dos casais de *D. saccharalis*, foram iniciadas a coleta das posturas nas folhas durante quatro dias consecutivos. No entanto, em nosso estudo houve a troca de plantas ovipositadas por plantas não ovipositadas evitando, assim, que substâncias presentes nos ovos pudessem permanecer

mesmo após a coleta das posturas e, interferissem na preferência de oviposição pelos adultos da broca-da-cana.

Diversos autores relatam que semioquímicos provenientes de substâncias depositadas sobre ou próximo aos ovos no momento da oviposição, ou utilizadas para fixá-los ao substrato, podem atuar na atração a curta distância a outros insetos (Ferreira et al. 1979; Shu & Jones 1989; Renou et al. 1992). Todavia, observações sugerem que fêmeas grávidas ovipositam preferencialmente perto de ovos coespecíficos, devido à preferência de oviposição agregada (Navasero & Ramaswamy 1993; Hilker & Meiners 2002; Ulmer et al. 2002, 2003; Byers 2009). Portanto, a presença de semioquímicos nas posturas da *D. saccharalis* pode ser um fator importante, uma vez que podem interferir na escolha do hospedeiro durante a oviposição.

No teste de fertilidade, a porcentagem média de lagartas eclodidas (EC %) após 7 dias da oviposição, foi de 38,65%, 25,30% e 21,90% para os genótipos IM76-228, RB867515 e SP80-3280, respectivamente (Tabela 1). Entretanto, não houve diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os clones quanto à fertilidade média dos ovos (Tabela 1), indicando que não houve mudanças na resposta dos clones em relação à deposição dos ovos, tal como alterações no tecido vegetal, podendo afetar diretamente a herbívoros e reduzir o número de ovos viáveis por diferentes meios, como por exemplo através de queda de ovo devido à formação de neoplasia (Doss et al., 2000) ou por dessecação dos ovos devido a uma reação de hipersensibilidade (Balbyshev & Lorenzen 1997), que implicaria em mecanismos de antibiose.

Mudanças químicas da superfície da planta em resposta à deposição de ovos também podem defender diretamente ou indiretamente a planta contra o herbívoro, evitando novas deposições de ovos, após a primeira postura (Blaakmeer et al., 1994), ou atraindo parasitoides e/ou predadores de ovos (Hilker & Meiners, 2002). No entanto, não podemos inferir que a aptidão dos ovos e lagartas recém-eclodidas de *D. saccharalis* foram afetadas pelos componentes químicos da planta, pois não foi avaliado a composição química destas após a oviposição, e as lagartas foram retiradas após o sétimo dia, devido a limitação alimentar (plantas pequenas de 50 dias, para uma grande quantidade de lagartas recém-eclodidas), não sendo mantidas por algumas gerações. De acordo com Berenbaum & Zangerl (1986), a partir da segunda e das gerações seguintes, a população de herbívoro pode ser afetada pelos compostos químicos da planta.

Estudos futuros sobre os mecanismos de indução de cana-de-açúcar pela oviposição de *D. saccharalis*, contribuíram para avaliar a importância do ferimento foliar ocasionado pela oviposição, identificar os indutores de oviposição na planta, elucidar a sua especificidade, e determinar os acontecimentos a nível fisiológico e morfológico, que sucedem após a deposição dos ovos na planta. Assim, novas evidências de que uma planta pode não só responder ao ataque por herbívoros durante a alimentação, mas como primeiro sinal de ataque futuro pela oviposição destes serão esclarecidos.

3.2. Com chance de escolha

Para a análise de preferência a oviposição pela *D. saccharalis* com chance de escolha, a média de ovos em relação ao tamanho das posturas pequena, mediana e grande foram de 10,03, 28,87 e 58,09 ovos, respectivamente.

Foram observadas diferenças significativas a 5% de probabilidade pelo teste F entre os genótipos para a quantidade de posturas ($P \leq 0,05$), ovos ($P \leq 0,05$) e razão ovos por postura ($P \leq 0,05$) (Figura 6). O genótipo menos ovipositado foi o IM76-228, apresentando 3,3 posturas totais, 80 ovos e razão 21,5 ovos por postura. Em relação à variedade RB867515, ocorreu 14,7 posturas totais. Pelas variedades SP80-1842, SP80-3280, TUC71-7, RB867515 e o clone IJ76-314 em totais de ovos, com a quantidade variando de 253,8 a 427,0 ovos e pela razão 38,1 ovos por postura com a RB825336 (Figura 6).

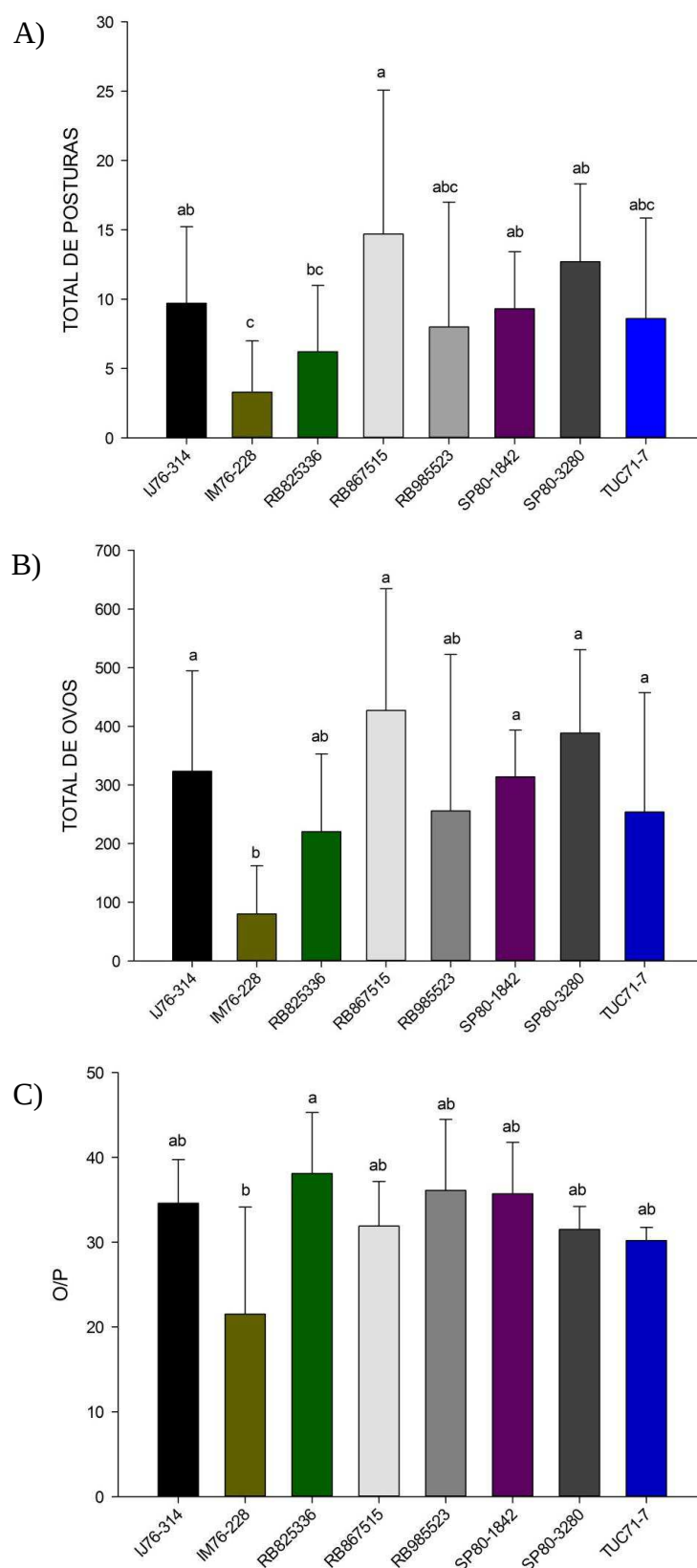


Figura 6 – A) Total de posturas (TP = PU + PP + PM + PG); B) o número total de ovos por planta (TO); C) razão ovos por postura (O/P), para avaliação da oviposição de *Diatraea saccharalis*, em genótipos de cana-de-açúcar com chance de escolha.

Quando as classes de posturas foram avaliadas, não houve diferenças significativas a 5% de probabilidade pelo teste F entre os genótipos para postura unitária (PU) ($P \geq 0,05$) (Apêndice 2). A estratégia de ovipositar em aglomerado pode conter vantagens para os ovos, larvas ou adultos, ao contrário de ovos isolados (Clark & Faeth, 1997), como a proteção dos ovos da dessecação (Clark & Faeth, 1998), bem como de fatores ambientais e biológicos, incluindo os parasitoides. Este último foi demonstrado particularmente em espécies que colocam aglomerados de ovos de várias camadas (Stamp, 1980). A conservação de energia pode também ser uma força motriz para fêmeas adultas a se agrupar ovos (Stamp, 1980; Herbert, 1983).

Para posturas pequenas, em média, a variedade RB825336 apresentou menor quantidade (0,5 posturas) em comparação com SP80-3280 (3,4 posturas). Para posturas medianas, no entanto, o IM76-228 apresentou menor média (1,1 posturas) em relação às variedades RB867515 e SP80-3280 (6,2 e 4,7 posturas, respectivamente) e, quando avaliada as posturas grandes, o mesmo apresentou a menor média (0,6 posturas), em comparação com os genótipos RB867515, SP80-3280, SP80-1842, e IJ76-314 (3,8, 3,8, 3,1 e 3,1 posturas, respectivamente), indicando que possivelmente exista a presença de fatores de repelência nas folhas das plantas daquele genótipo (Apêndice 2).

Diversos autores têm relatado diferenças entre variedades sobre a capacidade de atrair adultos de *D. saccharalis* a oviposição em cana-de-açúcar (Souza, 2011; Dinardo-Miranda et al., 2012), no milho (Greco et al., 1998; Moré et al., 2003), sorgo (Boiça Júnior & Lara, 1993; Waquil et al., 2001) e no arroz (Hamm et al., 2012; Sidhu, 2013). A existência de fatores que influenciam a preferência de oviposição da *D. saccharalis* e que, atuam negativamente na capacidade reprodutiva da broca, se dá principalmente devido à variedade de cana-de-açúcar em que se desenvolve (Terán et al., 1988).

Nesse estudo, o teor de lignina variou entre os genótipos de 21,40% (SP80-1842) para 26,16% (TUC71-7), sendo estas diferenças não significativas a 5% de probabilidade pelo teste F ($P \geq 0,05$), aos 50 dias de idade (Tabela 2).

Tabela 2 - Porcentagem de lignina, para avaliação da oviposição de *Diatraea saccharalis* com chance de escolha em genótipos de cana-de-açúcar.

Genótipos	% LIGNINA
IJ76-314	24,26 ± 1,98 ⁽¹⁾
IM76-228	24,74 ± 3,53
RB825336	23,81 ± 3,28
RB867515	22,32 ± 1,25
RB985523	25,68 ± 2,55
SP80-1842	21,40 ± 2,78
SP80-3280	22,22 ± 2,41
TUC71-7	26,17 ± 2,04
Média Geral	23,83
CV (%)	6,27
p-valor	0,3690

⁽¹⁾ Média ± desvio padrão seguido pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, com 5% de significância.

O formato da folha pode alterar as taxas de oviposição dos insetos (Mackay & Jones, 1989), e nesse trabalho foi observado diferença significativa entre os genótipos a 5% de probabilidade pelo teste F para largura máxima da folha +1 (LF) ($P \leq 0,05$). A RB867515 apresentou maior largura foliar em comparação com a IJ76-314, IM76-228, RB825336, RB985523, SP80-1842 e a TUC71-7 (Figura 7).

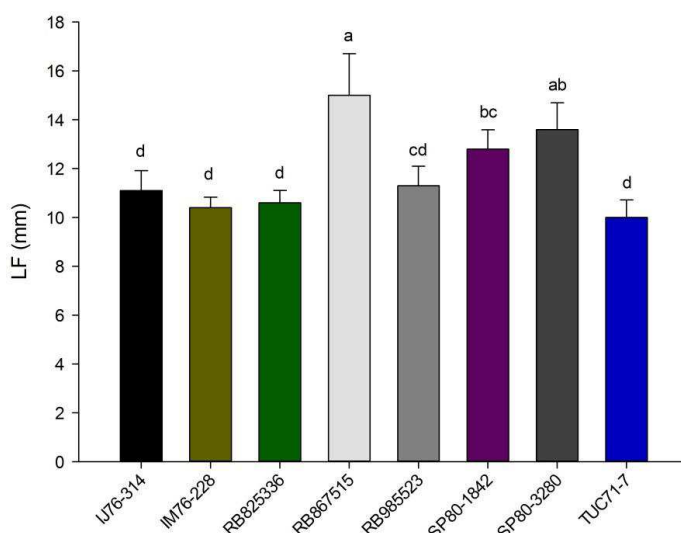


Figura 7 – Largura máxima da folha +1 (LF), para avaliação da oviposição de *Diatraea saccharalis* com chance de escolha em genótipos de cana-de-açúcar

Foi observado uma correlação positiva e significativa entre a largura da folha +1 com a quantidade de ovos ($r = 0,8102$; $P \leq 0,05$) e com o total de posturas ($r = 0,8485$; $P \leq 0,05$), indicando uma tendência, que quanto maior a largura foliar, maior a preferência pela oviposição da *D. saccharalis*, nos casos em que existe a chance de escolha pelo inseto (Tabela 3).

Tabela 3 – Coeficiente de correlação entre as variáveis total de posturas (TP), total de ovos (TO), largura máxima da folha +1 (LF), SPAD basal (SPAD-B), SPAD mediana (SPAD-M), SPAD apical (SPAD-A), SPAD médio (SPAD-MÉDIO) e o teor de lignina (%Lignina), avaliadas em cana-de-açúcar no experimento de oviposição de *D. saccharalis* com chance de escolha.

Caracteres	TP	TO	LF (mm)	SPAD-B	SPAD-M	SPAD-A	SPAD-MÉDIO
TO	0,9791*						
LF (mm)	0,8485*	0,8103*					
SPAD-B	-0,1845 ^{ns}	-0,2101 ^{ns}	-0,0001 ^{ns}				
SPAD-M	-0,1995 ^{ns}	-0,2541 ^{ns}	-0,0217 ^{ns}	0,8872*			
SPAD-A	-0,6553 ^{ns}	-0,7115*	-0,3646 ^{ns}	0,7445*	0,8138*		
SPAD-MÉDIO	-0,3891 ^{ns}	-0,4387 ^{ns}	-0,1516 ^{ns}	0,9288*	0,9590*	0,9204*	
%LIGNINA	-0,5369 ^{ns}	-0,5770 ^{ns}	-0,7928*	0,1416 ^{ns}	0,1609 ^{ns}	0,2717 ^{ns}	0,2108 ^{ns}

*: Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste t.

