

**BRUNO OLIVEIRA SOARES**

**METODOLOGIA E AVALIAÇÃO DE MECANISMOS DE RESISTÊNCIA DA  
CANA-DE-AÇÚCAR À CIGARRINHA DAS RAÍZES**

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

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2014

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

T

S676m  
2014

Soares, Bruno Oliveira, 1978-  
Metodologia e avaliação de mecanismos de resistência da  
cana-de-açúcar à cigarrinha das raízes / Bruno Oliveira Soares. –  
Viçosa, MG, 2014.  
v. 60f. : il. ; 29 cm.

Orientador: Márcio Henrique Pereira Barbosa.  
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Inclui bibliografia.

1. Cana-de-açúcar. 2. Melhoramento genético. 3. Plantas -  
Resistência a doenças e pragas. 4. *Mahanarva fimbriolata*.  
5. Pragas agrícolas - Controle. 6. Antibiose. I. Universidade  
Federal de Viçosa. Departamento de Fitotecnia. Programa de  
Pós-graduação em Fitotecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 633.61

BRUNO OLIVEIRA SOARES

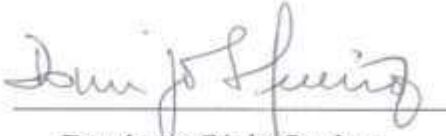
METODOLOGIA E AVALIAÇÃO DE MECANISMOS DE RESISTÊNCIA DA CANA-DE-AÇÚCAR À  
CIGARRINHA DAS RAÍZES

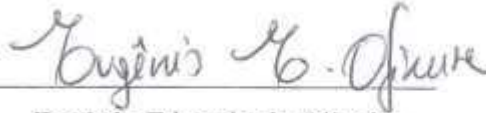
Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.


APROVADA: 8 de dezembro de 2014.

  
Luiz Alexandre Peternelli

  
Eliseu José Guedes Pereira

  
Domingos Sávio Queiroz

  
Eugênio Eduardo de Oliveira

  
Felipe Lopes da Silva  
(Presidente da Banca)

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, por me guiar nos momentos difíceis e alegres da vida.

À minha família, meus pais Sebastião e Lígia, por todo o suporte, apoio, dedicação, por serem minha fortaleza e refúgio. Meus irmãos Marcelo e Gustavo, por serem companheiros, amigos, por estarem sempre ao meu lado, me dando forças e encorajando a seguir em frente.

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

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao professor Márcio Henrique Pereira Barbosa, pela orientação, ensinamentos e pela credibilidade em mim depositada.

Aos colegas Guilherme, Vinicius, Willian, Fernanda, Natalia, Silvania, Ana Claudia por toda ajuda nas diferentes etapas deste trabalho.

Ao professor Luis Alexandre Petternelli, pela ajuda na análise estatística.

Ao professor Eliseu José Guedes Pereira por todo o apoio e conhecimentos passados.

Ao professor Felipe Lopes da Silva, pela compreensão e apoio nessa etapa final.

Ao pesquisador Domingos Sávio Queiroz pelas valiosas sugestões para o aprimoramento do trabalho.

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

À toda equipe do CECA por toda a contribuição na realização deste trabalho.

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

## SUMÁRIO

RESUMO-----	iv
ABSTRACT-----	v
1- Metodologia para seleção massal de genótipos de cana-de-açúcar contra Mahanarva fimbriolata (Hemiptera: Cercopidae) -----	1
2- Resistência de cana-de-açúcar à cigarrinha das raízes Mahanarva fimbriolata (Hemiptera: Cercopidae) -----	26
5- CONCLUSÕES GERAIS -----	60

## RESUMO

SOARES, Bruno Oliveira, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2014. **Metodologia e avaliação de mecanismos de resistência da cana-de-açúcar à cigarrinha das raízes** Orientador: Márcio Henrique Pereira Barbosa.

O objetivo do presente estudo foi definir quais os mecanismos de resistência da cana-de-açúcar, quando submetidos ao ataque da cigarrinha-das-raízes (*Mahanarva fimbriolata*). Primeiramente determinou-se uma metodologia de larga escala para avaliar e discriminar genótipos resistentes e suscetíveis ao ataque da praga. Constatou-se que com 16,6 e 14,9 dias foi possível detectar o dano provocado pelo ataque de quatro ninfas e seis adultos respectivamente discriminando as reações de susceptibilidade e resistência. Posteriormente seis genótipos, um *Erianthus arundinaceus* H.Kawandang (controle resistente), um *Saccharum* spp RB00-8026 (resistente), e quatro *Saccharum* spp RB95-7610 (suscetível), RB86-7515 (suscetível), SP80-3280 (suscetível) e SP81-3250 (controle suscetível) foram utilizados para determinar quais os mecanismos de resistência que atuavam na cana-de-açúcar. Mecanismos de antibiose, antixenose e tolerância foram identificados como atuantes na discriminação de genótipos contra a *M. fimbriolata* uma vez que para as características avaliadas, ora os insetos preferiam um genótipo a outro, ora os insetos tinham a sua sobrevivência reduzida. De maneira geral o genótipo H Kawandang teve sua resistência caracterizada por antibiose, sendo assim foi utilizado para avaliações anatômicas e estruturais, tendo como testemunha suscetível a variedade SP81-3250. As características anatômicas e quantificação de lignina em ambos os genótipos foram avaliados no trigésimo dia após o início dos tratamentos. A exposição das plantas ao ataque das ninfas resultou em acúmulo de compostos fenólicos na raiz e lignina no colmo do H Kawandang, conferindo a este uma barreira física ao ataque tanto das ninfas, como dos adultos culminando na maior mortalidade dos insetos. O ataque das ninfas resultou em paralisação no ganho de massa fresca da parte aérea em ambos os genótipos estudados. Por outro lado, houve paralisação no acúmulo de massa seca para o genótipo SP813250 e aumento significativo de massa seca para o genótipo H Kawandang. Os resultados encontrados neste estudo demonstram que o genótipo resistente pode ser utilizado como genitor nos programas de melhoramento que visam à obtenção de variedades tolerantes e/ou resistentes a ninfas de cigarrinha das raízes.

## ABSTRACT

Soares, Bruno Oliveira, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, December, 2014.  
**Methodology and evaluation of sugarcane of resistance to root spittlebug.** Adviser:  
Márcio Henrique Pereira Barbosa.

This study aims to define the resistance mechanisms of sugarcane, submitted to attack the insect-of-roots (*Mahanarva fimbriolata*). First, we determined a large-scale methodology to evaluate and discriminate genotypes resistant and susceptible to attack the plague. It was found that 16.6 and 14.9 days respectively could be detected the damage caused by the attack of four nymphs and six adults respectively specifying the susceptibility and resistance reactions. Later six genotypes, one *Erianthus arundinaceus* H.Kawandang (resistant control), an *Saccharum* spp RB00-8026 (resistant) and four *Saccharum* spp RB95-7610 (susceptible), RB86-7515 (susceptible), SP80-3280 (susceptible) and SP81-3250 (susceptible control) were used to determine the resistance mechanisms working in the sugarcane. Mechanisms of antibiosis, antixenosis and tolerance were identified as active in the discrimination of genotypes against *M. fimbriolata* due to available characteristics, so these insects preferred a genotype in relation to another and on the other hand the insects had their reduced survival. In general the genotype H Kawandang had its resistance characterized by antibiosis, so it was used to anatomical and structural evaluations, having as susceptible control the SP81-3250 variety. The anatomical characteristics and quantification of lignin in both genotypes were evaluated on the thirtieth day after the start of treatment. The exposure of plants in the attack of the nymphs resulted in accumulation of phenolic compounds in the root and the stem lignin H Kawandang, giving this a physical barrier in the attack both nymphs and adults culminating in a higher mortality of insects. The nymphs attack caused a shutdown of the fresh weight gain of shoots in both genotypes. On the other hand, dry mass were suspended in SP813250 genotype and there were an increase significant in dry mass to Kawandang M genotype. The results of this study demonstrate that the resistant genotype can be used as a parent in breeding programs aimed at obtaining tolerant varieties and / or resistant to leafhopper nymphs roots.