^{ns}: Não Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste t

Em alguns casos, no entanto, é difícil demonstrar se certo caráter morfológico contribui para resistência a insetos. Bioensaios simples, envolvendo respostas dos insetos sobre variedades vegetais de diferentes caracteres morfológicos, pode não fornecer elementos suficientes para provar o papel da morfologia da planta na resistência a insetos, porque tal resistência também pode ser transmitida por aleloquímicos (Smith et al., 1993).

Outro fator que influencia a seleção hospedeira por insetos herbívoros é o estado nutricional das plantas. O comportamento de ovipositar em substratos que garantam o desenvolvimento das suas larvas é regra geral que os insetos apresentam, assegurando dessa forma a sobrevivência da espécie (Lara, 1991).

Com a necessidade de estimar em tempo real, o estado nutricional da planta, de forma não destrutiva, tornou-se mais acentuada o uso do clorofilômetro (SPAD-502), que permite determinar a intensidade de verde da folha, estimar os teores de clorofila e de nitrogênio da folha.

Avaliações realizadas na folha do tomateiro (Guimarães et al., 1999), milho (Argenta et al., 2001), videiro-branco, trigo e batata (Uddling et al., 2007) indicam haver relação significativa entre leitura no clorofilômetro e teor de clorofila extraível, e indiretamente usados para determinar a concentração de nitrogênio na folha (Zebarth et al., 2003; Fontes & Araujo, 2007). Segundo Stefanescu et al. (2006) a reflectância e concentração de clorofila ao nível da folha pareceu ser um importante fator na determinação da presença ou ausência de posturas em *Euphydryas aurinia*. A preferência de oviposição por Lepidoptera foram relatadas em plantas com elevado teor de nitrogênio, sendo a preferência e sobrevivência das lagartas de primeiro instares maiores nestas plantas (Taylor & Forno, 1987; Chen et al., 2008).

Nesse estudo as leituras de SPAD da região basal, não apresentaram diferenças significativas a 5% de probabilidade pelo teste F ($P \geq 0,05$) (Tabela 4). O genótipo IM76-228 apresentou as maiores unidades SPAD nas regiões mediana (39,4 unidades), apical das folhas (41,5 unidades), como também para a média das três regiões da folha (38,8 unidades), em comparação com a variedade SP80-3280 (30,7, 28,4 e 29,5 unidades, respectivamente) (Tabela 4). De forma que, apresentou uma correlação negativa e significativa ($r = -0,7115$; $P \leq 0,05$) entre total de ovos e as leituras de SPAD na região apical das folhas (Tabela 3), indicando uma tendência, para maiores índices de SPAD apical, menores as quantidades de ovos nas plantas.

Segundo Stefanescu et al. (2006), relata que as posturas de ovos nas plantas foram localizadas em folhas mais verdes e, aparentemente, folhas saudáveis (aquelas com maiores teores de clorofila), resultado que coincide com estudos realizados com oviposição de borboletas (Scherer & Kolb, 1987; Kelber, 1999). Todavia, em nosso estudo o clone IN76-288 apresentou as maiores leituras de SPAD MÉDIO (folhas mais verdes) e menor número de posturas e ovos por planta, em comparação a variedade SP80-3280 (Tabela 4 e Figura 6 A e B). Tal explicação, pode estar relacionada com o fator nutricional das plantas, como mostrado em outros estudos, que o teor de clorofila correlaciona-se positivamente com a disponibilidade de nitrogênio e valor nutricional (Peñuelas & Filella, 1998). Portanto, em plantas não estressadas os componentes

nitrogenados encontram-se mais complexados, ao contrário de plantas estressadas, onde há um maior acúmulo de aminoácidos livres, que são essenciais para o crescimento e desenvolvimento de insetos, ocasionando maiores oviposições nestas (Showler & Moran, 2003; Showler, 2011).

Tabela 4 - SPAD basal (SPAD-B), mediana (SPAD-M), apical (SPAD-A) e a média das leituras (SPAD-MÉDIO), para avaliação da oviposição de *Diatraea saccharalis* com chance de escolha em genótipos de cana-de-açúcar.

Genótipos	SPAD-B	SPAD-M	SPAD-A	SPAD MÉDIO
IJ76-314	33,6 ± 2,44 ⁽¹⁾	37,7 ± 4,98 ab	33,6 ± 3,11 bc	35,0 ± 3,26 abc
IM76-228	35,5 ± 4,09	39,4 ± 2,15 a	41,5 ± 2,21 a	38,8 ± 2,44 a
RB825336	28,4 ± 2,31	31,8 ± 1,61 ab	31,9 ± 0,54 bc	30,7 ± 0,96 bc
RB867515	33,5 ± 4,76	37,9 ± 5,61 ab	33,5 ± 4,22 bc	35,0 ± 4,34 abc
RB985523	37,0 ± 7,63	37,6 ± 4,24 ab	35,4 ± 3,55 ab	36,7 ± 3,84 ab
SP80-1842	35,6 ± 4,87	36,8 ± 2,43 ab	36,3 ± 1,48 ab	36,2 ± 2,32 ab
SP80-3280	29,4 ± 3,10	30,7 ± 2,53 b	28,4 ± 2,90 c	29,5 ± 1,86 c
TUC71-7	31,5 ± 4,85	34,1 ± 6,18 ab	33,5 ± 4,43 bc	33,0 ± 4,63 abc
Média Geral	33,06	35,75	34,27	34,26
CV (%)	13,80	11,10	9,30	39,40
p-valor	0,0595	0,0128	<0,0001	0,0013

⁽¹⁾ Média ± desvio padrão seguido pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey, com 5% de significância.

Contudo, todas as possibilidades de utilização do clorofilômetro são possíveis após a calibração do procedimento, além desta, o clorofilômetro portátil pode ser usado em combinação com outras técnicas para propiciar informações complementares a respeito da preferência de oviposição da *D. saccharalis*.

O presente estudo fornece mais uma compreensão do comportamento de oviposição das mariposas de *D. saccharalis* em cana-de-açúcar, e sugere que os índices SPAD das folhas provavelmente agem na seleção hospedeira pela preferência de oviposição, principalmente pelas características nutricionais das plantas e, não visualmente pela cor verde, visto que, as mariposas têm hábitos noturnos (Renwick & Chew, 1994), o que indica que outros fatores provavelmente, também tiveram importância no papel da preferência para oviposição, como os voláteis presentes nas folhas das plantas de cana-de-açúcar.

3.2.1. Distribuição das posturas

A porcentagem média das posturas houve diferença significativas a 5% de probabilidade pelo teste F ($P \leq 0,05$) entre as diferentes regiões da planta. Indicando uma preferência da *D. saccharalis* em ovipositar no terço apical das folhas de cana-de-açúcar (Figura 8). Corroborando com Hamm et al. (2012), que investigou a preferência relativa da broca-da-cana para oviposição entre diferentes cultivares de arroz, e demonstrou que na vertical distribuição de massas de ovos em quatro estádios fenológicos do arroz houve preferência de oviposição da *D. saccharalis* nas partes superiores das plantas, independentemente do estágio fenológico da planta. Estes aspectos do comportamento de oviposição pode potencialmente aumentar a exposição das massas de ovos para os predadores, parasitóides e inseticidas e pode facilitar a aferição de infestações da broca em condições de campo.

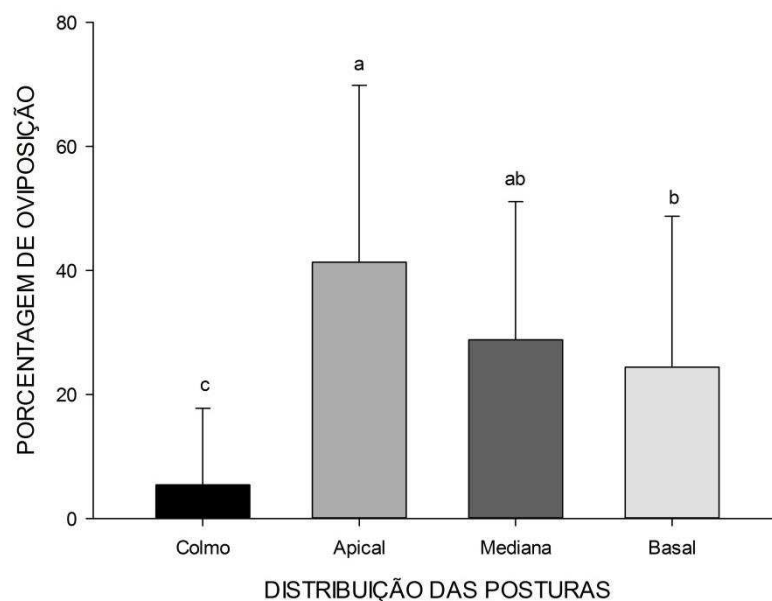


Figura 8 - Distribuição das posturas médias em porcentagem nas plantas, regiões apical, mediana e basal das folhas, e colmo. Em cada distribuição da planta seguida pela mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey, com 5% de significância.

3.2.2. Compostos voláteis das plantas

Insetos herbívoros exploram esses voláteis para localizar suas plantas hospedeiras à distância, para a alimentação, acasalamento e postura de ovos (Linn et al., 2003; Bengtsson et al., 2006; Tasin et al., 2006; Pinero & Dorn, 2009; Cha et al., 2008; Schmidt-Busser et al., 2009; Sole et al., 2010), que podem influenciar diferentemente na escolha do hospedeiro a longa distância pelas mariposas de *D. saccharalis* diante dos genótipos testadas.

De acordo com o teste preliminar, o melhor tempo de aeração foi de 48 horas, apresentando maior intensidade dos picos (Figura 9).

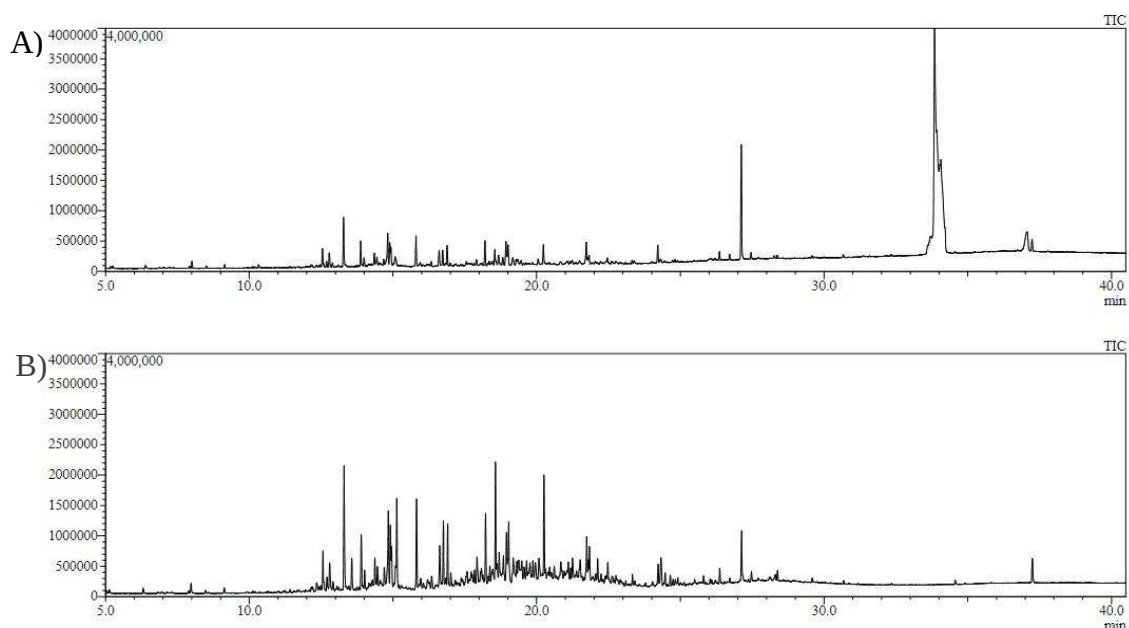


Figura 9 – Cromatogramas da variedade RB867515 em relação aos tempos de aeração: A) 24 horas e B) 48 horas.

Para a identificação dos voláteis presentes nos três genótipos, 33 compostos foram selecionados conforme sua intensidade, e em seguida identificados. Destes, 18 compostos apresentaram em comum nos três clones, 1 composto nas variedades RB867515 e SP80-3280, e 1 composto na variedade RB867515 e clone IM76-288 (Tabela 5). Por outro lado, os 13 compostos restantes diferiram entre os genótipos, sendo 10 compostos encontrados no IM76-228, 1 composto na RB867515 e 2 compostos na SP80-3280 (Figura 10).

Tabela 5 - Compostos químicos voláteis identificados por um período de 48h nos diferentes genótipos IM76-228, RB867515 e SP80-3280.

R.T. ⁽¹⁾	Compostos	KI ⁽²⁾	IM76-228	RB867515	SP80-3280	Método ⁽³⁾
9.596	Isoamyl acetate	884	x			BB, MS
9.666	2-Methybutyl acetate	886	x			BB, MS
12.705	Octanal	1005	x	x	x	BB, MS
12.803	4-Methyloctadecane	1010	x	x	x	BB, MS
13.290	2-Ethylhexan-1-ol	1033	x	x	x	BB, MS
14.005	Heptadecane	1066	x	x	x	BB, MS
14.899	Nonanal	1106	x	x	x	BB, MS
15.123	Desconhecido	1118			x	
15.942	4-Methoxystyrene	1160	x			BB, MS
16.735	Dodecane	1198	x	x	x	BB, MS
16.889	Decanal	1207	x	x	x	BB, MS
18.548	Tridecane	1299	x	x	x	BB, MS
19.937	Desconhecido	1382	x			
20.237	Tetradecane	1399	x	x	x	BB, MS
20.295	Beta-elemene	1403	x			BB, MS
20.829	(E)-Caryophyllene	1437	x			BB, MS
21.503	Desconhecido	1479	x	x	x	
21.822	Pentadecane	1499	x	x	x	BB, MS
21.902	Desconhecido	1504	x			
21.992	Valencene	1510	x			BB, MS
22.297	Gamma-cadinene	1531	x			BB, MS
22.405	3,7-Selinadiene	1539	x			BB, MS
24.309	Desconhecido	1669	x	x	x	
24.458	Desconhecido	1680	x	x	x	
24.537	Desconhecido	1685	x	x	x	
24.990	Desconhecido	1718		x		
25.801	Desconhecido	1778	x		x	
26.712	6,10,14-Trimethylpentadecan-2-one	1849	x	x	x	BB, MS
26.838	Desconhecido	1859	x	x		
27.117	Diisobutyl phthalate	1880	x	x	x	BB, MS
28.294	Dibutyl phthalate	1976	x	x	x	BB, MS
28.890	Isopropyl Palmitate	2026			x	BB, MS
37.231	Squalene	2838	x	x	x	BB, MS

⁽¹⁾ R.T.: tempo de retenção dos compostos

⁽²⁾ KI: índice de Kovats determinado com coluna DB-5 (El-Sayed AM, 2014)

⁽³⁾ BB: constituinte identificado pelo banco de dados das bibliotecas NIST08 MS, FFNSC e Wiley; MS: constituinte identificado por comparação espectros de massa.

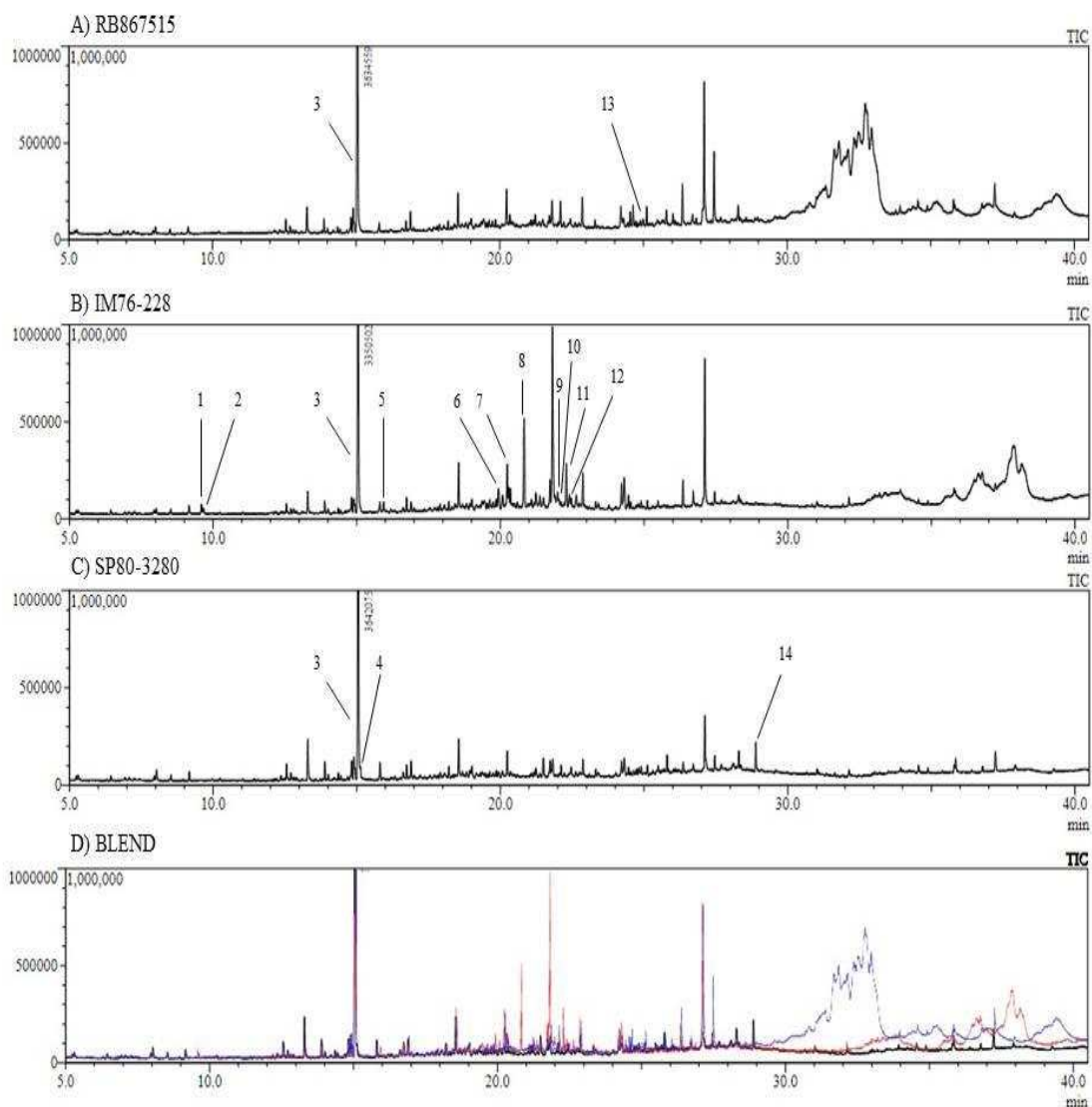


Figura 10 - Cromatogramas e compostos identificados que diferem entre os genótipos de cana-de-açúcar durante 48 horas de aeração: A) RB867515 (3) Heptil acetato (IS) e (13) Desconhecido; B) IM76-228 (1) Isoamyl acetate, (2) 2-Methybutyl acetate, (3) Heptil acetato (IS), (5) 4-Methoxystyrene, (6) Desconhecido, (7) Beta-Elemene, (8) (E)-Caryophyllene, (9) Desconhecido, (10) Valencene, (11) Gamma-Cadinene e (12) 3,7-Selinadiene; C) SP80-3280 (3) Heptil acetato (IS), (4) Desconhecido e (14) Isopropyl Palmitate; D) Blend de compostos orgânicos voláteis dos três genótipos (IM76-228 – vermelho; RB867515 – azul; SP80-3280 – preto).

O clone IM76-228 apresentou aparentemente maior quantidade de compostos voláteis, em comparação com outros genótipos (Tabela 5). As substâncias voláteis emitidas por espécies rústicas tendem serem maior nestas do que em espécies cultivadas, já que é de esperar que a partir dos cruzamentos e seleção ocorra redução no teor de substâncias de defesas secundárias nas cultivadas (Benrey et al., 1998). Tais resultados corroboram com Grisales (2013), na qual os diferentes genótipos de cana-de-açúcar testados (RB867515, Archi e White pararia) mostraram diferenças nos perfis de voláteis.

A presença de compostos como terpenos é essencial para as plantas, pois atuam como fitoalexinas (antibióticos produzidos pelas plantas em resposta ao ataque de microrganismos) e como repelentes de insetos herbívoros (Duffey & Stout, 1996). Portanto, os terpenos (Beta-elemene, Valencene, Gamma-cadinene, 3,7-Selinadiene e (E)-Caryophyllene) presentes no IM76-228 são importantes para a defesa deste. Estes compostos divergentes podem estar relacionados com a repelência durante a escolha de oviposição pela *D. saccharalis*. No entanto, novos estudos devem ser feitos para afirmarmos a respostas de fêmeas *D. saccharalis* a estes compostos, conduzidos para investir em eletroantenogramas (EAG) conforme descrito por Cork et al. (1990), e posteriormente estudo comportamental de fêmeas em tubos de aeração, designado por Takken et al. (1997).

O conhecimento dos mecanismos e produtos químicos que medeiam localização de planta hospedeira por insetos herbívoros é essencial para a nossa compreensão das relações planta-inseto, e também irá levar ao desenvolvimento de novas ferramentas para a gestão de insetos (Szendrei & Rodriguez-Saona, 2010, Witzgall et al, 2010).

O uso de plantas resistentes é um dos principais componentes no Manejo Integrado de Pragas (MIP) porque fornece uma medida de controle (Smith, 2005) e é congruente com outras táticas de controle.

Nesse trabalho, diferenças na preferência para oviposição entre os genótipos foram encontradas. Esses resultados fornecem base para posterior desenvolvimento de variedades com maior resistência a broca-da-cana. Uma compreensão mais completa do(s) mecanismo(s) subjacente de variedades a preferência de oviposição pela *D. saccharalis*, é um importante passo nesse processo.

4. APÊNDICES

Apêndice 1 – Análise de variância da preferência de oviposição sem chance de escolha pela *D. saccharalis*.

FV	GL	SQ	QM	F	Pr (>F)
Genótipos	2	180743	90371	1,81	0,1921
Posições	1	2337	2337	0,04	0,8311
Genótipo × Posição	2	32329	16164	0,32	0,7275
Resíduo	18	898330	49907		

Apêndice 2 - Número de posturas unitárias (PU), pequenas (PP), medianas (PM) e grandes (PG), para avaliação da oviposição de *Diatraea saccharalis*, em genótipos de cana-de-açúcar com chance de escolha.

Genótipos	PU	PP	PM	PG
IJ76-314	0,00 ± 0,00 ⁽¹⁾	2,50 ± 3,02 ab	4,10 ± 1,60 ab	3,10 ± 2,33 a
IM76-228	0,30 ± 0,67	1,30 ± 1,56 ab	1,10 ± 1,14 b	0,60 ± 0,65 b
RB825336	0,60 ± 1,34	0,50 ± 0,50 b	2,80 ± 2,39 ab	2,30 ± 1,25 ab
RB867515	2,20 ± 3,85	2,50 ± 2,18 ab	6,20 ± 2,73 a	3,80 ± 1,86 a
RB985523	0,20 ± 0,27	1,80 ± 2,56 ab	3,80 ± 4,41 ab	2,20 ± 2,08 ab
SP80-1842	0,20 ± 0,44	2,10 ± 2,63 ab	3,90 ± 0,74 ab	3,10 ± 0,74 a
SP80-3280	0,90 ± 1,52	3,40 ± 2,51 a	4,70 ± 0,42 a	3,80 ± 1,96 a
TUC71-7	0,30 ± 0,45	1,90 ± 1,82 ab	4,60 ± 4,22 ab	1,70 ± 1,15 ab
Média Geral	0,59	2,00	3,90	2,58
CV (%)	51,01	45,25	31,72	31,05
p-valor	0,0935	0,0400	0,006	0,0006

⁽¹⁾ Média ± desvio padrão seguido pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey, com 5% de significância.

5. CONCLUSÕES

No experimento sem chance de escolha e na avaliação da fertilidade dos ovos, o clone IM76-228 e as variedades RB867515 e SP80-3280 foram igualmente preferidas para oviposição e não houve mudanças na resposta dos mesmos em relação à deposição dos ovos pela *D. saccharalis*.

No experimento com chance de escolha o IM76-228 foi o menos preferido para a oviposição pela *D. saccharalis*, em relação a variedade RB867515 de maior preferência, caracterizando uma resistência do tipo antixenose.

Os compostos voláteis coletados apresentaram perfil diferente entre genótipos e uma maior quantidade de compostos voláteis orgânicos foi identificado no IM76-228.

6. REFERÊNCIAS

- Adams, R. P., et al. 2007. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Ed. 4, Allured Publishing Corporation.
- Agarwal, R. A. 1969. Morphological characteristics of sugar cane and insect resistance. *Entomologia Experimentalis & Applicata*, v. 12, p. 767-776.
- Araújo, J. R.; Botelho, P. S. M.; Araújo, S. M. S. S.; Almeida, L. C.; Degaspari, N. 1985. Nova dieta artificial para criação da *Diatraea saccharalis* (Fabr.). *Saccharum*, São Paulo, n. 36, p. 45-48.
- Argenta, G.; et. al. 2001. Relação da leitura do clorofilômetro com os teores de clorofila extraível e nitrogênio da folha de milho. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v.13, n.2, p.158-167.
- Assis, C. 2014. Previsão do teor de lignina em cana-de-açúcar usando espectroscopia no infravermelho próximo e métodos quimiométricos. 2014. 72f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- Balbyshev, NF, Lorenzen JH. 1997. Hypersensitivity and egg drop: a novel mechanism of host plant resistance to Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology*, v. 90, n. 2, p. 652-657.
- Blaakmeer, A, Hagenbeek, D, Van-Beek, TA, De-Groot, A, Schoonhoven, LM, Van Loon, JJA. 1994. Plant response to eggs vs. host marking pheromone as factors inhibiting oviposition by *Pieris brassicae*. *J. Chem. Ecol.* 20: 1657-1665.
- Bengtsson, M., Jaastad, G., Knudsen, G., Kobro, S., Backman, A. C., Pettersson, E., and Witzgall, P. 2006. Plant volatiles mediate attraction to host and non-host plant in apple fruit moth, *Argyresthia conjugella*. *Entomol. Exp. Appl.* 118:77–85.

Benrey, B., A. Callejas, L. Rios, K. Oyama, & R. F. Denno. 1998. The Effects of Domestication of Brassica and Phaseolus on the Interaction between Phytophagous Insects and Parasitoids. *Biological Control* 11:130-140.

Bentz, J. A., and H. G. Larew. 1992. Ovipositional preference and nymphal performance of *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) on *Dendranthema grandiflora* under different fertilizer regimes. *J. Econ. Entomol.*, v. 85, p. 514-517.

Berenbaum, M. R.; Zangerl, A. R. 1986. Constraints on chemical coevolution: wild parsnips and the parsnip webworm. *Evolution*, v. 40, n. 3, p. 1215-1228.

Boiça JR, A. L.; Lara, F. M.; Bellodi, M. P. 1997. Influência de variedades de cana-de-açúcar, incorporadas em dieta artificial, no desenvolvimento de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) e no seu parasitismo por *Cotesia flavipes* (Cam.). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, v. 26(3), p. 537-542.

Boiça JR, A.L.; Lara, F.M. 1993. Resistência de genótipos de sorgo ao ataque de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera, Pyralidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, v. 22, n. 2, p. 245-252.

Botelho, P. S. M.; Macedo, N. 2002. *Cotesia flavipes* para o controle de *Diatraea saccharalis*. In: Parra, J. R. P.; Botelho, P. S. M.; Corrêa-Ferreira, B. S.; Bento, J. M. S. *Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores*. São Paulo: Manole, Cap. 25, p. 409-421.

Byers, C. J., & Eason, P. K. 2009. Conspecifics and their posture influence site choice and oviposition in the damselfly *Argia moesta*. *Ethology*, v. 115(8), p. 721-730.

Cha, D. H., Nojima, S., Hesler, S. P., Zhang, A., Linn, C. E., Roelofs, W. L., and Loeb, G. M. 2008. Identification and field evaluation of grape shoot volatiles attractive to female grape berry moth (*Paralobesia viteana*). *J. Chem. Ecol.* 34:1180–1189.