# Capítulo 1

Metodologia para seleção massal de genótipos de cana-de-açúcar resistentes a *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae)

## **Resumo:**

A cigarrinha-das-raízes, *Mahanarva fimbriolata* (Stål) (Hemiptera: Cercopidae), é praga chave da cana-de-açúcar colhida sem despalha a fogo no Brasil. Tem potencial para ocasionar prejuízos econômicos em milhões de hectares, porque além de reduzir a produtividade dos colmos, a qualidade da cana para o processamento industrial também é prejudicada. A maioria das variedades de cana-de-açúcar é suscetível. Com a avaliação de uma coleção limitada de variedades, mediante infestação controlada de touceiras em casa-de-vegetação, atingiram-se avanços na caracterização da reação da planta hospedeira. Os programas de melhoramento genético de cana-de-açúcar demandam técnicas precisas e eficientes para selecionar indivíduos resistentes em populações segregantes. Neste estudo se desenvolveu e validou uma metodologia em casa-de-vegetação para a avaliação de genótipos ao ataque das ninfas dos insetos, que consiste em brotos, vegetativamente propagados, plantados em pequenas unidades de crescimento. As variedades SP81-3250 e H Kawandang, controles susceptível e resistente, foram submetidas a níveis crescentes de infestação de ninfa (2, 4, 6, 8 e 10) e adulto (4, 6 e 8) por planta respectivamente, buscando determinar o nível ideal de infestação. Com quatro ninfas e seis adultos por planta conseguiu-se diferenciação para escala de dano visual, em 16,6 e 14,9 dias respectivamente após a infestação. A sobrevivência do inseto bem como a razão entre matéria fresca e seca de cada planta também foram eficientes parâmetros para categorizar a resistência e suscetibilidade dos genótipos em relação ao ataque do inseto. Com a infestação de pequenos brotos, vegetativamente propagadas, ganha-se tempo, espaço e recursos físicos. A metodologia desenvolvida incrementa tanto a consistência como a capacidade para a avaliação de genótipos de cana-de-açúcar por resistência à cigarrinha.

**Palavras-chave:** *Mahanarva fimbriolata*, *Saccharum*, cigarrinha das raízes, resistência, avaliação em larga escala, melhoramento de cana-de-açúcar.

## **Abstract:**

The spittlebug, *Mahanarva fimbriolata* (Stål) (Hemiptera: Cercopidae), is the main pest of sugarcane harvested without burning straw removal in Brazil. It has the potential to cause economic losses in millions of hectares, because reduce the productivity of stalks as well as the sugarcane quality for industrial processing. Most varieties of sugarcane is susceptible. With the evaluation of a limited collection of varieties by clumps home-vegetation controlled infestation, reached up advances in the characterization of the host plant reaction. The sugarcane breeding programs require accurate and efficient techniques to select for resistance in large segregating populations. This study developed and validated a methodology in a greenhouse to evaluate genotypes to attack the nymphs, which consists of sprouts, vegetatively propagated and planted in small growth units. The SP81-3250 and H Kawandang varieties, susceptible and resistant controls, respectively, subjected to increasing levels of nymph infestation (2, 4, 6, 8 and 10) and adult (4, 6 and 8) individuals per plant, used treated to determine the optimal level of infestation. Four nymphs and six adults per plant achieved full differentiation for visual damage scale with 16.6 and 14.9 days, respectively, after infestation. The insect survival and the ratio of fresh and dry per plant were also effective parameters for categorizing resistance and susceptibility genotypes related to bug attack. With the infestation of small shoots in vegetative propagated, we saved time, space and physical resources. The methodology enhances both the consistency and the ability to evaluate genotypes sugarcane spittlebug resistance.

**Keywords:** *Mahanarva fimbriolata*, *Saccharum* spp, spittlebug, resistance, large scale evaluation, sugarcane breeding.

## 1- Introdução:

A cultura da cana-de-açúcar tem sido relevante para o Brasil economicamente desde o início do século XVI. Atualmente, o país é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, com cerca de 9,0 milhões de hectares, distribuídos em todos os estados produtores. A produção total de cana-de-açúcar moída na safra 2014/15 é estimada em 659,10 milhões de toneladas (CONAB, 2014). O Interesse econômico em cana-de-açúcar aumentou significativamente nos últimos anos devido ao aumento da demanda mundial para a produção de energia sustentável.

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) cultivada na atualidade é um híbrido poliplóide pertencente à Tribo Andropogoneae na família Poaceae. As cultivares modernas são híbridos interespecíficos derivados essencialmente de cruzamentos entre *Saccharum officinarum* L., uma espécie que possui alto teor de açúcar, e *Saccharum spontaneum* L., um genitor selvagem e vigoroso resistentes a várias doenças de cana (Cheavegatti-Gianotto et al, 2011.; Marconi et al., 2011). No início, o principal foco das hibridações em cana eram o controle de doenças e desenvolvimento de variedades para o cultivo intensivo. Os programas de melhoramento objetivavam a criação de variedades melhoradas destinadas a uma ampla gama de características comerciais importantes, que incluíam capacidade de adaptação a ambientes distintos, produção de sacarose, resistência às doenças, gerenciamento agrônomico, e boas características de moagem (Berding et al., 2004; Barbosa et al., 2007). No início do cultivo da cana, as doenças foram a principal causa de perdas na produção. As primeiras variedades que foram descartadas de uso eram basicamente suscetíveis ao carvão e ferrugem. A liberação de um número crescente de variedades resistência a essas doenças ao longo dos anos reduziu o risco de perdas súbitas de safra por doenças epidêmicas (Matsuoka et al, 2005;.. Matsuoka et al, 2009).

O ataque de insetos fitófagos também constituem um importante estresse biótico entre os vários fatores limitantes que afetam a produção de cana-de-açúcar (Gomez e Lastra, 1995; Leslie, 2004, Dinardo-Miranda, 2008). As principais pragas de importância econômica da cana-de-açúcar podem ser amplamente categorizadas como brocas de tecido, insetos sugadores na parte aérea e cupins no grupo subterrâneo (Cheavegatti-Gianotto et al, 2011;. Srikanth et al., 2011). De maneira geral, diferentes pragas contabilizam mais de 10% das perdas de produtividade em cana em todo o

mundo (Ricaud e Ryan, 1989). Do ponto de vista da gestão agrônômica, o dossel da cana e seu ambiente interno representam uma série de limitações para a implantação de medidas de controle químico. Assim, medidas de controle alternativo de insetos como, métodos de controle mecânicos, práticas culturais e agentes biológicos, são as principais formas de controle das pragas de cana-de-açúcar apresentando custo e eficácia moderados.

Em comparação com as doenças da cana, muito pouco tem sido feito na criação e seleção de clones com resistência a pragas relativos a cultura (Berding et al., 2004; Barbosa e Silveira, 2012). A resistência de plantas é um componente importante de qualquer estratégia que visa reduzir o impacto econômico das pragas nas culturas. De acordo com Panda e Khush (1995) e Smith (2005), a resistência a insetos é definido como a soma de qualidades constitutivas herdadas geneticamente, que resultam em uma planta menos danificada que outra planta suscetível que não apresenta essas qualidades. Na prática, resistência representa a capacidade de uma certa variedade de produzir uma colheita maior, e de melhor qualidade do que outras variedades sob o mesmo nível de infestação de insetos em ambiente similares. Para a cana tem sido difícil de determinar quais caracteres geneticamente herdáveis estão envolvidos na resistência a insetos. No entanto, algumas variedades de cana 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), podendo-se assim estudar a resistência da planta, em uma abordagem de longa duração, para minimizar os danos causados pelas pragas de insetos.

Com a abolição da queima da palha na cultura e adoção da colheita de cana crua, houve uma contribuição significativa na população de pragas.

A cigarrinha da raiz *Mahanarva fimbriolata* (Stål) (Hemiptera: Cercopidae) tornou-se uma importante praga da cana-de-açúcar, devido a proibição da queimada da palha na colheita. Danos à cultura são causados pelo inseto tanto no estágio imaturo (ninfas), que suga água e nutrientes a partir das raízes de plantas como pelo adulto que ao se alimentar injeta secreções salivares tóxicas, levando a uma diminuição na atividade radicular e perda de eficiência no aparato fotossintético respectivamente, conseqüentemente a perda de produtividade (Dinardo-Miranda, 2008). Lesões causadas por *M. fimbriolata* afetam a qualidade da cana apresentando redução no teor de sólidos solúveis totais, no teor de sacarose e açúcares redutores (Mendonça et al., 1996,

Dinardo-Miranda et al., 2000). Thompson (2004) estimou que a redução de 5% na produção de cana-de-açúcar pode ser atribuída a cigarrinha, o que corresponde a 350 milhões de dólares no primeiro ano de perdas.

Para um inseto que ataca as plantações de cana, em milhões de hectares no Brasil, cultivares resistentes podem fornecer um componente útil de manejo integrado dessa praga. No entanto, o desenvolvimento de variedades resistentes à cigarrinha na cana ainda é incipiente (Matsuoka et al., 2005; Pinto et al, 2006; Dinardo-Miranda, 2008). No passado, com base em observações de campo, Pickles (1933, 1942) e Fewkes (1969), relataram que alguns genótipos de cana são menos susceptíveis ao ataque de cigarrinhas do que outros. Mais recentemente, esforços têm sido desenvolvidos com base nas diferenças detectadas de infestação da praga entre cultivares de cana em condições de campo (Dinardo-Miranda et al., 1999; 2001, 2014, Pabón, 2012).