Cheavegatti-Gianotto, A., de Abreu, H. M. C., Arruda, P., Bessalho Filho, J. C., Burnquist, W. L., Creste, S. & Ulian, E. C. 2011. Sugarcane (*Saccharum X officinarum*): a reference study for the regulation of genetically modified cultivars in Brazil. *Tropical plant biology*, v. 4, n. 1, p. 62-89.

Chen, Y., Ruberson, J. R., & Olson, D. M. 2008. Nitrogen fertilization rate affects feeding, larval performance, and oviposition preference of the beet armyworm, *Spodoptera exigua*, on cotton. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, v. 126(3), p. 244-255.

Clark, B. R., and S. H. Faeth. 1998. The evolution of egg clustering in butterflies: a test of the egg desiccation hypothesis. *Evol. Ecol*, v. 12, p. 543-552.

Clark, B. R. and S. H. Faeth. 1997. The consequences of larval aggregation in the butterfly *Chlosyne lacinia*. *Ecological Entomology*, v. 22, p. 408–415.

Cork, A., Beever, P.S., Gough, A.J.E., Hall, D.R. 1990. Gas chromatography linked to electroantennography: a versatile technique for identifying insect semiochemicals. In: McCaffery, A.R., Wilson, I.D. (Eds.), *Chromatography and Isolation of Insect Hormones and Pheromones*. Plenum Press, London, p. 271–279.

Demetrio, P.A.; Zonetti, P.P.; Munhoz, R.E.F. 2008. Avaliação de clones de cana-de-açúcar promissores RBs quanto à resistência à broca-da-cana (*Diatraea saccharalis*) na região noroeste do Paraná. *Iniciação Científica Cesumar*, v. 10, p. 13-16.

Dinardo-Miranda, L.L; Anjos, I.A; Da Costa, V.P; Fracasso, J.V. 2012. Resistance of sugarcane cultivars to *Diatraea saccharalis*. *Pesquisa agropecuária brasileira*, v. 47(1), p. 1-7.

Dinardo-Miranda, L. L.; Fracasso, J. V.; Costa, V. P. 2010. Manejo de brocas em cana-de-açúcar. *Revista Cultivar Grandes Culturas*, Pelotas, n. 137.

Dinardo-Miranda, L.L. 2008. Pragas. In: Dinardo-Miranda, L.L.; Vasconcelos, A.C.M.; Landell, M.G.A. (Eds). Cana-de-açúcar. IAC, São Paulo, p. 349 – 404.

Doss, RP, Oliver, JE, Proebsting, WM, Potter, SW, Kuy, SR, Clement, SL, Williamson, RT, Carney, JR, Devilbiss, ED. 2000. Bruchins - insect-derived plant regulators that stimulate neoplasm formation. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, v.97, p. 6218-6223.

Dossi, F. C. A.; Peron, V.; Conte, H. 2004. Biocontrole de insetos. Arquivos da Apadec, Maringá, supl.8, p. 44-48.

Duffey, S. S., & M. J. Stout. 1996. Antinutritive and toxic components of plant defense against insects. Archives of Insect Biochemistry and Physiology, v. 32, p. 3-37.

El-Sayed AM 2014. The Pherobase: Database of Pheromones and Semiochemicals. <<http://www.pherobase.com>>.

Ferreira L, Pintureau B, Voegelle J. 1979. Um nouveau type d'olfactometre: Application a la mesure de la capacite de recherche à la localization des substances attractives de l'hôte chez Trichogrammes (Hym.: Trichogrammatidae). Ann Zool Ecol Animal, v. 11, p. 271-279.

Fontes, P.C.R.; Araújo, C. 2007. Adubação nitrogenada de hortaliças: princípios e práticas com o tomateiro. Viçosa: UFV, p.148.

Gallo, D., O. Nakano, S. Silveira neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Baptista, E. Berti filho, J.R.P. Parra, R.A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramim, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes & C. Omoto. 2002. Entomologia agrícola. Piracicaba, FEALQ, p. 920.

Greco, N. M., S. J. Sarando, and P. C. Pereyra. 1998. Parasitism of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) eggs by *Trichogramma exiguum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae): influence of *Zea mays* leaf pubescence. Ecol. Aust., v. 8, p. 31-35.

Grisales, L. F. P. 2013. Resposta de *Cotesia flavipes* a voláteis de plantas de cana-de-açúcar atacadas ou não por *Diatraea saccharalis*. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, p. 77.

Guimarães, T.G., Fontes, P.C.R. et al. 1999. Teores de clorofila determinados por medidor portátil e sua relação com formas de nitrogênio em folhas de tomateiro cultivado em dois tipos de solo. *Bragantia*, v.58, n.1, p.209-216.

Hamm, J. C., Sidhu, J. K., Stout, M. J., Hummel, N. A., & Reagan, T. E. 2012. Oviposition behavior of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) on different rice cultivars in Louisiana. *Environmental entomology*, v. 41(3), p. 571-577.

Herbert, P. D. 1983. Egg dispersal patterns and adult feeding behaviour in the Lepidoptera. *Can. Entomol.*, v. 115, p. 1477-1481.

Hilker, M., and T. Meiners. 2002. Induction of plant responses towards oviposition and feeding of herbivorous arthropods: a comparison. *Entomol. Exp. Appl.*, v. 104, p. 181-192.

Hilker, M., C. Stein, R. Schroder, M. Varama, and R. Mumm. 2005. Insect egg deposition induced defense response in *Pinus sylvestris*. Characterization of the elicitor. *J. Exp. Biol.*, v. 208, p. 1849-1854.

Hirota, T., & Kato, Y. 2001. Influence of visual stimuli on host location in the butterfly, *Eurema hecabe*. *Entomologia experimentalis et. applicata*, v. 101, n. 2, p. 199-206.

Horton, D. R. 1990. Distribution and survival of eggs of summerform pear psylla (Homoptera: Psyllidae) affected by leaf midvein. *Environ. Entomol.*, v. 19, p. 656-661.

Kelber A. 1999. Ovipositing butterflies use a red receptor to see green. *J. Exp. Biol.*, v. 202, p. 2619–2630.

Lara, F. M. 1991. Princípios de resistência de plantas aos insetos. 2. ed. São Paulo: Ícone, p. 336.

Levinson, H., A. Levinson, and E. Osterried. 2003. Orange derived stimuli regulating oviposition in the Mediterranean fruit fly. *J. Appl. Entomol.*, v. 127, p. 269-275.

Linn, C. E., Feder, J. L., Nojima, S., Dambroski, H. R., Berlocher, S. H., and Roelofs, W. L. 2003. Fruit odor discrimination and sympatric host race formation in *Rhagoletis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100:11490–11493.

Long, S.P.; Zhu, X.; Naidu, S.L.; Ort, D.R. 2006. Can improvement in photosynthesis increase crop yields? *Plant, Cell and Environment*, v. 29, p.315-330.

Mackay, D. A., & Jones, R. E. 1989. Leaf shape and the host-finding behaviour of two ovipositing monophagous butterfly species. *Ecological entomology*, v. 14(4), p. 423-431.

Meagher, R. L., JR., J. E. Irvine, R. G. Breene, R. S. Pfannenstiel & M. Gallo-Meagher. 1996. Resistance mechanisms of sugarcane to Mexican rice borer (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Econ. Entomol.* v. 89, p. 749-760.

Moré, M.; Trumper, E.V.; Prola, M.J. 2003. Influence of corn, *Zea mays*, phonological stages in *Diatraea saccharalis* F. (Lep. Crambidae) oviposition. *Journal of Applied Entomology*, v. 127, n. 9-10, p. 512-515.

Navasero, R. C., and S. B. Ramaswamy. 1993. Influence of plant age, water stress, larval damage, and presence of conspecific eggs on oviposition by *Heliothis virescens* (F.) on cotton. *Jour. Appl. Entomol.*, v. 115, p. 97-106.

Peñuelas J. & Filella I. 1998. Visible and near-infrared reflectance techniques for diagnosing plant physiological status. *Trends Plant Sci.* 3: 151–156.

Pinero, J. C. & Dorn, S. 2009. Response of female oriental fruit moth to volatiles from apple and peach trees at three phenological stages. *Entomol. Exp. Appl.* 131:67–74.

R Development Core Team (2014) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.

Renou M, Naguan P, Berthier A, Durier C. 1992. Identification of compounds from the eggs of *Ostrinia nubilalis* and *Mamestra brassicae* having kairomonal activity on *Trichogramma brassicae*. *Entomol Exp Appl*, v. 63, p. 291-303.

Renwick, J. A. A., & Chew, F. S. 1994. Oviposition behavior in Lepidoptera. *Annual review of entomology*, v. 39, n. 1, p. 377-400.

Rojas, J. C., & Wyatt, T. D. 1999. The role of pre-and post-imaginal experience in the host-finding and oviposition behaviour of the cabbage moth. *Physiological Entomology*, v. 24, n. 1, p. 83-89.

Rutherford, R. S. 2014. Mechanisms of resistance to pests and pathogens in sugarcane and related crop species. *Sugarcane: physiology, biochemistry, and functional biology*, p. 435-482.

Scherer C. & Kolb G. 1987. Behavioural experiments on the visual processing of color stimuli in *Pieris brassicae* L. (Lepidoptera). *J. Comp. Physiol. (A)*, v. 160, p. 645–656.

Schmidt-Busser, D., Von Arx, M., and Guerin, P. M. 2009. Host plant volatiles serve to increase the response of male European grape berry moths, *Eupoecilia ambiguella*, to their sex pheromone. *J. Comp. Physiol. A* 195:853–864.

Showler, A. T. 2011. *Spodoptera exigua* oviposition and larval feeding preferences for pigweed, *Amaranthus hybridus*, over squaring cotton, *Gossypium hirsutum*, and a comparison of free amino acids in each host plant. *Journal of chemical ecology*, 27(10), 2013-2028.

Showler, A. T., and P. J. Moran. 2003. Effects of drought stressed cotton, *Gossypium hirsutum* L., on beet armyworm, *Spodotera exigua* (Hübner), oviposition, and larval feeding preferences and growth. *J. Chem. Ecol.* v. 29, p. 1997-2011.

Shu SQ, Jones RL. 1989. Kinetic effects of a kairomone in moth scales on European corn borer on *Trichogramma nubilale* Ertle & Davis (Hym., Trichogrammatidae). *J Insect Behav*, v. 2, p. 123-131.

Sidhu, J. K. 2013. Development of Integrated Pest Management for Sugarcane Borer, *Diatraea Saccharalis* in Rice (Doctoral dissertation, Punjab Agricultural University).

Silva, C. C. M. Desempenho do parasitóide *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) sobre *Diatraea saccharalis* (Fabr.) e *Diatraea flavipennella* (Box) (Lepidoptera: Crambidae). 2009. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Entomologia Agrícola) Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

Smith, C.M. 2005. Plant resistance to arthropods: molecular and conventional approaches. The Netherlands: Springer, p. 423.

Smith, C. M., Khan, Z. R., & Pathak, M. D. 1993. Techniques for evaluating insect resistance in crop plants. CRC press.

Sole, J., Sans, A., Riba, M., and Guerrero, A. 2010. Behavioural and electrophysiological responses of the European corn borer *Ostrinia nubilalis* to host-plant volatiles and related chemicals. *Physiol. Entomol.* 35:354–363.

Sosa O. 1990. Oviposition preference by the sugarcane borer (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Economic Entomology*, v. 83, n. 3, p. 866–868.

Souza, J. R. 2011. Resistência intrínseca de cultivares de cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) e extrínseca ao parasitóide *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae). Jaboticabal, 2011. 83 f.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

Stamp, N. E. 1980. Egg deposition patterns in butterflies: why do some species cluster their eggs rather than deposit them singly? *Am. Nat.*, v. 115, p. 367-380.

Stefanescu, C., Penuelas, J., Sardans, J., & Filella, I. 2006. Females of the specialist butterfly *Euphydryas aurinia* (Lepidoptera: Nymphalinae: Melitaeini) select the greenest leaves of *Lonicera implexa* (Caprifoliaceae) for oviposition. *European Journal of Entomology*, v. 103(3), p. 569-574.

Szendrei, Z. & Rodriguez-Saona, C. 2010. A meta-analysis of insect pest behavioral manipulation with plant volatiles. *Entomol. Exp. Appl.* 134:201–210.

Takken, W., Dekker, T., Wijnholds, Y. G. 1997. Odor-mediated flight behavior of *Anopheles gambiae* Giles Sensu Stricto and *An. Stephensi* Liston in response to CO₂, Acetone, and 1-Octen-3-ol (Diptera: Culicidae), *J. Insect Behav.*, 10(3): 395.

Tasin, M., Backman, A. C., Bengtsson, M., Ioriatti, C., and Witzgall, P. 2006. Essential host plant cues in the grapevine moth. *Naturwissenschaften* 93:141–144.

Taylor, M. F. J., & Forno, I. W. 1987. Oviposition preferences of the salvinia moth *Samea multiplicalis* Guenee (Lep., Pyralidae) in relation to hostplant quality and damage. *Journal of Applied Entomology*, v. 104(1-5), p. 73-78.

Terán, F. O.; Sanchez, A. G.; Precetti, A. A. C. M. 1988. Estudos sobre resistência da cana à broca em telado – IV. *Boletim Técnico Copersucar*, São Paulo, v. 40, p. 9-14.

Uddling, J., Gelang-Alfredsson, J., Piikki, K., & Pleijel, H. 2007. Evaluating the relationship between leaf chlorophyll concentration and SPAD-502 chlorophyll meter readings. *Photosynthesis research*, v. 91, n. 1, p. 37-46.

Ulmer, B., C. Gillott, and M. Erlandson. 2003. Conspecific eggs and bertha armyworm, *Mamestra configurata* (Lepidoptera: Noctuidae), oviposition site selection. *Environ. Entomol.*, v. 32, p. 529-534.

Ulmer, B., C. Gillott, and M. Erlandson. 2002. Oviposition preferences of bertha armyworm, *Mamestra configurata* Walker (Lepidoptera: Noctuidae) on different crucifer cultivars and growthstages. *Environ. Entomol.* v. 31, p. 1135- 1141.

Waquil, J. M., Rodrigues, J. A., Santos, F. G., Ferreira, A. S., Vilella, F. M., & Foster, J. E. 2001. Resistance of commercial hybrids and lines of sorghum, *Sorghum bicolor* (L.) Moench. to *Diatraea saccharalis* (Fabr.)(Lepidoptera: Pyralidae). *Neotropical Entomology*, v. 30, n. 4, p. 661-668.