Devido a distribuição espacial e temporal notoriamente irregular de *M. fimbriolata* em parcelas de cana naturalmente infestadas (Dinardo-Miranda et al, 2007; Anjos et al., 2010), a triagem de genótipos resistentes em campo é restrita e ineficiente. Assim, bioensaios em condições de estufa devem ser concebidos para detectar resistência à cigarrinha. Garcia et al. (2006) propuseram um ensaio biológico, com base na infestação artificial de cana cultivada em vasos de 500ml, com desenvolvimento de 90 dias após o plantio em condições de estufa. Este ensaio estabelece de um número constante de infestação com 10 ninfas por planta. A resistência é avaliada como porcentagem de sobrevivência de ninfas até a fase adulta. Este bioensaio, tem a vantagem sobre parcelas de campo naturalmente infestadas por ser mais confiável e preciso já a introdução do inseto é controlada por uma criação massal artificial, sendo a avaliação da resistência independente das condições ambientais no campo. Através da aplicação da presente metodologia, Guimarães et al. (2007) e Garcia et al. (2011), alcançaram avanços na caracterização da resistência às ninfas em uma coleção limitada de variedades de cana.

Pabón (2012), realizou um screenig de 97 clones de cana-de-açúcar utilizando a metodologia proposta por Cardona (1999), tal metodologia consistia de germinar as gemas da cana-de-açúcar em substrato comercial e após sua germinação, transplantar as mudas para um recipiente, conexão de tubo de PVC (5,3 cm de diâmetro, 6,3 cm de comprimento), preenchidos com uma mistura de solo e substrato agrícola

Plantmax®Agro (1: 1) e vedados com conexão redutora a fim de induzir o enraizamento, quando as plantas desenvolveram entre 4 e 6 folhas infestou-se as raízes com 5 ovos de *Mahanarva fimbriolata*, seu trabalho conseguiu discriminar os genótipos testados nas seguintes categorias: resistentes, moderadamente resistentes e suscetível.

Dinardo-Miranda (2014) ao realizar um screening utilizou vasos de 3L, preencheu com mistura de solo e substrato agrícola Plantmax®Agro (1: 1). Os vasos foram mantidos em estufa até que as plantas atingiram a fase de 4-6 folhas. Nesta fase, eles foram cuidadosamente desenraizados dos vasos, expondo parte de suas raízes e posteriormente infestados com 6 ninfas. Além destas pesquisas, praticamente nada foi feito em termos de rastreio de genótipos de cana para a resistência à cigarrinha em condições controladas. No entanto, o método é caro, tanto em termos de recursos físicos (vasos, terra e espaço) como na mão-de-obra técnica necessária para se recuperar e contar os adultos de cigarrinhas que emergem em um período de aproximadamente um mês.

Como um programa de melhoramento necessita de maior agilidade e características mais objetivas na realização de caracterização dos genótipos de cana-de-açúcar o desenvolvimento de uma metodologia mais rápida e eficiente se faz necessária.

É de amplo conhecimento que os sintomas de danos provocados pelo ataque da cigarrinha em cana se caracterizam por um amarelecimento pronunciado e posterior morte foliar. Estes sintomas de danos são consistentes com os obtidos em diferentes trabalhos (Silva et al, 2005; Garcia et al,2007). Cardona et al. (1999) observou sintomas idênticos nas folhas mais jovens de *Brachiaria* infestadas com ninfas de *Aeneolamia varia*, no mesmo estudo os autores propuseram o uso de uma escala de dano para identificar a resistência e suscetibilidade dos genótipos a praga em questão, associando essa escala de dano com porcentagem de sobrevivência das ninfas do inseto e a matéria seca das plantas, contudo não avaliaram a caracterização dos genótipos com relação aos adultos.

Neste contexto, como não é conhecido à relação entre o dano causado e o tempo de exposição das plantas de cana-de-açúcar a variados níveis de infestação com ninfa e adulto da cigarrinha da raízes o objetivo desse trabalho foi aprimorar a metodologia para screening da cana-de-acúcar a diferentes níveis de infestação de *M. fimbriola* usando parâmetros de fácil obtenção.

## 2- Material e Métodos

### 2.1 Plantas, insetos e condições ambientais

Os genótipos de cana-de-açúcar utilizados nesse experimento foram considerados obtidos do estudo de Pabón(2012), como controles suscetível o *Saccharum spp.* (SP81-3250) e resistente o *Erianthus arundinaceus* H.Kawandang H.Kawandang. Esses genótipos foram usados para determinar os níveis ótimos de infestação de ninfas e adultos. Todas as plantas em teste foram obtidas na Unidade de Germoplasma do Programa de Melhoramento Genético de Cana-de-açúcar da Universidade Federal de Viçosa (UFV), no município de Viçosa (20° 45'S, 42° 52' W; altitude = 650 m), Estado de Minas Gerais, Brasil. Para as experiências aqui relatadas, a propagação vegetativa por toletes foi utilizada para produzir plantas hospedeiras.

Insetos de *M. fimbriolata* foram criados em massa em casa de vegetação, seguindo a metodologia descrita por Garcia et al. (2007), utilizando plantas de SP81-3250 como fonte de alimentação. O experimento foi conduzido em casa de vegetação com temperatura de  $26 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $70\% \pm 10\%$  e fotoperíodo de 12:12 (Dia:Noite).

### 2.2 Desenvolvimento da técnica de screening

Realizou-se a coleta dos genótipos de cana-de-açúcar na Unidade de Germoplasmas os quais foram seccionadas em toletes de 5cm contendo uma gema lateral e germinados em bandejas de plástico de 36cm x 50cm com substrato agrícola (Plantmax ® Agro). Após 30 dias, realizou-se o transplante das mudas de cana-de-açúcar para as unidades de crescimento. Cada unidade de crescimento consiste em uma conexão de tubo de PVC (5,3 cm de diâmetro, 6,3 cm de comprimento), que como descrito por Cardona et al. (1999), são aberta em ambas as extremidades, preenchidas com uma mistura de 50% substrato agrícola, 50% solo, adubada conforme recomendado para a cultura da cana-de-açúcar (CFSEMG, 1999). Após o transplante, todas as unidades de crescimento são acondicionadas em placas de crescimento de 28 células preenchidas com vermiculita, a fim de proporcionar um ambiente escuro e úmido na base do recipiente, que induzirá o enraizamento abundante das planta de cana-de-açúcar. Após 45 dias, as unidades de crescimento estarão bem estabelecidas e com abundantes raízes disponíveis para a alimentação das ninfas e adultos de cigarrinha.

Para o acondicionamento das ninfas as unidades de crescimento são cobertas com uma tampa, conexão redutora, em PVC (4,9 cm de diâmetro, 5,5 cm de comprimento), a qual apresenta uma abertura central de 1,9 cm por onde a haste da planta de cana-de-açúcar e colocada (Figura 1).



Figura 1: Genótipos na unidade de crescimento preparados para avaliação de danos causados por ninfas.

Para o acondicionamento dos adultos, gaiolas de acetato foram perfuradas com aproximadamente 200 furos de 1mm tendo as dimensões de 5,3cm de diâmetro por 50 cm da altura, afixadas na base e envoltas por elásticos, sendo vedadas na extremidade superior com anéis de pvc de 5,3 cm de diâmetro e fechadas com tampas de plástico transparente (Figura 2).



Figura 2: Genótipos na unidade de crescimento preparados para avaliação de danos causados por adultos.

### 2.3 Níveis de infestação

Para determinar os níveis ótimos de infestação com ninfas e adultos para essa técnica de Screening, utilizou-se plantas de cana-de-açúcar com 45 dias de idade. O genótipo *Erianthus arundinaceus* H.Kawandang (controle resistente) e o *Saccharum* spp SP81-3250 (controle suscetível) foram utilizados para aplicar os tratamentos que consistiam de diferentes níveis de infestação para ninfas e adultos, sendo eles: 0, 2, 4, 6, 8 e 10 ninfas e 0, 4, 6 e 8 adultos por planta respectivamente em experimentos separados. Utilizou-se 6 repetições por tratamento conduzidos em blocos casualizados no tempo em esquema fatorial, onde para ninfas foram 6 níveis de insetos e 2 genótipos (6x2) e para adultos foram 4 níveis de insetos e 2 genótipos (4x2). Utilizou-se controles não infestados com ninfas e adultos para efeito de comparação.

Ninfas recém eclodidas e adultos tenerais foram colocadas manualmente com o auxílio de pincel de pelo fino e avaliados periodicamente de 3 em 3 dias após a inoculação sendo classificadas pela escala visual de danos causados pela alimentação das ninfas nas raízes e dos adultos nas folhas. A escala visual varia de 1 a 5 (1 = sem dano, 2 = 25% de área foliar afetada, 3 = 50%, 4 = 75%; 5 = toda a área foliar afetada e seca) (Figura 3).

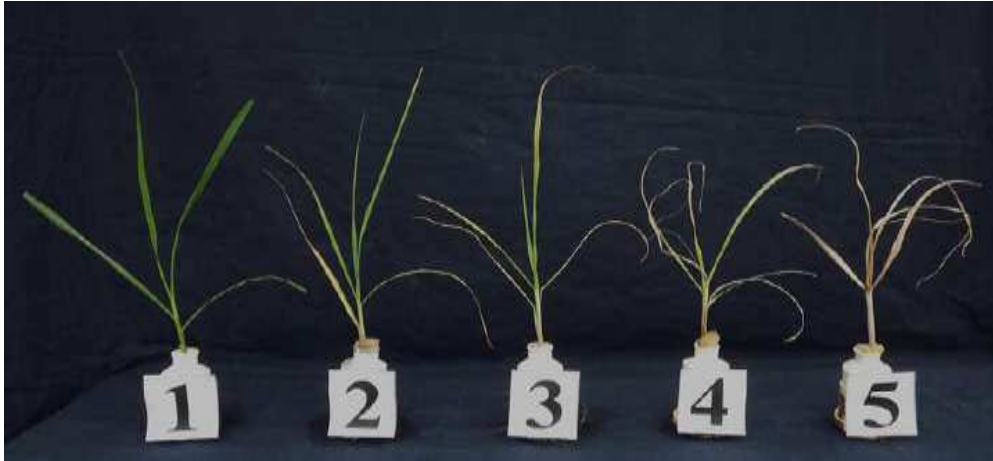


Figura 3: Escala de dano visual onde, 1 = sem dano, 2 = 25% de área foliar afetada, 3 = 50%, 4 = 75%; 5 = toda a área foliar afetada e seca. (Pabon, 2012)

No período da avaliação, a cada 3 dias, os insetos eram contados e quando necessário, insetos de uma criação de mesma idade da usada na implantação do experimento eram repostos nas unidades de crescimento a fim de manter o nível de infestação proposto em cada tratamento. Ao final do experimento foram contabilizados o total de insetos repostos e a partir desse dado considerou-se a sobrevivência dos insetos. Também quantificou-se a matéria seca e fresca das plantas ao final do experimento. Para quantificar a matéria seca, as plantas foram cortadas rente ao solo e submetidas a estufa 60°C até atingir peso constante.

Os dados foram submetidos a análise de variância considerando um nível de significância de 5% pelo teste F. Quando significativo, foi feito o teste de agrupamento de médias Scott-Knott a 5% de significância. Para a análise estatística utilizou-se o programa computacional GENES 2013 (Cruz, 2013)

### **3- Resultados e discussão**

A evolução do dano visual em função do período de observação para as ninfas e adultos serão apresentados separadamente.

### 3.1 Ninfas

Observando-se o quadro de médias (Tabela 1), verificou-se que o genótipo H.Kawandang não apresentou nota de dano visual superior a 3 em nenhum dos níveis de infestação de ninfa ao qual foi submetido, Cardona (1999) define que genótipos com nota inferior a 3 são considerados resistentes, Pabón (2012) em seu estudo constatou que este genótipo apresentava resistência quando submetido a infestação com 6 ovos de *Mahanarva fimbriolata* em estágio de desenvolvimento S4, os resultados são similares aos apresentados neste experimento, dessa forma o genótipo teve sua resistência validada. Já o clone SP 81-3250 apresentou média de dano visual superior a 3 em diferentes momentos da avaliação sendo classificado como suscetível. Confirmada por Pabón (2012).

Tabela 1: Média do dano visual nos genótipo SP81-3250 e H.Kawandang, referente à infestação por ninfas da Mahanarva fimbriolata, avaliados a cada 3 dias.

Genótipo	Período	2 ninfas		4 ninfas		6 ninfas		8 ninfas		10 ninfas	
		Dano	DP	Dano	DP	Dano	DP	Dano	DP	Dano	DP
SP81 3250	3 dias	1.00	± 0.00	1.00	± 0.00	1.00	± 0.00	1.25	± 0.42	1.00	± 0.00
	6 dias	1.67	± 0.41	1.83	± 0.41	1.67	± 0.41	1.67	± 0.61	1.83	± 0.41
	9 dias	2.42	± 0.38	2.50	± 0.55	2.42	± 0.49	2.17	± 0.41	2.50	± 0.00
	12 dias	2.58	± 0.38	2.50	± 0.55	2.83	± 0.41	2.67	± 0.26	2.67	± 0.26
	15 dias	2.67	± 0.26	2.83	± 0.61	2.92	± 0.38	2.83	± 0.41	2.83	± 0.41
	18 dias	2.67	± 0.26	3.00	± 0.77	3.25	± 0.42	3.00	± 0.45	2.92	± 0.38
	21 dias	2.67	± 0.26	3.33	± 0.61	3.42	± 0.58	3.25	± 0.42	3.50	± 0.32
	24 dias	2.75	± 0.27	3.50	± 0.84	4.08	± 0.38	3.58	± 0.49	3.75	± 0.42
	27 dias	3.00	± 0.32	3.75	± 0.69	4.08	± 0.58	4.08	± 0.38	4.17	± 0.52
	30 dias	3.17	± 0.26	4.00	± 0.55	4.33	± 0.52	4.08	± 0.38	4.25	± 0.61
	33 dias	3.17	± 0.26	4.00	± 0.55	4.33	± 0.52	4.25	± 0.42	4.17	± 0.52
H.Kawandang	3 dias	1.00	± 0.00	1.00	± 0.00	1.00	± 0.00	1.00	± 0.00	1.00	± 0.00
	6 dias	1.00	± 0.00	1.00	± 0.00	1.00	± 0.00	1.00	± 0.00	1.17	± 0.41
	9 dias	1.25	± 0.27	1.25	± 0.27	1.42	± 0.20	1.50	± 0.00	1.67	± 0.52
	12 dias	1.67	± 0.26	1.58	± 0.20	1.67	± 0.41	1.67	± 0.26	2.00	± 0.45
	15 dias	1.67	± 0.26	2.17	± 0.41	2.25	± 0.27	2.08	± 0.20	2.00	± 0.32
	18 dias	1.67	± 0.26	2.17	± 0.41	2.42	± 0.20	2.08	± 0.20	2.25	± 0.27
	21 dias	1.67	± 0.26	2.17	± 0.41	2.50	± 0.63	2.33	± 0.41	2.58	± 0.38
	24 dias	1.75	± 0.42	2.17	± 0.41	1.83	± 0.52	2.17	± 0.41	2.33	± 0.26
	27 dias	1.83	± 0.41	1.83	± 0.26	2.33	± 0.41	2.17	± 0.41	2.42	± 0.38
	30 dias	1.83	± 0.41	1.92	± 0.20	2.42	± 0.58	2.33	± 0.52	2.42	± 0.38
	33 dias	1.92	± 0.38	2.00	± 0.32	2.67	± 0.41	2.50	± 0.45	2.50	± 0.45

Para definir qual melhor nível de infestação, uma análise de variância foi feita apenas para o genótipo suscetível considerando-se 5 tratamentos (níveis de infestação) e 6 blocos. Cada diferente período de avaliação como uma variável, até o 18 dia, não se verificou diferença significativa entre os tratamentos, contudo no 21º dia de observação de dano visual houve diferença entre os tratamentos ( $P < 0,05$ ) que se manteve até o final das avaliações, assim as médias foram submetidas a um teste de agrupamento de médias por Scott-Knott a 5%, (Tabela 2).

Tabela 2: Agrupamento de médias do dano visual por Scott-Knott no genótipo SP81-3250, referente a cada nível de infestação de ninfas da Mahanarva fimbriolata, no período de avaliações em dias.

	21 dias	24 dias	27 dias	30 dias	33 dias
2 ninfas	2.67 b	2.75 b	3.00 b	3.17 b	3.17 b
4 ninfas	3.33 a	3.50 a	3.75 a	4.00 a	4.00 a
6 ninfas	3.42 a	4.08 a	4.08 a	4.33 a	4.33 a
8 ninfas	3.25 a	3.58 a	4.08 a	4.08 a	4.25 a
10 ninfas	3.50 a	3.75 a	4.17 a	4.25 a	4.17 a

Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott a 5% de significância.

Como o nível de infestação de 4 ninfas foi suficiente para discriminar o genótipo suscetível, um modelo de regressão de 2º grau foi ajustado aos dados para definir qual o momento em que o genótipo atinge a nota de dano visual igual a 3. A partir do modelo, verifica-se que a nota 3 foi alcançada em 16,6 após infestação. (Figura 4).