White, W.H; Tew, T.L; Richard, E.P. 2006. Association of sugarcane pith, rind hardness, and fiber with resistance to the sugarcane borer. *Journal American Society Sugar Cane Technologists*, v. 26, p. 87-100.

Witzgall, P., Kirsch, P., and Cork, A. 2010. Sex pheromones and their impact on pest management. *J. Chem. Ecol.* 36:80–100.

Zebarth, B.J. et al. 2003. Mapping spatial variation in potato nitrogen status using the N sensor. *Acta Horticulturae*, n. 627, p.267-273.

CAPÍTULO 2

DESEMPENHO LARVAL DE *Diatraea saccharalis* EM GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR

RESUMO

A broca-da-cana é a principal praga da cana-de-açúcar no Brasil. As lagartas de *Diatraea saccharalis* ao se alimentarem da cana-de-açúcar causam danos diretos e indiretos, gerando prejuízos à cultura. O objetivo desse estudo foi, avaliar o efeito dos genótipos de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.), na sobrevivência de estágios iniciais da *D. saccharalis* em folhas, e o desempenho larval no interior dos colmos. Os genótipos de cana-de-açúcar utilizados foram: IJ76-314, IM76-228, RB825336, RB867515, RB985523, SP80-1842, SP80-3280 e TUC71-7. No experimento de sobrevivência larval em folhas, as plantas foram infestadas com 30 lagartas recém-eclodidas e, após 6 dias da infestação as plantas foram avaliadas. Foram avaliadas em todas as parcelas os caracteres: sobrevivência larval e escala de dano visual. Secções de 40 cm da parte superior de colmos com 6 meses de crescimento, foram utilizados para o experimento de desempenho larval. Dentre os 8 genótipos acima testados, em um estudo complementar foram acrescentadas 16 genótipos de cana-de-açúcar, totalizando 24 clones avaliados neste experimento de desempenho larval. Cada secção de colmo foi colocada numa garrafa de politereftalato de etileno (PET) de 2 litros. Então, dez lagartas de 15 dias de idade foram pesadas e lançadas dentro de cada gaiola. Após quinze dias, os caules foram dissecados e avaliados. Foram avaliados em todas as parcelas: o ganho de peso médio dos insetos, a porcentagem de sobrevivência, índice de infestação, injúria e porcentagem de pupação. Os genótipos IM76-228 e RB867515 apresentaram as menores porcentagens de sobrevivência das lagartas recém-eclodidas, sendo as menores escalas de dano visual em folhas de cana-de-açúcar aos 4 meses de idade obtida para o clone IM76-228. O desempenho larval da *D. saccharalis* em colmos de cana-de-açúcar aos 6 meses, foi menor no IM76-228, com os menores índices de infestação e injúria, em relação a variedade RB867515 com os maiores índices.

Palavras-chave: *Diatraea saccharalis*, cana-de-açúcar, desempenho larval

ABSTRACT

The sugarcane borer is the main pest of sugarcane in Brazil. The caterpillars of *Diatraea saccharalis*, while feeding themselves with the sugarcane, they cause direct and indirect damages to the crop. The aim of this study was to evaluate the effect of sugarcane genotypes (*Saccharum* spp.) on early stages survival of *D. saccharalis* in leaves and the larval performance inside the stalks. The genotypes of sugarcane used were: IJ76-314, IM76-228, RB825336, RB867515, RB985523, SP80-1842, SP80-3280 and TUC71-7. In a complementary study, in the experiment of larval development, it was added 16 genotypes of sugarcane, totaling 24 clones evaluated. In the experiment of larval survival in leaves, the plants were infested with 30 newly hatched larvae and, after 6 days, the plants were evaluated. The variables evaluated in all parts were: larval survival and visual damage scale. It was used sections of 40cm from the top of stems with 6 months of growth for the larval development experiment. Among the 8 tested genotypes above, a complementary study was added 16 genotypes of sugarcane, totaling 24 clones evaluated in this larval performance experiment. Each stem section was placed in a bottle of polyethylene terephthalate (PET) of 2 liters. Then, ten caterpillars of 15-days-old were weighed and put into each cage. After fifteen days, the stalks were dissected and evaluated. It was evaluated in all the stages: the average weight gain of insects, the percentage of survival, rate of infestation, injury and percentage of pupation. The IM76-228 and RB867515 genotypes had the lowest newly hatched larvae survival percentages, in which the clone IM76-228 obtained the smaller scales of visual damage in 4-months-age sugarcane leaves. The larval performance of *Diatraea saccharalis* in 6-months-age stems of sugarcane was lower in IM76-228, with lower rates of infestation and injury.

Keywords: *Diatraea saccharalis*, sugarcane, larval performance

1. INTRODUÇÃO

A broca-da-cana *Diatraea saccharalis* Fabr. (Lepidoptera: Crambidae) é uma das mais importantes pragas da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) no Brasil e é amplamente distribuída nos cultivos em todo o país (Dinardo-Miranda et al., 2008).

O adulto da broca-da-cana é uma mariposa com asas anteriores de coloração amarelo-palha, as asas posteriores esbranquiçadas com 25 mm de envergadura. Após o acasalamento, a fêmea faz a postura nas folhas da cana-de-açúcar, de preferência na face dorsal com um período de oviposição de até quatro dias, onde são colocados a maioria dos ovos. O número de ovos em cada postura é variável, sendo esta imbricada, assemelhando-se a um segmento de couro de cobra ou escama de peixe (Gallo et al., 2002)

Após a eclosão, que se dá em 4 a 9 dias, as lagartas recém-eclodidas alimentam-se do parênquima das folhas da cana-de-açúcar, convergindo em seguida para a bainha. Aproximadamente 15 dias após a eclosão, as lagartas penetram nos colmos perfurando-os e abrindo galerias de baixo para cima (Gallo et al., 2002). Ao atingirem seu completo desenvolvimento, em média aos 40 dias, medem cerca de 25 mm de comprimento, sendo de coloração amarelo-pálida e cabeça marrom com pequenas manchas de cor marrom-claro distribuídas ao longo de todo o corpo. Possui três pares de pernas torácicas, quatro pares de falsas pernas abdominais e um par de falsas pernas anais.

Próximo à pupação, a lagarta abre um orifício no colmo da planta e fecha parcialmente com fios de seda e restos de alimentação, sendo que este orifício é utilizado pela mariposa para sair do colmo. A pupa apresenta coloração marrom-clara, sendo a duração dessa fase de 9 a 14 dias, aproximadamente, quando emerge o adulto (Gallo et al., 2002). O ciclo biológico completo é bastante variável, durando aproximadamente 60 dias (Gallo et al., 2002), e podem ocorrer até 4 gerações anuais, e em casos de condições climáticas muito favoráveis até 5 gerações (Gallo et al., 2002; Dinardo-Miranda, 2008).

Os orifícios causados pela alimentação das lagartas favorecem a entrada de pragas secundárias, como *Metamasius hemipterus* (Linnaeus, 1765) (Coleoptera: Curculionidae) e diversos microorganismos, especialmente os fungos *Fusarium moniliforme* (Went) e *Colletotrichum falcatum* (Sheldon) que causam a “podridão vermelha” do colmo, causando a inversão da sacarose armazenada pela planta e sua

transformação em glicose e frutose que não se cristalizam no processo industrial. Além da perda de açúcar nos colmos, a presença de microorganismos no caldo prejudica os processos industriais, por dificultar a obtenção de açúcar de qualidade e interferir na fermentação.

Embora estes dados ilustrem a importância econômica do crescente impacto da *D. saccharalis* nos canaviais, informação sobre a susceptibilidade ou resistência de variedades ainda é escassa e o desenvolvimento de programas de gestão para broca-da-cana, que incorporam todas as táticas relevantes são importantes.

Dentre os métodos de controle de *D. saccharalis* em cana-de-açúcar destaca-se a utilização de variedades resistentes. Alguns estudos em diversas variedades de cana-de-açúcar confirmam que os principais mecanismos de resistência a insetos broqueadores são antibiose e antixenose (Meagher et al., 1996), dividindo-os em resistência da folha e do caule, envolvendo barreiras físicas e químicas.

Dinardo-Miranda et al. (2012) encontraram diferença no número de lagartas recuperadas nas plantas 29 dias após infestá-las com ovos de *D. saccharalis*, no peso e tamanho das lagartas, indicando que as variedades podem afetar o desenvolvimento larval e porcentagem de entrenós broqueados, além de causar mortalidade, sugerindo que algumas variedades provavelmente possuem alguns componentes que podem inibir a penetração das lagartas no colmo.

A dureza dos tecidos é um dos fatores chaves que regulam o dano por herbívoros nas plantas (Coley, 1983; Raupp, 1985) e quanto mais duro o tecido, maior o teor de lignina. Tecidos com alto teor de lignina são menos palatáveis do que tecidos com baixo teor de lignina (Santiago et al., 2013). Lignificação da parede celular pode também ser induzida quando as plantas são infestadas por insetos ou patógenos sugerindo que a lignina pode agir como barreira física para proteger o resto das células das plantas de danos futuros (Nicholson & Hammerschmidt, 1992; Stange et al, 2001). A cutícula da maioria das plantas vasculares é coberta com uma fina camada de constituintes altamente hidrofóbicos. Essas camadas de cera tem um papel importante na proteção contra dessecação, herbívora por insetos e invasão por patógenos (Schoonhoven, 2005).

Variedades de cana-de-açúcar que limitam a capacidade desta praga de desenvolver nas folhas e no interior dos colmos são de grande importância em programas de melhoramento genético para resistência, aspectos estes que resultarão em maior economia e longevidade das cultivares comercial.

Portanto, este trabalho teve como objetivo, avaliar o efeito dos genótipos de cana-de-açúcar na sobrevivência de estágios iniciais *D. saccharalis* em folhas, e no desempenho larval no interior dos colmos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados de junho a setembro de 2015 no Centro de Pesquisa e Melhoramento de Cana-de-açúcar (CECA) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), localizado no município de Oratórios (20° 25' 5" S, 42° 47' 28" W; altitude de 492 m), estado de Minas Gerais, Brasil.

Os insetos utilizados em todos os experimentos foram obtidos a partir de uma criação em massa com dieta artificial de acordo com a metodologia proposta por Hensley & Hammond (1968), adaptado por Araújo et al. (1985).

Os genótipos testados (Tabela 1) foram todos obtidas a partir do Banco de Germoplasma do Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar da Universidade Federal de Viçosa (PMGCA/UFV).

Tabela 1 - Número de referência para 24 genótipos de cana-de-açúcar que constituem o banco de germoplasma estudado, seus genitores e respectivas origens.

	Genótipos	Genitores	Origem
1	Co62-175	Co 951 × Co 419	Coimbatore, Índia
2	F150	NCo310 × PT43-52	Formosa
3	H.KAWANDANG	E. arundinaceus × ?	?
4	IJ76-314	S. officinarum × ?	Iryan, Java
5	IM76-228	S. robustum × ?	Java
6	IN84-82	S. spontaneum × ?	Indonésia
7	RB825336	H53-3989 × ?	RIDESA, Brasil
8	RB835054	RB72454 × NA56-79	RIDESA, Brasil
9	RB867515	RB72454 × ?	RIDESA, Brasil
10	RB965602	RB855536 × RB855063	RIDESA, Brasil
11	RB966928	RB855156 × RB815690	RIDESA, Brasil
12	RB975932	SP80-185 × RB855206	RIDESA, Brasil
13	RB985523	SP80-1520 × SP70-1143	RIDESA, Brasil
14	RB987935	RB72454 × RB83102	RIDESA, Brasil
15	RB988082	RB83102 × RB72454	RIDESA, Brasil
16	RB991536	RB739359 × ?	RIDESA, Brasil
17	RB991552	? × ?	RIDESA, Brasil

Continuação Tabela 1

	Genótipos	Genitores	Origem
18	SP80-1842	SP71-1088 × H575028	São Paulo, Brasil
19	SP80-3280	SP71-1088 × H575028	São Paulo, Brasil
21	SP89-1115	CP73-1547 × ?	São Paulo, Brasil
22	TUC71-7	CP62-258 × CP52-68	Argentina
23	UFV09910	(RB72454 x ?) × (S. spontaneum × ?)	RIDESA, Brasil
24	US85-1008	CP72-1210 × IS76-142	USA

Para a obtenção das plantas, colmos foram seccionadas em toletes de 5 cm contendo uma gema lateral e germinados em bandejas de plástico de 36 cm x 50 cm com substrato agrícola (Plantmax ® Agro). Em seguida, 60 dias após o plantio, as mudas foram transplantadas para vasos plásticos de 7 litros com terra e mantidos em casa de vegetação ($26 \pm 10^\circ\text{C}$ de temperatura, $75 \pm 20\%$ de umidade relativa e 12 ± 2 horas fotofase). A correção e fertilização do solo foram realizadas com base na análise de solo anterior e seguindo a indicação para a cultura como descrito por Korndorfer et al. (1999). As plantas foram irrigadas utilizando gotejadores em 0,5 a 2,0 litros/vaso/dia. Todos os perfilhos foram removidos para manter apenas 2 plantas por vaso. Quando as plantas atingiram 4 e 6 meses de idade foram iniciados os testes.

2.1. Desempenho larval em folhas de cana-de-açúcar

Vasos de 7 litros contendo 2 plantas de 4 meses de idade foram levadas ao laboratório (Temperatura: $26 \pm 2^\circ\text{C}$; Umidade relativa: $70 \pm 10\%$; e fotoperíodo: 12 horas de luz), onde foram avaliados 8 genótipos (IJ76-314, IM76-228, RB825336, RB867515, RB985523, SP80-1842, SP80-3280 e TUC71-7). Em seguida, lagartas recém eclodidas foram transferidos para tubos Eppendorf (5 mL de volume) usando um pincel fino. Então, um tubo Eppendorf contendo 30 lagartas foi colocado na bainha da folha mais jovem e completamente expandida de cada planta. Aos 6 dias após infestação, as plantas foram cortadas, dissecadas e avaliadas a sobrevivência larval e escala de dano visual (de 0 a 5, sendo a nota 0 atribuída a ausência de injúria e nota 5 atribuída ao maior dano, presença de coração morto). O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 5 repetições. Cada parcela foi constituída por uma planta (Tomaz, 2014).

Foram avaliadas em todas as parcelas do experimento os caracteres: sobrevivência larval em porcentagem (SOB %) e escala de dano visual (EDV).