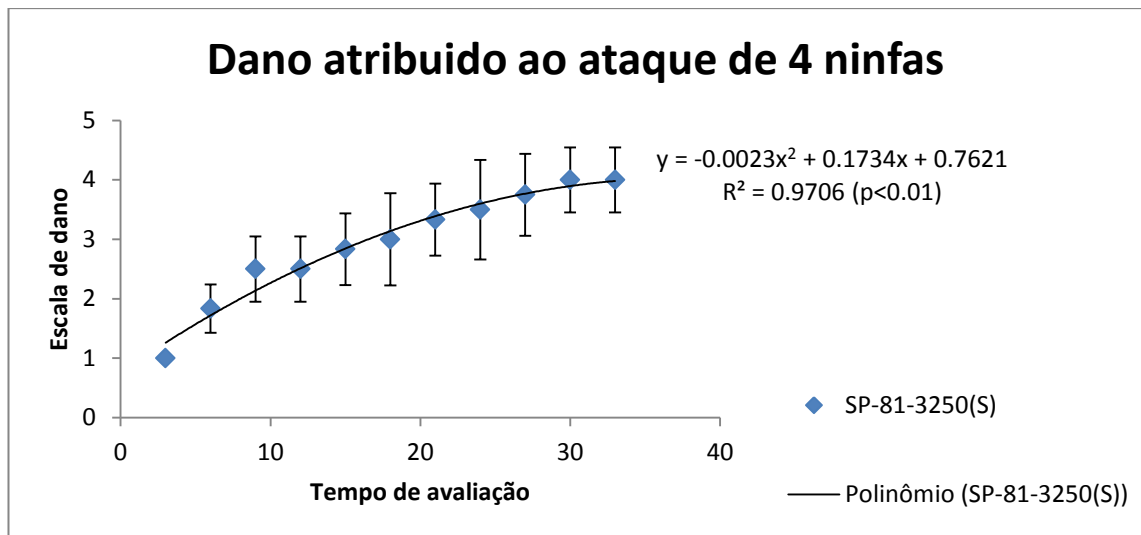


Figura 4: Descrição do modelo de regressão de segundo grau que melhor ajusta o dano causado por 4 ninfas de *M. fimbriolata* em função do tempo de avaliação.

### 3.2 Adultos

Observando-se o quadro de médias (Tabela 3), verificou-se que o genótipo H.Kawandang não apresentou nota de dano visual superior a 3 em nenhum dos níveis de infestação de adulto ao qual foi submetido, Cardona (1999) define que genótipos com nota inferior a 3 são considerados resistentes, Pabón (2012) em seu estudo constatou que este genótipo apresentava resistência quando submetido a infestação com 6 ovos de *Mahanarva fimbriolata* em estágio de desenvolvimento S4, ao se avaliar a resistência a ninfas na primeira etapa, houve a confirmação, na segunda etapa, a avaliação do dano causado pelo adulto da praga demonstrou o mesmo padrão de resistência para os dois genótipos, tanto para a ninfa quanto para o adulto, considerando a escala de dano visual proposta por Cardona (1999).

Tabela 3: Média do dano visual nos genótipo SP81-3250 e H.Kawandang, referente à infestação por Adultos da Mahanarva fimbriolata, avaliados a cada 3 dias.

Genótipo	Período	4 adultos		6 adultos		8 adultos	
		Dano	DP	Dano	DP	Dano	DP
SP81 3250	3 dias	1.17 ± 0.26		1.75 ± 0.27		1.75 ± 0.38	
	6 dias	1.25 ± 0.27		2.00 ± 0.27		2.17 ± 0.55	
	9 dias	1.75 ± 0.42		2.25 ± 0.42		2.17 ± 0.49	
	12 dias	1.92 ± 0.20		2.42 ± 0.20		2.58 ± 0.32	
	15 dias	2.67 ± 0.26		3.08 ± 0.27		3.17 ± 0.27	
	18 dias	2.67 ± 0.26		3.50 ± 0.41		3.58 ± 0.41	
	21 dias	2.92 ± 0.38		4.42 ± 0.94		4.58 ± 0.98	
H.Kawandang	3 dias	1.17 ± 0.26		1.25 ± 0.27		1.33 ± 0.26	
	6 dias	1.25 ± 0.27		1.25 ± 0.27		1.33 ± 0.26	
	9 dias	1.58 ± 0.38		1.58 ± 0.38		1.67 ± 0.41	
	12 dias	1.75 ± 0.27		1.75 ± 0.27		1.75 ± 0.27	
	15 dias	2.00 ± 0.00		2.00 ± 0.00		2.08 ± 0.20	
	18 dias	2.08 ± 0.20		2.00 ± 0.00		2.08 ± 0.20	
	21 dias	2.17 ± 0.26		2.17 ± 0.26		2.33 ± 0.41	

Conforme feito para ninfas, a análise de variância para o genótipo suscetível foi feita para definir qual melhor nível de infestação considerando-se 3 tratamentos (níveis de infestação) e 6 blocos. Cada diferente período de avaliação como uma variável, já no primeiro período de infestação, três dias, verificou-se diferença significativa entre os tratamentos, ( $P < 0,05$ ) assim as médias de dano visual foram submetidas ao teste de agrupamento Scott-Knott a 5% (Tabela 4).

Tabela 4: Agrupamento de médias do dano visual por Scott-Knott no genótipo SP81-3250, referente a cada nível de infestação de Adulto da Mahanarva fimbriolata, no período de avaliações em dias.

	3 dias	6 dias	9 dias	12 dias	15 dias	18 dias	21 dias
4 Adultos	1.16 b	1.25 b	1.75 a	1.91 b	2.66 a	2.66 b	2.91 b
6 Adultos	1.75 a	2.00 a	2.25 a	2.41 a	3.08 a	3.5 a	4.41 a
8 Adultos	1.75 a	2.16 a	2.16 a	2.58 a	3.16 a	3.58 a	4.58 a

Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott a 5% de significância.

Como o nível de infestação de 6 adultos foi suficiente para discriminar a suscetibilidade no genótipo, um modelo de regressão de 2° grau foi ajustado aos dados para definir qual o momento em que o genótipo atinge a nota de dano visual igual a 3. A partir do modelo, verifica-se que a nota 3 foi alcançada em 14,9 dias pós infestação. (Figura 5).

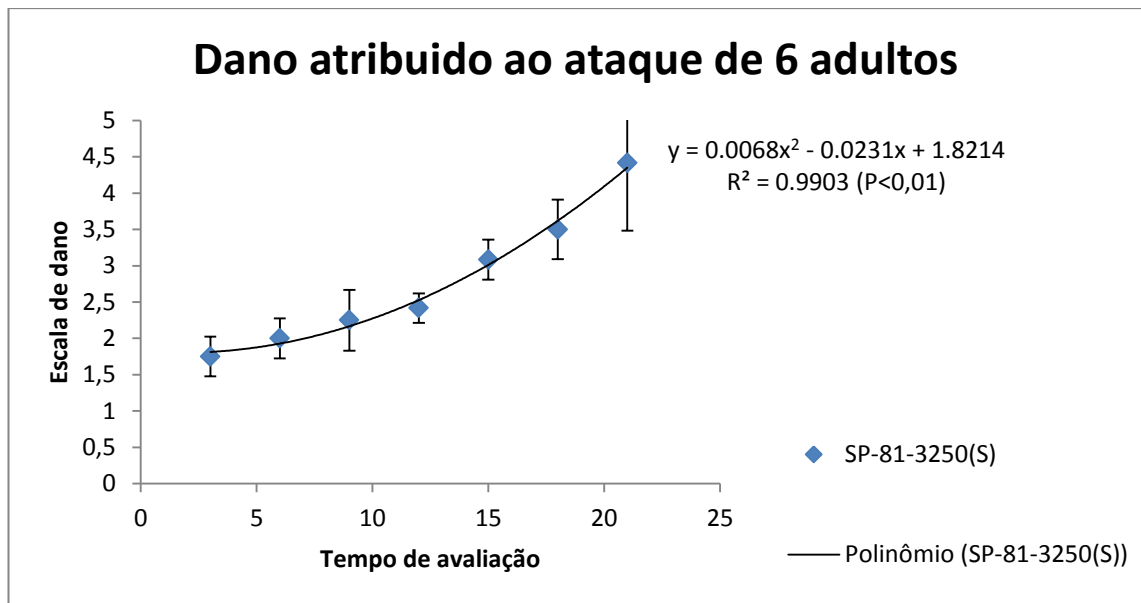


Figura 5: Descrição do modelo de regressão de segundo grau que melhor ajusta o dano causado por 6 adultos de *M. fimbriolata* em função do tempo de avaliação.

Segundo Dinardo-Miranda et al. (2014), ao nível de infestação de seis ninfas por planta, foi possível avaliar as respostas dos genótipos de cana-de-açúcar para *M. fimbriolata*, nas quais, causaram uma redução significativa em relação ao teor de clorofila e peso de biomassa na parte aérea. Diferentes níveis de infestação para adultos de várias espécies de cigarrinhas foram observados por muitos pesquisadores e vários gêneros de plantas cultivadas (Resende et al. 2012, López et al. 2009), com poucos estudos com genótipos de cana-de-açúcar. No entanto, Cardona et al. (1999), avaliou o desenvolvimento de adultos de *Aneolamia varia* em *Brachiaria* spp., demonstrou que a relação entre níveis de infestação de adultos e danos visuais de 3,1 e 3,5 são obtidos com níveis de infestação de 4,9 e 6,6 adultos por planta, respectivamente.