2.2. Desempenho larval no interior dos colmos de cana-de-açúcar

Devido a limitação de insetos, 3 experimentos foram conduzidos separadamente ao longo do tempo (24/06, 14/07 e 18/08), com oito genótipos cada, utilizando-se plantas com 6 meses de idade. No primeiro experimento, os 8 genótipos testados foram os mesmo do item anterior. Os outros 16 genótipos foram considerados experimentos complementares.

Cinco plantas de cada genótipo testado tiveram as suas folhas e bainhas foliares removidas, em seguida foi realizada uma secção de aproximadamente 40 cm da parte superior do colmo e levada para o laboratório. Cada secção de colmo foi colocada numa garrafa de politereftalato de etileno (PET) de 2 litros. As garrafas tinham aberturas laterais cobertas com organza para ventilação (Figura 1). Então, dez lagartas de 15 dias de idade foram pesadas e lançadas dentro de cada gaiola. As gaiolas foram mantidas numa sala ($26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ de temperatura, $70 \pm 10\%$ de humidade relativa e fotoperíodo de 12 horas).



Figura 1 – Instalação das unidades experimentais do ensaio de 6 meses de idade, com secções de colmos de 40 cm para cada genótipo de cana-de-açúcar.

Após quinze dias, os caules foram dissecados e a quantidade total de insetos, o ganho médio de peso das lagartas, pupas e adultos, o número de entrenós totais e broqueados e o comprimento do colmo e de galeria foram registados conforme sugerido por Tomaz (2014).

Foram avaliadas em todas as parcelas do experimento os caracteres: ganho de peso médio dos insetos (GM), a porcentagem de sobrevivência (SOB %), índice de infestação (II %), injúria (INJ %) e pupação (PUP %), sendo calculados usando as fórmulas:

$$GM \text{ (mg)} = \left(\frac{\text{peso total final}}{n^{\circ} \text{ insetos finais}} \right) - \left(\frac{\text{peso total inicial}}{n^{\circ} \text{ insetos iniciais}} \right)$$

$$PUP \text{ (\%)} = \frac{(n^{\circ} \text{ pupas} + \text{adultos}) \times 100}{n^{\circ} \text{ insetos iniciais}} \quad II \text{ (\%)} = \frac{n^{\circ} \text{ entrenós broqueados} \times 100}{n^{\circ} \text{ entrenós totais}}$$

$$INJ \text{ (\%)} = \frac{\text{comprimento da galeria} \times 100}{\text{comprimento do colmo}} \quad SOB \text{ (\%)} = \frac{n^{\circ} \text{ insetos finais} \times 100}{n^{\circ} \text{ insetos iniciais}}$$

O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), com 5 repetições. Cada parcela foi constituída por uma garrafa pet contendo uma secção do colmo.

2.3. Análise Estatística

Foi realizada a transformação via arco seno da raiz quadrada de $x/100$ para os caracteres obtidos em percentagem (sobrevivência larval, pupação, índice de infestação e injúria). Após a análise de variância, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, com 5% de probabilidade. Todas as análises foram executadas com o auxílio do software R (R Development Core Team, 2014).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Desempenho larval em folhas de cana-de-açúcar

Ao avaliar o teste de sobrevivência inicial das lagartas de *D. saccharalis* nas folhas de cana-de-açúcar aos 4 meses, foram observadas diferenças significativas a 5% de probabilidade pelo teste F entre os genótipos para os caracteres SOB ($P \leq 0,05$) e EDV ($P \leq 0,05$) (Figura 2). A variedade SP80-3280 apresentou 10,83% da sobrevivência das lagartas, diferindo apenas da RB867515 e do clone IM76-228 que apresentaram 0,83% e 1,33% de sobrevivência, respectivamente (Figura 2A). Para a análise de dano foliar, a variedade SP80-1842 apresentou em média nota 2,60 de EDV, em relação a IM76-228 com nota 1,00 de dano foliar (Figura 2B).

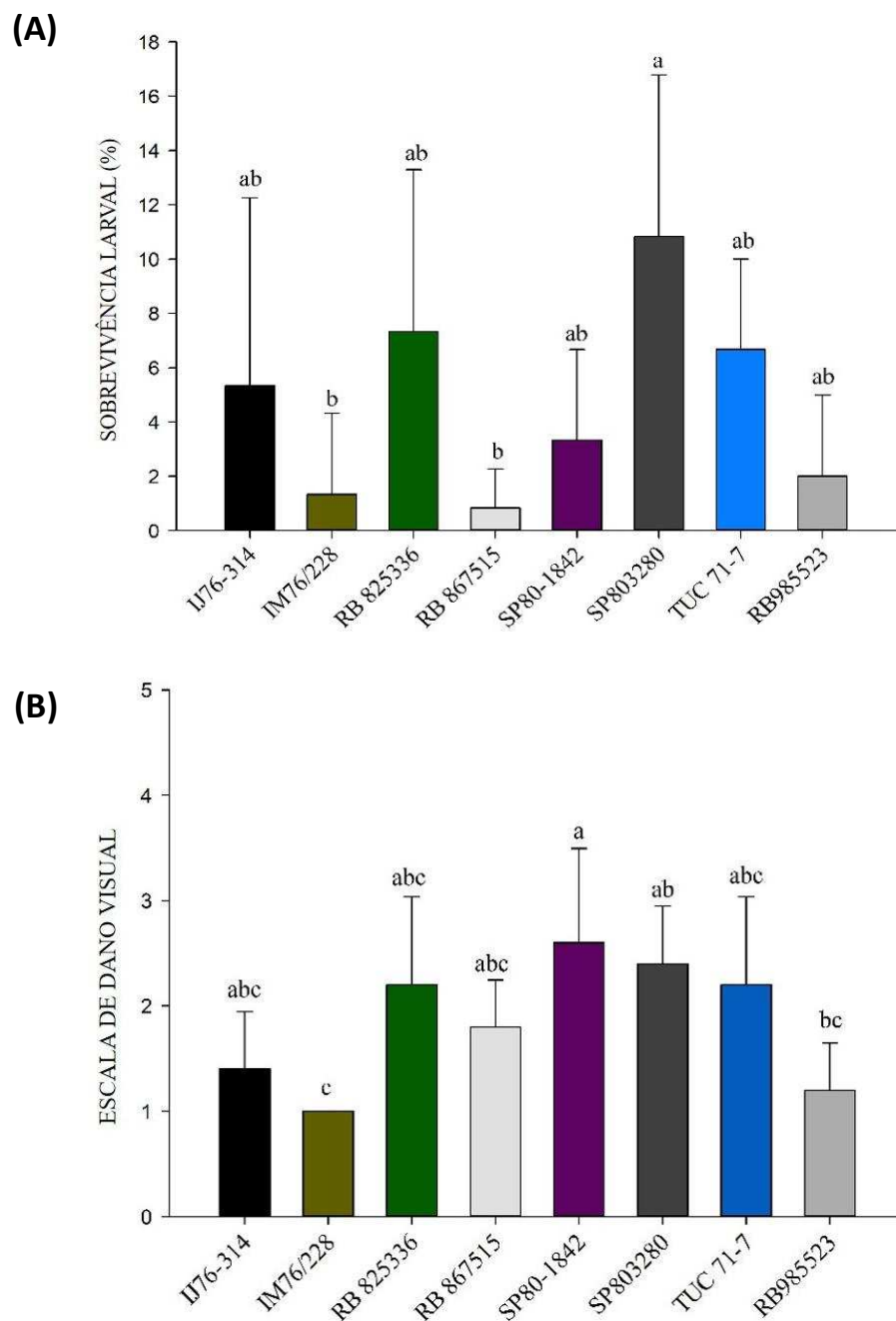


Figura 2 – (A) Sobrevivência larval de *D. saccharalis* recém-eclodidas, alimentadas de folhas de oito genótipos de cana-de-açúcar aos 4 meses de idade, em laboratório ($26 \pm 2^\circ\text{C}$: $70 \pm 10\%$ UR, e fotoperíodo de 12 horas), durante 6 dias; (B) Escala de dano visual (de 0 a 5, sendo a nota 0 atribuída a ausência de injúria e nota 5 atribuída ao maior dano, presença de coração morto). Média $\pm$ desvio padrão, seguido pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de significância.

Em muitos insetos, preferência para oviposição das fêmeas se correlacionou com o subsequente desempenho larval (Hanks et al., 1993; Nylin & Janz, 1993; Barker & Maczka, 1996). Em comparação com a preferência de oviposição da *D. saccharalis* (Capítulo 1) com chance de escolha, denota uma preferência pela variedade RB867515 em total de posturas e ovos. No entanto, o desempenho larval em folhas de cana-de-açúcar aos 4 meses de idade, desta variedade foi inferior (Figura 2A), ou seja, a variedade mais ovipositada não teve um maior desenvolvimento da prole (Figura 3).

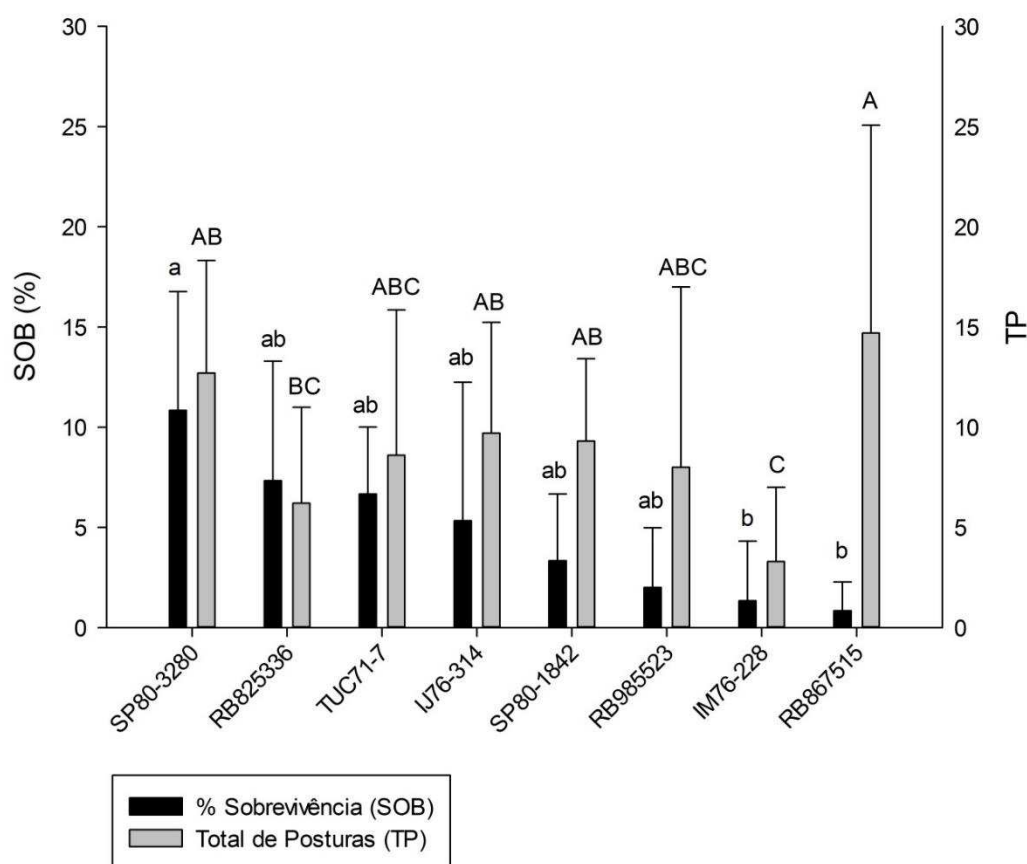


Figura 3 – Sobrevivência larval (SOB %) de *D. saccharalis* recém-eclodidas, alimentadas de folhas de oito genótipos de cana-de-açúcar aos 4 meses de idade, e Total de posturas (TP), nos mesmo genótipos no teste com chance de escolha (Capítulo 1, Figura 6A). Média $\pm$ desvio padrão, seguido pela mesma letra e cor de barra, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de significância.

Dinardo-Miranda (2012), denota que a variedade IAC86-3396 foi a mais preferida para a oviposição da *D. saccharalis*, contudo uma vez que o mesmo número de ovos foi colocado sobre as plantas, o maior número de formas biológicas foi encontrado nas variedades IACSP96-3060 e IACSP94-4004, mas não em IAC86-3396. Corroborando com Téran et al. (1985), em um estudo com seis variedades de cana-de-açúcar, onde observou que a NA56-79 recebeu o menor número de ovos de *D. saccharalis*, enquanto a IAC52-150 foi preferida para oviposição. Contudo, esses autores relatam também que a sobrevivência larval foi significativamente maior na variedade NA56-79 (41,7%), do que em IAC52-150 (25,0%).

A variedade de preferência para oviposição não faz sempre permitir o desenvolvimento de uma maior número de larvas (Lara, 1991). Muitos outros insetos têm sido encontrados em plantas não hospedeiras, ou em associações na qual as fêmeas tomam decisões aparentemente inadequadas, que acarretaram em um menor rendimento do desempenho da prole (Underwood, 1994; Larsson et al., 1995).

Uma explicação, pode ser devido a fatores genéticos, em que a preferência de oviposição e performance larval estão sob diferentes controles genéticos (Thompson et al., 1990; Janz, 1998, 2002), muitas vezes modificada pela plasticidade na preferência de oviposição, causados pelo estado motivacional do inseto, como definido pela carga de ovo e tempo desde a última oviposição (Singer et al, 1992; Prokopy et al, 1994; Ueno, 1999; Agnew & Singer, 2000) e pelo aprendizado dos adultos (Papaj & Lewis, 1992).

No entanto, a preferência de oviposição (Capítulo 1) e desempenho larval (Figura 2A) foram ambas inferiores para o clone IM76-288 (Figura 3), denotando que possivelmente exista a presença de fatores de repelência, e por fatores que afetam a sobrevivência larval de primeiro instar nas folhas deste genótipo.

Diversos autores têm relatado diferenças na capacidade de sobrevivência larval inicial e danos da *D. saccharalis* em cana-de-açúcar (Kyle & Hensley, 1970; Coburn & Hensley, 1972; White, 1993a; Sosa, 1988; Dinardo-Miranda et al., 2012; Thomaz, 2014). Uma vez que o mesmo número de lagartas foram infestadas em cada planta, há ampla evidência para sugerir que, as diferenças na mortalidade das lagartas iniciais entre os genótipos são provavelmente devido às características morfológicas, como a resistência do tecido, pilosidade, ou ceras, que agem como barreiras à alimentação e por

características químicas na superfície das folhas, que são conhecidas por afetar a sobrevivência larval de primeiro instar em Lepidóptera (Zalucki, 2002).