O dano provocado pelo adulto foi verificado em espaço de tempo inferior ao da ninfa, enquanto que para as ninfas em níveis de 4 insetos a nota 3 foi atingida aos 16,6 dias, para plantas infestadas com adultos a mesma nota foi atingida aos 14,9 dias. Fato que pode ser explicado devido os adultos injetarem uma toxina no ato de sua alimentação, que podem interferir na atividade fotossintética das plantas (Byers e Wells, 1966).

Verificamos que em ambos os genótipos a sobrevivência das ninfas foram baixas (Tabela 5). Em um estudo prévio com gramíneas forrageiras, cultivares permitindo sobrevivência de ninfa maior do que 50% foram considerados suscetíveis, enquanto que

aqueles com menos de 30% de sobrevivência resistente. As taxas de sobrevivência 31-50% foram considerados intermediário (Cardona et al, 1999). Se aplicarmos tal critérios para os nossos dados, não seria possível detectar qualquer cultivar resistente, já que todas as médias relacionadas a sobrevivência foram inferiores a 30%, o que indica que ambos genótipos teriam efeito de antibiose em relação ao inseto. No caso deste experimento, acredita-se que o efeito de competição entre os insetos teve grande influência na baixa sobrevivência dos mesmos devido ao restrito espaço para acomodação deles. Pabón (2012), avaliando 97 clones de cana-de-açúcar, fez uso do mesmo recipiente e detectou diferentes categorias de resistência entre os genótipos observando taxas de sobrevivência alta entre as ninfas, mas ele não repôs os insetos mortos, contudo o volume das unidades de crescimento no experimento foi menor que relatado por vários pesquisadores e para diferentes gêneros de plantas cultivadas com ataque de cigarrinhas (Dinardo-Miranda et al. 2014, Resende et al. 2012, Garcia et al. 2011, Auad et al. 2007, Garcia et al. 2006). Segundo Garcia et al. (2007), descreve a criação de *M. fimbriolata* utilizando mudas de cana (SP 80-1842) plantadas em recipientes de 200 ml para serem utilizados pelos adultos e 500 ml para o desenvolvimento das ninfas e a uma taxa de dez ninfas por planta, substituídas a cada 20 dias ou quando mostraram danos sintomáticos (amarelecimento e/ou a morte das plantas). Denota-se, que o volume das unidades de crescimento foi menor, proporcionando dano mais intenso nas plantas (depleção de recursos alimentares disponíveis), morte das raízes por oclusão dos vasos do xilema (Garcia et al. 2007) ao nível relativamente elevado de infestação utilizada nestes testes, observando uma baixa sobrevivência das ninfas.

A sobrevivência dos adultos de *M. fimbriolata* está atribuída às condições de desenvolvimento das plantas nas unidades de crescimento, como mencionado acima para as ninfas. Resende et al. (2012), avaliou o impacto dos adultos de *M. spetabilis* sobre *B. ruziense* em campo, sem condições de limitações físicas do solo, que garantiu maior exploração do solo pelas raízes e demonstrou que, as plantas toleraram melhor o ataque dos adultos em campo do que em laboratório, apresentando danos visuais menores do que informados por Cardona et al. (1999). Como este estudo foi realizado em laboratório, pode-se inferir que esta diferença está relacionada com as condições de desenvolvimento radicular das plantas, devido ao menor volume de solo disponível reduzindo o volume radicular, com consequente depleção de água e

nutrientes, aumentando a competição e proporcionando uma menor sobrevivência dos adultos de *M. fimbriolata*.

Similarmente a ninfa, verificou-se menor sobrevivência dos adultos quando estes foram submetidas ao genótipo resistente, caracterizando a antibiose do mesmo em relação à *M. fimbriolata*. Dessa forma, o critério de avaliação do dano visual juntamente com a porcentagem de sobrevivência, demonstra que a metodologia será eficaz para discriminar respostas nos diferentes genótipos.

Tabela 5: Média da porcentagem de sobrevivência de ninfa e adulto da *Mahanarva fimbriolata* nos diferentes níveis de infestação em ambos os genótipos testados.

Nível infestação		SP 81 3250		H Kawandang		F
2	ninfas	27.02	± 7.42	24.55	± 5.66	0.92 ns
4	ninfas	25.04	± 9.63	15.81	± 1.52	12.89 *
6	ninfas	23.13	± 1.26	14.71	± 1.17	10.71 *
8	ninfas	21.62	± 1.60	14.21	± 0.95	8.27 *
10	ninfas	21.82	± 1.53	14.32	± 0.82	8.49 *
Média genótipo		23.73	± 3.94	16.72	± 2.04	37.08*

Nível infestação		SP 81 3250		H Kawandang		F
4	adultos	27.66	± 3.68	18.4	± 1.35	41.67 *
6	adultos	28.34	± 3.00	17.34	± 0.83	59.23 *
8	adultos	28.46	± 2.86	18.81	± 1.71	45.32 *
Média genótipo		28.15	± 3.18	18.18	± 1.30	145.38 *

\* significativos a 5% de probabilidade; respectivamente; pelo teste F, ns não-significativo; pelo teste F

Após a verificação da matéria fresca (MF) (Tabela 6), observa-se que a medida que aumenta o nível de infestação dos insetos, a matéria fresca diminui apenas no genótipo suscetível, enquanto no genótipo resistente há um pequeno aumento da mesma. Já para matéria seca (MS) (Tabela 7) nenhuma conclusão pode ser tomada em relação ao ataque dos insetos nas plantas. A fim de verificar o efeito do ataque da planta pelos insetos e sua resposta fisiológica uma relação entre matéria fresca e seca foi testada da seguinte forma dividindo-se a (MS)/(MF) (Tabela 8). Esta relação demonstra que, quando não infestados, ambos genótipos não apresentam diferença significativa entre os índices que variam de 60,33% e 62, 33%, indicando uma que a atividade fotossintética de ambos é similar, contudo, a medida que aumenta a infestação com o

inseto, o índice vai aumentando para o genótipo suscetível e reduzindo para o resistente, como não houve diferença significativa para matéria seca, o fato passa a ser explicado pelo redução na matéria fresca do genótipo suscetível.

Tabela 6 : Média da matéria fresca em ambos os genótipos testados, quando infestados por diferentes níveis de ninfa e adulto da Mahanarva fimbriolata.

Nível infestação		SP 81 3250		H Kawandang		F
0	ninfas	16.66	± 2.61	14.00	± 1.08	4.02 *
2	ninfas	14.56	± 1.70	15.99	± 2.35	1.15 ns
4	ninfas	14.57	± 2.55	14.91	± 2.34	0.06 ns
6	ninfas	12.76	± 2.34	15.02	± 1.86	2.89 ns
8	ninfas	13.07	± 2.61	15.68	± 1.96	3.87 ns
10	ninfas	13.57	± 3.36	16.97	± 2.57	6.56 *
Média genótipo		14.20	± 2.53	15.43	± 2.03	5.14 *

Nível infestação		SP 81 3250		H Kawandang		F
0	adultos	13.83	± 1.77	18.65	± 2.34	7.31 *
4	adultos	13.44	± 3.21	21.32	± 3.66	19.52 *
6	adultos	11.27	± 2.88	16.82	± 4.80	9.67 *
8	adultos	12.76	± 3.03	14.73	± 3.59	1.22 ns
Média genótipo		12.82	± 2.72	17.88	± 3.60	32.15 *

\* significativos a 5% de probabilidade; respectivamente; pelo teste F, ns não-significativo; pelo teste F

Tabela 7: Média da matéria seca em ambos os genótipos testados, quando infestados por diferentes níveis de ninfa e adulto da Mahanarva fimbriolata.

Nível infestação		SP 81 3250		H Kawandang		F
0	ninfas	9.93	± 0.68	8.63	± 0.29	13.00 *
2	ninfas	9.23	± 0.92	8.94	± 0.45	0.63 ns
4	ninfas	9.13	± 0.56	8.73	± 0.76	1.23 ns
6	ninfas	8.41	± 0.57	8.92	± 0.39	1.96 ns
8	ninfas	8.92	± 0.72	8.87	± 0.55	0.01 ns
10	ninfas	8.83	± 0.70	9.22	± 0.64	1.20 ns
Média genótipo		9.07	± 0.69	8.89	± 0.51	1.63 ns

Nível infestação		SP 81 3250		H Kawandang		F
0	adultos	8.34	± 1.77	11.66	± 1.82	20.75 *
4	adultos	8.87	± 0.66	9.68	± 0.60	1.25 ns
6	adultos	8.34	± 0.76	7.30	± 2.28	2.02 ns
8	adultos	8.87	± 0.82	7.12	± 1.05	5.83 *
Média genótipo		8.60	± 1.00	8.94	± 1.44	0.84 ns

\* significativos a 5% de probabilidade; respectivamente; pelo teste F, ns não-significativo; pelo teste F

Tabela 8 : Média em porcentagem da razão entre matéria seca e matéria fresca em ambos os genótipos testados, quando infestados por diferentes níveis de ninfa e adulto da *Mahanarva fimbriolata*.

Nível infestação		SP 81 3250	H Kawandang	F
0	ninfas	60.33 ± 6.19	61.85 ± 3.05	0.11 ns
2	ninfas	63.64 ± 4.55	56.61 ± 5.75	2.54 ns
4	ninfas	64.17 ± 10.68	59.18 ± 4.66	1.28 ns
6	ninfas	67.30 ± 9.61	59.90 ± 5.41	2.82 ns
8	ninfas	69.88 ± 10.95	56.99 ± 3.97	8.56 *
10	ninfas	68.10 ± 15.51	54.98 ± 5.15	8.88 *
Média genótipo		65.57 ± 9.58	58.25 ± 4.67	16.54 *

Nível infestação		SP 81 3250	H Kawandang	F
0	adultos	59.83 ± 5.67	62.33 ± 3.33	0.23 ns
4	adultos	68.36 ± 12.10	46.50 ± 8.26	18.03 *
6	adultos	76.31 ± 11.30	43.77 ± 6.24	39.97 *
8	adultos	71.51 ± 10.26	49.44 ± 6.38	18.39 *
Média genótipo		69.00 ± 9.83	50.51 ± 6.05	51.63 *

\* significativos a 5% de probabilidade; respectivamente; pelo teste F, ns não-significativo; pelo teste F

A desordem metabólica, representada pela diferença na razão (MS)/(MF) é decorrente das picadas que atingem os elementos traqueais da raiz e os deterioram, dificultando ou impedindo o fluxo de água e de nutrientes, caracterizado pela desidratação do floema e do xilema (Garcia et al., 2007). Guimarães et al. (2007) verificou que em altos níveis de infestação da praga, os sintomas nas plantas são muito semelhantes à restrição hídrica. Pabón (2012), Dinardo-Miranda et al. (2014) verificaram que menor perda de matéria seca dos genótipos resistentes em relação aos suscetíveis, logo mantiveram um metabolismo mais constante. Dessa forma verifica-se que o genótipo resistente teve seu metabolismo menos influenciado pelo ataque do inseto que o genótipo suscetível.

#### 4- Conclusões:

- A metodologia proposta é capaz de discriminar os genótipos resistentes e suscetíveis.
- Houve discriminação de genótipo suscetível a ninfa da *M. fimbriolata* para infestações superiores a 4 insetos por planta a partir de 16,6 dias após o contato da planta com a praga.
- Houve discriminação de genótipo suscetível a adulto da *M. fimbriolata* para infestações superiores a 6 insetos por planta a partir de 14,9 dias após o contato da planta com a praga.
- Em ambos os estádios de desenvolvimento do inseto a sobrevivência foi baixa tanto para genótipo suscetível como para o resistente.

#### 5- Bibliografia:

AKBAR, W.; SHOWLER, A.; REAGAN, T.; WHITE, W. Categorizing sugarcane cultivar resistance to the sugarcane aphid and yellow sugarcane aphid (Hemiptera: Aphididae). **Journal of economic entomology**, v.103 (4), p.1431-1437, 2010.

ALLSOPP, P.G.; MCGILL, N.G.; STRINGER, J.K. 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, 2000.

ANJOS, I.; DINARDO-MIRANDA, L.; GARCIA, J.; BRAZ, A.; TAVARES, C.; GEROMEL, R.; FERREIRA, S.; SOUZA, V.; DUARTE, J. Spatial distribution of sugarcane spittlebug, *Mahanarva fimbriolata*, in sugarcane fields. **International society of sugarcane technologists congress**, v.27, p. 1–7, 2010.

AUAD, A.M.; SIMÕES, A.D.; PEREIRA, A. V. “Seleção de genótipos de capim-elefante quanto à resistência à cigarrinha-das-pastagens,” **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, vol.42, no.8, pp. 1077–1081, 2007.

BARBOSA, M.H.P.; SILVEIRA, L.C.; MACÊDO, G.A.; PAES, J.M. Variedades melhoradas de cana-de-açúcar para Minas Gerais. **Informe agropecuário**, v. 28 (239), p.20-24, 2007.

BARBOSA, M.H.P.; SILVEIRA, L.C.I. 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, 2012.

BERDING, N.; HOGARTH, M.; COX, M. Plant improvement of sugarcane. In: JAMES, G. (Ed.). **Sugarcane** (2nd ed.). Blackwell Science, Oxford-UK, p.20–53, 2004.

BYERS, R. A. and WELLS, H. D. "Phytotoxemia of coastal bermuda grass caused by the two spittlebug, *Prosapia bicincta* (Homoptera, Cercopidae)," **Annals of the Entomological Society of America**, vol. 59, no. 6, pp. 1067–1071, 1966.

CARDONA, C.; MILES, J.W.; SOTELO, G. An improved methodology for massive screening of *Brachiaria* spp. genotypes for resistance to *Aeneolamia varia* (Homoptera: Cercopidae). **Journal of economic entomology**, v.92, p.490-496, 1999.

CHEAVEGATTI-GIANOTTO, A.; ABREU, H.; ARRUDA, P.; FILHO, J.; BURNQUIST, W.; CRESTE, S.; CIERO, L.; FERRO, J.; FIGUEIRA, A., FILGUEIRAS, T.; GROSSI-DE-SÁ, M.; GUZZO, E.; HOFFMANN, H.; LANDELL, M.; MACEDO, N.; MATSUOKA, S.; REINACH, F.; ROMANO, E.; SILVA, W.; FILHO, M.; ULIAN, E. Sugarcane (*Saccharum X officinarum*): a reference study for theregulation of genetically modified cultivars in Brazil. **Tropical plant biology**, v.4, p.62– 89, 2011.

COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO DO ESTADO DE MINAS GERAIS – CFSEMG. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais – 5ª aproximação**. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa, 1999. 359 p.

CONAB. Acompanhamento da Safra Brasileira de Cana-de-Açúcar, Segundo Levantamento, ago. 2014. **Companhia Nacional de Abastecimento. Conab**, Brasília, 2014.

CRUZ, C.D. GENES - A software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**. v.35, n.3, p.271-276, 2013

DINARDO-MIRANDA, L.L.; FIGUEIREDO, P.; LANDELL, M.G.A.; FERREIRA, J.M.G.; CARVALHO, P.A.M. Danos causados pelas cigarrinhas-das-raízes (*Mahanarva fimbriolata*) a diversos genótipos de cana-de-açúcar. **Stab**, v.17, p.48-52, 1999.

DINARDO-MIRANDA, L.L., J.M.G. FERREIRA & P.A.M. CARVALHO. Influência da cigarrinha-das-raízes, *Mahanarva fimbriolata*, sobre a qualidade tecnológica da cana-de-açúcar. **Stab** 19: 34-5. 2000.

DINARDO-MIRANDA, L.L.; FERREIRA, J.; CARVALHO, P. Influência da época de colheita e do genótipo de cana-de-açúcar sobre a infestação de *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae). **Neotropical entomology**, v.30 (1), p.145-149, 2001.

DINARDO-MIRANDA, L.L.; VASCONCELOS, A.C.M.; VIEIRA, S.R.; FRACASSO, J.V; GREGO, C.R. Uso da geoestatística na avaliação da distribuição espacial de *Mahanarva fimbriolata* em cana-de-açúcar. **Bragantia**, v.66, p.449–455, 2007.

DINARDO-MIRANDA, L.L. Pragas. In: DINARDO MIRANDA, L.L. ;VASCONCELOS, A. C. M.; LANDELL, M.G.A. (Eds.). **Cana-de-Açúcar**. IAC, São Paulo, p. 349 – 404. 2008.