Embora não tenhamos contabilizado a mortalidade larval diariamente, mas somente avaliando no último dia, a sobrevivência larval foi baixa em todos os genótipos. Este fato indica que quando as lagartas convergem a partir da folha para as bainhas foliares (cerca de 3 dias após a eclosão dos ovos) outras características das plantas, tais como bainhas foliares mais aderidas (Coburn & Hensley, 1972) podem afetar a sobrevivência das lagartas, como também tecidos com alto teor de fibras são mais duros e mais resistentes à ação das mandíbulas dos insetos mastigadores (Santiago et al., 2013), ocorrendo um desgaste destas.

Tricomas em folhas de cana-de-açúcar foram relatados por Sosa (1988) no retardamento dos movimentos de lagartas de primeiro instar da *D. saccharalis*, podendo aumentar a taxa de mortalidade pelo aumento da exposição destas à fatores ambientais e biológicos adversos (Dinardo-Miranda et al., 2012). Embora não tenhamos avaliado a densidade de tricomas nas folhas de cana-de-açúcar entre os genótipos, uma compreensão mais completa do mecanismo subjacente destes clones para esta característica é um importante passo neste processo. Uma vez que, a antixenose ocasionada pela presença de tricomas é um mecanismo de defesa que algumas plantas, incluindo a cana-de-açúcar, apresentam contra o ataque de insetos da família Pyralidae (Smith, 2005), que provavelmente elucidará os menores danos e a baixa sobrevivência larval inicial, encontrados nos genótipos testados.

3.2. Desempenho larval no interior dos colmos de cana-de-açúcar

O desempenho larval no interior dos colmos, não houve diferença significativa a 5% de probabilidade pelo teste F entre os genótipos para os caracteres SOB ($P \geq 0,05$), GM ($P \geq 0,05$) e PUP ($P \geq 0,05$) (Tabela 2). Houve diferença significativa entre os genótipos a 5% de probabilidade pelo teste F para os caracteres II ($P \leq 0,05$) e INJ ($P \leq 0,05$) (Tabela 2 e Figura 4). A menor porcentagem do índice de infestação (19,18%) foi observada no genótipo IM76-288, que diferiu estatisticamente com a RB867515, IJ76-314 e RB825336 que apresentaram variação de 49,33 a 67,50% no II (Figura 4A). Para análise de injúria, a variedade RB867515 apresentou a maior porcentagem com 46,42%, em relação a SP80-3280, IJ76-314, IM76-288, RB985523 e TUC71-7 que exibiram variação de injúria entre 15,53 a 24,54% (Figura 4B).

Tabela 2 – Sobrevivência larval (SOB %), ganho de massa (GM), porcentagem de pupação (PUP %), índice de infestação (II %) e injúria (INJ %) para avaliação do desempenho larval de *Diatraea saccharalis*, em genótipos de cana-de-açúcar aos 6 meses de idade.

Genótipos	SOB (%)	GM (mg)	PUP (%)	II (%)	INJ (%)
RB867515	50,00 $\pm$ 7,75 ⁽¹⁾	46,21 $\pm$ 13,56	10,00 $\pm$ 5,48	67,50 $\pm$ 5,81 a	46,42 $\pm$ 7,44 a
SP80-3280	52,00 $\pm$ 8,60	36,68 $\pm$ 5,05	2,00 $\pm$ 2,00	40,66 $\pm$ 6,86 ab	24,54 $\pm$ 5,30 b
IJ76-314	72,00 $\pm$ 5,83	23,67 $\pm$ 3,00	10,00 $\pm$ 5,48	53,33 $\pm$ 6,99 a	22,62 $\pm$ 2,80 b
IM76-228	44,00 $\pm$ 6,78	23,80 $\pm$ 5,85	8,00 $\pm$ 4,90	19,18 $\pm$ 2,65 b	15,53 $\pm$ 1,70 b
RB985523	48,00 $\pm$ 13,93	34,52 $\pm$ 5,26	8,00 $\pm$ 3,74	39,33 $\pm$ 8,97 ab	16,83 $\pm$ 2,67 b
RB825336	60,00 $\pm$ 6,32	29,78 $\pm$ 4,24	4,00 $\pm$ 2,45	49,33 $\pm$ 8,59 a	34,14 $\pm$ 5,87 ab
TUC71-7	52,00 $\pm$ 12,41	42,22 $\pm$ 14,62	0,00 $\pm$ 0,00	38,33 $\pm$ 5,00 ab	24,33 $\pm$ 4,30 b
SP80-1842	56,00 $\pm$ 8,12	46,25 $\pm$ 15,54	2,00 $\pm$ 2,00	38,67 $\pm$ 5,64 ab	30,38 $\pm$ 3,00 ab
Média Geral	54,25	35,39	5,50	43,29	26,85
CV %	26,63	61,31	134,99	43,48	49,17
p-valor	0,5271	0,5249	0,3515	0,0008	0,0010

⁽¹⁾ Média $\pm$ desvio padrão

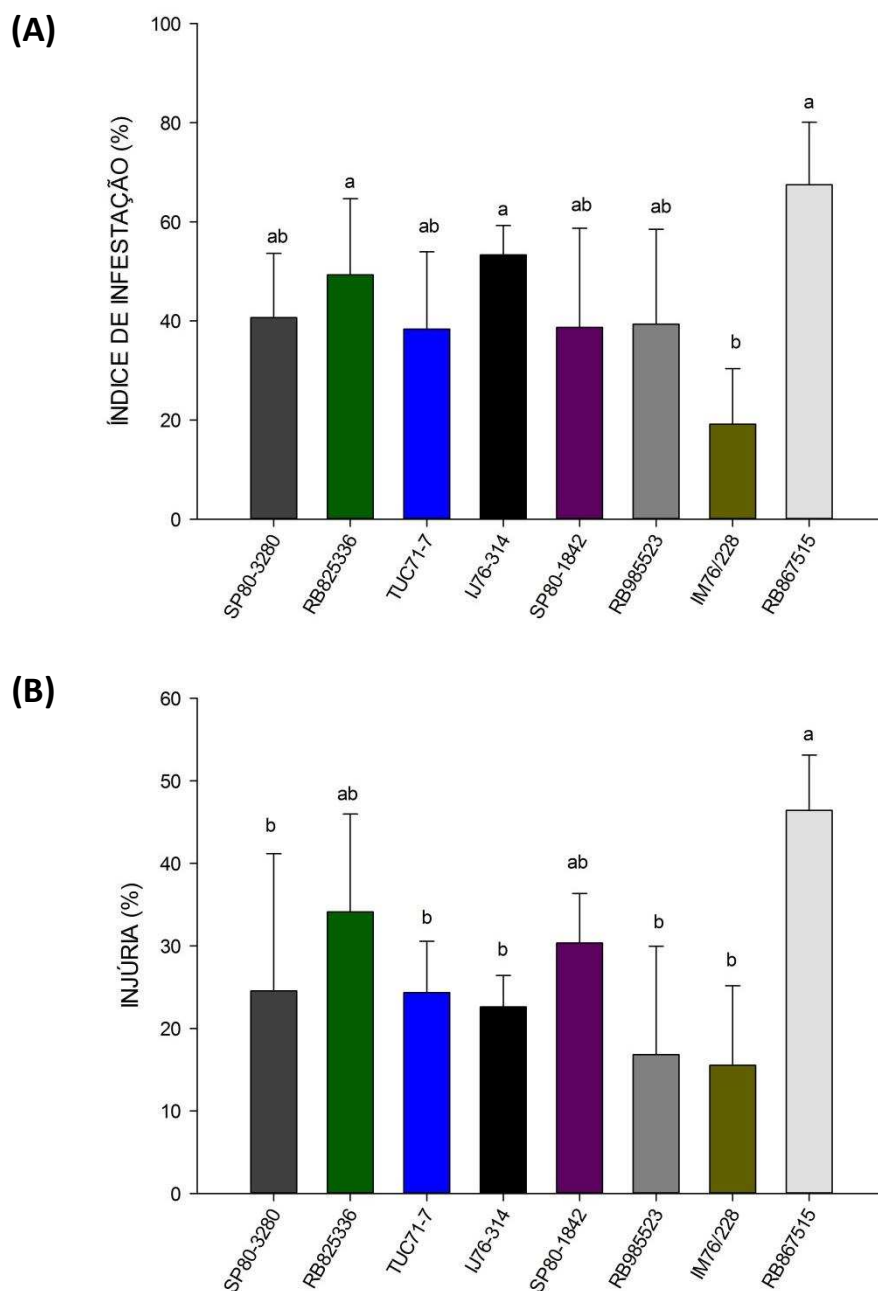


Figura 4 – (A) Índice de infestação (%) nos colmos de cana-de-açúcar aos 6 meses de idade, infestados com 10 lagartas de *D. saccharalis* de 15 dias de idade, em laboratório ($26 \pm 2^\circ\text{C}$; $70 \pm 10\%$ UR, e fotoperíodo de 12 horas); (B) Injúria (%), correspondente ao comprimento de galeria ocasionados pelas lagartas da broca-da-cana. Média $\pm$ desvio padrão, seguido pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de significância.

Diferenças entre variedades em arroz (Nascimento & Barrigossi, 2014; Sidhu, 2013) e em cana-de-açúcar (Dinardo-Miranda et al., 2012; Tomaz 2014), tem sido relatado por diversos autores, sobre o desempenho larval da *D. saccharalis*. Para o índice de infestação (porcentagem de entrenós broqueados) em ensaios em casa-de-vegetação, foram relatadas diferenças no sucesso a variação da resistência de variedades de cana-de-açúcar a broca-da-cana (Terán et al., 1986; Dinardo-Miranda et al., 2012), assim como o comprimento de galeria como medida de dano para avaliar a resistência de cana-de-açúcar para outras brocas dos colmos, como a broca-da-cana Africana (*Eldana saccharina* Walker (Lepidoptera: Pyralidae))(Keeping, 2006; Keeping & Meyer, 2006; Kvedaras et al., 2007).

No presente estudo, as avaliações do II e INJ (comprimento de galeria) permitiram diferenciar entre os genótipos, sendo SP80-3280, IJ76-314, IM76-288, RB985523 e TUC71-7 com as menores taxas de injúria em comparação com a RB867515, que apresentou a maior taxa. Esses resultados corroboram com Tomaz (2014), onde a avaliação do comprimento de galeria permitiu melhor comparação entre as variedades estudadas para a broca-da-cana, na qual, a variedade RB867515 sofreu o maior dano e SP80-3280 sofreu o menor dano em relação ao tratamento controle SP89-1115.

Dinardo-Miranda et al. (2012), comparou o efeito de 10 cultivares de cana-de-açúcar no desenvolvimento larval da broca-da-cana, na qual, a cultivar IACSP94-2094 provavelmente teve um supressor de componente, que inibiu a penetração de lagartas no colmo, além de substâncias com algum grau de dissuasão, uma vez que tanto o número total de entrenós broqueados e o número de entrenós broqueados por forma biológica foram menores do que nas demais cultivares. Por conseguinte, em nosso estudo o genótipo IM76-228 apresentou as menores taxas de entrenós broqueados (II) e injúria (INJ) diante das outros clones, indicando que provavelmente tenha algum componente de resistência que atrasa a entrada das lagartas no colmo, assim, estas têm um período mais curto para danificar os colmos. Diferença no tempo de lagartas de *D. saccharalis* em penetrar nos colmos de diferentes variedades de cana-de-açúcar tem sido relatada (White, 1993b), e que é susceptível de ser associado à dureza da casca, teor de cera na superfície dos colmos ou teor de fibra (White, 2006, 2011).

White et al. (2011) sugeriu antibiose como um mecanismo de resistência à broca-da-cana em duas variedades do Programa de melhoramento de Louisiana nos Estados Unidos, uma vez que eles observaram baixa emergência de adultos e baixo peso larval em insetos a partir dessas cultivares. Neste trabalho a porcentagem de pupas por genótipo variou de 0,0% (TUC71-7) a 10,0% (RB867515 e IJ76-314), sendo tais diferenças não significativas. À primeira vista, não houve mudança significativa na duração da fase larval em função do hospedeiro, no entanto, uma vez que as datas em que as lagartas se tornaram pupas não puderam ser registrados, não é possível inferir se houve ou não interferência do hospedeiro na duração da fase larval.

Outras investigações abordando essas e outras fontes de resistência entre estes genótipos contribuirão para programas de melhoramento genético de cana-de-açúcar, podendo estas fontes serem introduzidas em variedades de que apresentem todas as características agrônômicas favoráveis e que não possuam resistência à broca.

3.2.1. Experimentos Complementares

Dois outros experimentos de desempenho larval no interior dos colmos de cana-de-açúcar foram conduzidos, visando, avaliar e caracterizar a reação de outros genótipos à broca-da-cana. Houve diferenças significativas a 5% de probabilidade pelo teste F entre os genótipos para os caracteres SOB, GM, II e INJ (Apêndice 1), no segundo experimento. Assim como, no terceiro experimento para II e INJ (Apêndice 2).

Destaca-se no segundo experimento o clone IN84-82, com taxa de sobrevivência larval de 34,00%, em comparação à RB988082 com 76,00% de SOB. O mesmo clone, também apresentou GM com 8,34 mg, em relação às variedades RB987935 e RB835054 com 48,78 mg e 48,53 mg, respectivamente. Entretanto, a variedade RB835054 apresentou menor taxa de injúria com 23,03%, em comparação à 41,87% e 41,77% da RB991536 e RB988082, respectivamente (Apêndice 1).

No terceiro experimento, vale ressaltar que os clones US85-1008 e RB975932, com 26,50% e 35,67% de II, apresentam menores taxas em comparação com o clone UFV09910, com 74,26% de índice de infestação. Não obstante, o mesmo clone apresentou maior taxa de injúria com 59,44%, em relação à variedade RB975932 com 15,67% de INJ (Apêndice 2).

4. APÊNDICES

Apêndice 1 – Porcentagem de sobrevivência (SOB), ganho de massa (GM), pupação (PUP), índice de infestação (II) e porcentagem de injúria (INJ), para avaliação do desempenho larval de *Diatraea saccharalis*, em genótipos de cana-de-açúcar no segundo experimento.

Genótipos	SOB (%)	GM (mg)	PUP (%)	II (%)	INJ (%)
RB835054	40,00 ± 10,00 bc ⁽¹⁾	48,53 ± 7,88 a	0,00 ± 0,00	30,48 ± 12,07 a	23,03 ± 8,33 b
H.KAWANDANG	44,00 ± 19,49 abc	12,83 ± 21,24 bc	0,00 ± 0,00	29,66 ± 9,01 a	32,36 ± 10,05 ab
CO62-175	78,00 ± 13,04 ab	37,03 ± 26,39 abc	0,00 ± 0,00	55,88 ± 24,77 a	37,28 ± 10,98 ab
RB965602	46,00 ± 25,10 abc	40,57 ± 13,75 ab	0,00 ± 0,00	42,67 ± 17,38 a	37,30 ± 8,43 ab
RB988082	76,00 ± 15,17 a	19,72 ± 15,07 abc	0,00 ± 0,00	57,00 ± 19,24 a	41,77 ± 7,53 a
RB991536	78,00 ± 13,04 ab	39,48 ± 14,45 abc	2,00 ± 4,47	60,67 ± 20,06 a	41,87 ± 12,73 a
RB987935	66,00 ± 13,42 abc	48,78 ± 4,44 a	0,00 ± 0,00	49,05 ± 21,47 a	32,34 ± 5,33 ab
IN84-82	34,00 ± 20,74 c	8,34 ± 9,37 c	0,00 ± 0,00	32,05 ± 5,66 a	28,97 ± 4,80 ab
Média Geral	57,75	31,91	0,25	44,68	34,37
CV %	23,57	48,83	632,45	25,22	14,98
p-valor	0,0004	0,0004	0,4493	0,0255	0,0198

⁽¹⁾ Média ± desvio padrão seguido pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey, com 5% de significância.

Apêndice 2 – Porcentagem de sobrevivência (SOB), ganho de massa (GM), pupação (PUP), índice de infestação (II) e porcentagem de injúria (INJ), para avaliação do desempenho larval de *Diatraea saccharalis*, em genótipos de cana-de-açúcar, no terceiro experimento.

Genótipos	SOB (%)	GM (mg)	PUP (%)	II (%)	INJ (%)
RB991552	58,00 ± 14,83 ⁽¹⁾	4,42 ± 4,77	28,00 ± 20,49	40,00 ± 12,25 ab	22,50 ± 4,57 bc
RB975932	44,00 ± 16,73	17,90 ± 19,56	16,00 ± 15,17	35,67 ± 26,08 b	15,67 ± 8,36 c
US85-1008	26,00 ± 15,17	24,90 ± 27,68	4,00 ± 5,48	26,50 ± 10,98 b	28,33 ± 18,96 bc
F150	58,00 ± 24,90	5,51 ± 7,24	18,00 ± 16,43	50,83 ± 15,70 ab	35,43 ± 12,59 abc
SP83-5073	52,00 ± 21,68	7,09 ± 8,78	20,00 ± 12,25	51,67 ± 17,08 ab	19,38 ± 3,00 bc
UFV09910	66,00 ± 8,94	4,14 ± 5,67	20,00 ± 14,14	74,26 ± 18,65 a	59,44 ± 14,30 a
RB966928	56,00 ± 11,40	12,90 ± 12,60	12,00 ± 16,43	48,81 ± 19,47 ab	40,19 ± 15,18 ab
SP89-1115	54,00 ± 15,17	18,45 ± 23,26	10,00 ± 10,00	48,00 ± 19,56 ab	26,36 ± 12,21 bc
Média Geral	51,75	11,91	16,00	46,97	30,91
CV %	25,00	133,83	67,59	27,22	23,50
p-valor	0,0523	0,3280	0,2032	0,0111	<0,0001

⁽¹⁾ Média ± desvio padrão seguido pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey, com 5% de significância.

5. CONCLUSÕES

O clone IM76-228 e a variedade RB867515 proporcionaram como efeito as menores porcentagens de sobrevivência das lagartas recém-eclodidas de *D. saccharalis*, sendo a menor escala de dano visual em folhas de cana-de-açúcar para IM76-228, aos 4 meses de idade.

O desempenho larval da *D. saccharalis* em colmos de cana-de-açúcar aos 6 meses, foi menor no IM76-228, com os menores índices de infestação e injúria, em relação a variedade RB867515 com os maiores índices.

6. REFERÊNCIAS

- Agnew, K.; Singer, MC. 2000. Does fecundity drive the evolution of insect diet? *Oikos* 88: 533-538.
- Araújo, J. R.; Botelho, P. S. M.; Araújo, S. M. S. S.; Almeida, L. C.; Degaspari, N. 1985. Nova dieta artificial para criação da *Diatraea saccharalis* (Fabr.). *Saccharum*, São Paulo, n. 36, p. 45-48.
- Barker, AM; Maczka, CJM. 1996. The relationships between host selection and subsequent larval performance in three free-living graminivorous sawflies. *Ecol. Entomol.* 21: 317-327.
- Coburn, G.E.; S.D. Hensley. 1972. Differential survival of *Diatraea saccharalis* (F.) larvae on two varieties of sugarcane. *Proc. Int. Soc. Sugar Cane Technol.* v. 14, p. 440-444.
- Coley, P.D. 1983. Herbivory and defensive characteristics of tree species in a lowland tropical forest. *Ecol. Monogr.*, v. 53, p. 209–233.
- Dinardo-Miranda, L.L. 2008. Pragas. In: Dinardo-miranda, L.L.; Vasconcelos, A.C.M.; Landell, M.G.A. (Eds). *Cana-de-açúcar*. IAC, São Paulo, p. 349 – 404.
- Dinardo-Miranda, L.L; Anjos, I.A; Da Costa, V.P; Fracasso, J.V. 2012. Resistance of sugarcane cultivars to *Diatraea saccharalis*. *Pesquisa agropecuária brasileira*, v. 47(1), p. 1-7.
- Gallo, D., O. Nakano, S. Silveira neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Baptista, E. Berti filho, J.R.P. Parra, R.A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramim, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes & C. Omoto. 2002. *Entomologia agrícola*. Piracicaba, ESALQ, p. 920.

Hanks, LM, Paine, TD, Millar, JG. 1993. Host species preference and larval performance in the wood-boring beetle *Phoracantha semipunctata*. *Oecologia* 95: 22-29.

Janz, N, Nylin, S. 1998. Butterflies and plants: a phylogenetic study. *Evolution* 52: 486-502.

Janz, N, Thompson, JN. 2002. Plant polyploidy and host expansion in an insect herbivore. *Oecologia*: in press.

Keeping M.G. 2006. Screening of South African sugarcane cultivars for resistance to the stalk borer *Eldana saccharina* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). *Afr. Entomol.* 14f (in press).

Keeping M.G.; Meyer, J.H. 2006. Silicon-mediated resistance of sugarcane to *Eldana saccharina* Walker (Lepidoptera: Pyralidae): effects of silicon source and cultivar. *J. Appl. Entomol.* v. 130(8), p. 410 – 420.

Korndorfer, G.H.; Ribeiro, A.C.; Andrade, L.A.B. 1999. Cana de açúcar. In: Ribeiro, A. C.; Guimarães, P. T. G.; Alvarez V., V. H. (Ed.). *Recomendação para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5. Aproximação*. Viçosa: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, p. 25-32.

Kvedaras, O.L., Keeping, M.G., Goebel, F.R., Byrne, M.J. 2007. Larval performance of the pyralid borer *Eldana saccharina* Walker and stalk damage in sugarcane: Influence of plant silicon, cultivar and feeding site. *International Journal of Pest Management*, July – September; v. 53(3), p. 183 – 194.

Kyle, M.L., Hensley, S.D. 1970. Sugarcane borer host plant resistance studies. *Proc. La. Acad. Sci.* (In press).

Larsson, S, Glynn, C, Hoglund, S. 1995. High oviposition rate of *Dasineura marginemtorquens* on *Salix uiminalis* genotypes unsuitable for offspring survival. *Entomol. Exp. Appl.* 77: 265-270.

Meagher, R. L., JR., J. E. Irvine, R. G. Breene, R. S. Pfannenstiel & M. Gallo-Meagher. 1996. Resistance mechanisms of sugarcane to Mexican rice borer (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Econ. Entomol.* v. 89, p. 749-760.

Nascimento, J. B., & de Freitas Barrigossi, J. A. 2014. Responses of Rice Mini-Core Collection Accessions to Damage by *Diatraea saccharalis* (Fabricius) Stem Borer. *Agricultural Sciences*, v. 5, n. 09, p. 776.

Nicholson, R.L.; Hammerschmidt, R. 1992. Phenolic compounds and their role in disease resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.*, v. 30, p. 369–389.

Nylin, S, Janz, N. 1993. Oviposition preference and larval performance in *Polygonia c-album* (Lepidoptera: Nymphalidae): the choice between bad and worse. *Ecol. Entomol.* 18: 394-398.

Papaj, DR, Lewis, AC. 1992. *Insect Learning. Ecological and Evolutionary Perspectives.* Chapman & Hall, New York.

Prokopy, RJ, Roitberg, BD, Vargas, RI. 1994. Effects of egg load on finding and acceptance of host fruit in *Ceratitis capitata* flies. *Physiol. Entomol.* 19: 124-132.

R Development Core Team (2014) *R: A language and environment for statistical computing.* R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.

Raupp, M.J. 1985. Effects of leaf toughness on mandibular wear of the leaf beetle, *Plagioderma versicolora*. *Ecol. Entomol.*, v. 10, p. 73–79.

Santiago, R.; Barros-Rios, J. and Malvar, R. A. 2013. Impact of Cell Wall Composition on Maize Resistance to Pests and Diseases. *Int. J. Mol. Sci.*, v. 14, p. 6960-6980.

Schoonhoven, L.M., Van Loon, J.J.A., Dicke M. 2005. *Insect-Plant Biology*, Ed 2. Oxford University Press, Oxford.

Sidhu, J. K. 2013. Development of Integrated Pest Management for Sugarcane Borer, *Diatraea Saccharalis* in Rice (Doctoral dissertation, Punjab Agricultural University).

Singer, MC, Vasco, D, Parmesan, C, Thomas, CD, Ng, D. 1992. Distinguishing between "preference" and "motivation" in food choice: an example from insect oviposition. *Anim. Behav.* 44: 463-471.

Smith, C.M. 2005. Plant resistance to arthropods: molecular and conventional approaches. The Netherlands: Springer, p. 423.

Sosa, O. 1988. Pubescence in sugarcane as a plant resistance character affecting oviposition and mobility by the sugarcane borer (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Econ. Entomol.* v. 81, p. 661-667.

Stange, R.R.; Ralph, J.; Peng, J.P.; Sims, J.J.; Midland, S.L.; McDonald, R.E. 2001. Acidolysis and hot water extraction provide new insights into the composition of the induced "lignin-like" material from squash fruit. *Phytochemistry.*, v. 57, p. 1005–1011.

Terán, F.O.; Sánchez, A.G.; Precetti, A.A.C.M. 1986. Estudos sobre resistência da cana à broca em telado – III. *Boletim Técnico Copersucar*, v.34, p.53-60.

Thompson, JN, Wehling, W, Podolsky, R. 1990. Evolutionary genetics of host use in swallowtail butterflies. *Nature* 344: 148-150.

Tomaz, A. C. 2014. Genetic divergence and resistance of sugarcane genotypes to *Diatraea saccharalis*. Viçosa: UFV, 2014. 55f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

Ueno, T. 1999. Host-feeding and acceptance by a parasitic wasp (Hymenoptera: Ichneumonidae) as influenced by egg load and experience in a patch. *Evol. Ecol.* 13: 33-44.

Underwood, DLA. 1994. Intraspecific variability in host plant quality and ovipositional preferences in *Eucheira socialis* (Lepidoptera: Pieridae). *Ecol. Entomol.* 19: 245-256.

White, W. H. 1993a. Cluster analysis for assessing sugarcane borer resistance in sugarcane line trials. *Field Crops Res.* v. 33, p. 159 – 168.

White, W.H. 1993b. Movement and establishment of sugarcane borer (Lepidoptera: Pyralidae) larvae on resistant and susceptible sugarcane. *Fl. Entomol.* v. 76, p. 465–473.

White, W.H.; Tew, T.L.; Richard, E.P. 2006. Association of sugarcane pith, rind hardness, and fiber with resistance to the sugarcane borer. *Journal American Society Sugar Cane Technologists*, v. 26, p.87-100.

White, W.H.; Hale A.L.; Veremis, J.C.; Tew, T.L.; Richard Jr, E.P. 2011. Registration of two sugarcane germoplasm clones with antibiosis to the sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae). *Journal of Plant Registration*, v.5, n.2, p.248-253.

Zalucki, M.P., Clarke, A.R., Malcolm, S.B. 2002. Ecology and behavior of first instar larval lepidoptera. *Annu. Rev. Entomol.* v. 47, p. 361 – 393, 2002.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

No primeiro capítulo, o experimento sem chance de escolha e a avaliação da fertilidade dos ovos, não houve diferenças significativas na preferência de oviposição pelas fêmeas de *D. saccharalis*, entre os genótipos IM76-228, RB867515 e SP80-3280 e, pela posição das plantas dentro das gaiolas. No experimento com chance de escolha o IM76-228 foi o menos preferido para a oviposição pela *D. saccharalis*, em relação a variedade RB867515 de maior preferência, caracterizando uma resistência do tipo antixenose. Para a distribuição das posturas, denotou uma preferência de oviposição na região apical das folhas pelas fêmeas da broca-da-cana. Os compostos voláteis coletados apresentaram perfis diferentes entre os genótipos, tendo sido observados maiores quantidades de compostos no IM76-228. No segundo capítulo, o clone IM76-228 e a variedade RB867515 proporcionaram como efeito as menores porcentagens de sobrevivência das lagartas recém-eclodidas de *D. saccharalis*, sendo a menor escala de dano visual em folhas de cana-de-açúcar para IM76-228, aos 4 meses de idade. O desempenho larval da *D. saccharalis* em colmos de cana-de-açúcar aos 6 meses, foi menor no IM76-228, com os menores índices de infestação e injúria, em relação a variedade RB867515 com os maiores índices. Portanto, neste trabalho diferenças na preferência de oviposição e no desempenho larval foram encontradas, na qual, o genótipo IM76-228 se destacou entre os demais, podendo posteriormente ser utilizado como genitor em um programa de melhoramento genético de cana-de-açúcar, visando a prospecção de variedades resistência a broca-da-cana, ou em novos estudos para uma compreensão mais completa do(s) mecanismo(s) subjacente deste genótipo.