DINARDO-MIRANDA, L.L.; COSTA, V.P.; FRACASSO, J.V.; PERECIN, D.; OLIVEIRA, M.C.; IZEPPi, T.S.; LOPES, D.O.P., Resistance of Sugarcane Cultivars to *Mahanarva fimbriolata* (Stål) (Hemiptera: Cercopidae) **Neotrop Entomol** 43:90–95 DOI 10.1007/s13744-013-0182-9. 2014

- FEWKES, D.W. The control of froghoppers in sugarcane plantations. In: WILLIAMS, J.R.; METCALFE, J.R.; MUNGOMERY, R.W.; MATHES, R. (Eds.). **Pests of sugarcane**. Elsevier Publishing, Amsterdam, p.309-324, 1969.
- GARCIA, J.F.; BOTELHO, P.S.M.; PARRA, J.R.P. Biology and fertility life table of Mahanarva fimbriolata (Hemiptera: Cercopidae) in sugarcane. **Scientia agricola**, v.63, p.317-320, 2006.
- GARCIA, J.F.; BOTELHO, P.S.M.; PARRA, J.R.P. Laboratory rearing technique of Mahanarva fimbriolata (Stål) (Hemiptera: Cercopidae). **Scientia agrícola**, v.64, p.73-76, 2007.
- GARCIA, J.F.; PRADO, S.; VENDRAMIM, J.; BOTELHO, P. Effect of sugarcane varieties on the development of Mahanarva fimbriolata (Hemiptera: Cercopidae). **Revista colombiana de entomología**, v.37 (1), p.16-20, 2011.
- GOMEZ, L.A.; LASTRA, L.A. Insectos asociados con la caña de azúcar en Colombia. In: DAVILA, C.; AGUAS, J.; ECHEVERRI, C. (Eds.). **El cultivo de la caña en la zona azucarera de Colombia**. Cenicaña, Cali, p.237-263, 1995.
- GUIMARÃES, E.R.; MUTTON, M.A.; FERRO, M.; SILVA, J.; MUTTON, M.; KALAKI, D.; MADALENO, L. Evidence of sugarcane resistance against Mahanarva fimbriolata (Hemiptera: Cercopidae). **International society of sugarcane technologists congress**, v. 26, p. 901–910, 2007.
- LESLIE, G. Pest of Sugarcane. In: JAMES, G. (Ed.). **Sugarcane** (2nd ed.). Blackwell Science, Oxford-UK, p.78–100, 2004.
- LÓPEZ, F.; CARDONA, C.; MILES, J. W.; SOTELO, G. AND MONTOYA, J. “Screening for resistance to adult spittlebugs (Hemiptera: Cercopidae) in Brachiaria spp.: methods and categories of resistance,” **Journal of Economic Entomology**, vol. 102, no. 3, pp. 1309–1316, 2009.
- MATSUOKA, S.; GARCIA, A.; ARIZONO, H. Melhoramento da cana-de-açúcar. In: BORÉM, A.(Ed.). **Melhoramento de espécies cultivadas**. Editora UFV, Viçosa-MG, p. 225-274, 2005.
- MATSUOKA, S.; FERRO, J.; ARRUDA, P. The brazilian experience of sugarcane ethanol industry. **In Vitro Cell Development Biology**, v. 45, p.372–381, 2009.
- MARCONI, T.; COSTA, E.; MIRANDA, H.; MANCINI, M.; SILVA, C.; OLIVEIRA, K.; PINTO, L.; MOLLINARI, M.; GARCIA, A.; SOUZA, A. Functional markers for gene mapping and genetic diversity studies in sugarcane. **BMC research notes**, v.4, p.264-268, 2011.
- MENDONÇA, A.F., G.V.S. BARBOSA & E.J. MARQUES. As cigarrinhas da cana-de-açúcar (Hemiptera: Cercopidae) no Brasil, p.171-192. In A.F. Mendonça (ed.), **Pragas da cana-de-açúcar. Insetos & Cia**, Maceió, 239p. 1996.
- PABÓN VALVERDE, A.H. **Screening for resistance and identification of tolerance in sugarcane genotypes to spittlebug Mahanarva fimbriolata**. 2012. 58 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2012.

PANDA, N.; KHUSCH, G. **Host plant resistance to insects**. CAB International, Wallingfor-UK, 1995.

PICKLES, A. Entomological contributions to the study of sugar-cane froghopper. **Tropical agriculture**, v.10, p.286-295, 1933.

PICKLES, A. Discussion of researches on the sugar-cane froghopper (Homoptera: Cercopidae). **Tropical agriculture**, v.19, p.116-123, 1942.

PINTO, A.; GARCIA, J.; OLIVEIRA, H. Manejo das principais pragas da cana-de-açúcar. In: SEGATO, S.; PINTO, A.; JENDIROBA, E.; NOBREGA, J. (Eds.). **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. ESALQ, Piracicab-SP, p. 257-292, 2006.

RESENDE, T.T.; AUAD, A.M.; FONSECA, M.G.; SANTOS, T.H. dos; VIEIRA, T.M. Impact of the spittlebug Mahanarva spectabilis on signal Grass. **The ScientificWorld Journal**, 2012. 6 p.

RICAUD, C.; RYAN, C. Leaf scald. In: RICAUD, C.; RYAN, C.; EGAN, B.T.; GILLASPIE, A.G.; HUGHES, C.G. (Eds.). **Diseases of sugarcane**. Elsevier, Amsterdam, p. 39–53, 1989.

SILVA, R.J.; GUIMARÃES, E.R.; GARCIA, J. F.; BOTELHO, P.S.M.; FERRO, M.I.; MUTTON, M.A.; MUTTON, M.J. Infestation of froghopper nymphs changes the amounts of total phenolics in sugarcane. **Scientia agricola**, v.62 (6), p.543-546, 2005.

SMITH, C.M. **Plant resistance to arthropods: molecular and conventional approaches**. Springer, 2005.

SRIKANTH, J.; SUBRAMONIAN, N.; PREMACHANDRAN, M. Advances in transgenic research for insect resistance in sugarcane. **Tropical plant biology**, v.4, p.52– 61, 2011.

WHITE, W.H.; MILLER, J.D.; MILLIGAN, S.B.; BURNER, D.M.; LEGENDRE, B. L. Inheritance of sugarcane borer resistance in sugarcane derived from two measures of insect damage. **Crop science**, v.41, p.1706–1710, 2001.

ZHOU, M.M.; KIMBENG, C. A.; SILVA J. A.; WHITE, W. H. 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, 2010.

## **Capítulo 2:**

**Resistência de cana-de-açúcar à cigarrinha das raízes  
Mahanarva fimbriolata (Hemiptera: Cercopidae)**

## **Resumo:**

Com a proibição da queimada na colheita da cana-de-açúcar, a cigarrinha das raízes *Mahanarva fimbriolata* passou a ser considerada uma das mais importantes pragas da cultura. Como a principal maneira de controle de pragas e doenças deve ser feita por variedades resistentes, o melhoramento genético deve ser direcionado para a confecção dessas variedades. As categorias de resistência a insetos em plantas são antibiose, antixenose e tolerância. Esse estudo teve como objetivo detectar o principal mecanismo de resistência da cana-de-açúcar contra a cigarrinha das raízes. O material vegetal foi obtido no banco de germoplasma do Programa de Melhoramento Genético de Cana da Universidade Federal de Viçosa (PMGCA/UFV). Foram testados seis genótipos sendo um *Erianthus arundinaceus* H.Kawandang (resistente) e cinco de *Saccharum* spp. RB00-8026 (resistente), RB95-7610, RB86-7515, SP80-3280 e SP81-3250 (suscetíveis). Seis experimentos foram conduzidos em delineamento em blocos casualizados. Para avaliar os mecanismos de resistência, plantas de 60 dias com abundância de raízes foram usadas como locais de alimentação para as ninfas. Já para os adultos, plantas de mesma idade foram disponibilizadas em gaiolas individuais e coletivas. Foram testadas, diversas variáveis tanto em ninfas, adultos, como nos genótipos. Os dados foram submetidos a testes de contraste e F com 5% de significância e quando significativo, as médias foram submetidas aos testes de média mais indicados. Os resultados mostraram que as ninfas preferem não se alimentar no genótipo H.Kawandang, e quando se alimentam deste apresentam menor sobrevivência. Com relação aos adultos, diferença estatística entre genótipos foi observada quanto à oviposição e suas variáveis avaliadas. Quando verificou-se a alimentação dos adultos, constatou-se que estes também evitam o genótipo H.Kawandang. Para o genótipo RB00-8026 (resistente), verificou-se a tendência de tolerar a presença do inseto, já que o inseto não evita o mesmo. Para os genótipos H Kawandang e SP81-3250 análises anatômicas e de quantificação de lignina demonstram que o genótipo resistente, após induzido pelo ataque do inseto produz uma barreira física contra o mesmo, o que explica a mortalidade do inseto na presença deste. Estes resultados indicam que a antibiose e antixenose, são os principais mecanismos de resistência do genótipo H.Kawandang contra o inseto. Havendo uma diferença no mecanismo de resistência entre *Erianthus arundinaceus* e *Saccharum* spp.

**Palavras-chave:** Mahanarva fimbriolata, Saccharum, antibiose, antixenose, tolerância, melhoramento de cana-de-açúcar .

### **Abstract:**

Since the prohibition of burning at sugarcane harvest, spittlebug, *Mahanarva fimbriolata*, now considered one of the most important pests of the crop. The primary way to control pests and diseases must be made by resistant varieties, genetic improvement should be directed to make these varieties. The plants in insect resistance categories are antibiosis, antixenosis and tolerance. This study aimed to detect the main sugarcane resistance mechanism against spittlebug roots. The plant material was obtained in the germplasm bank of the breeding program of Cana, Federal University of Viçosa (PMGCA / UFV). Six genotypes, one *Erianthus arundinaceus* H.Kawandang (resistant) and five of *Saccharum* spp were tested. RB00-8026 (resistant), RB95-7610, RB86-7515, SP80-3280 and SP81-3250 (susceptible). Six experiments were conducted in a randomized block design. To evaluate the mechanisms of resistance, plants with 60 days with abundant roots were used as sites for the power nymphs. For the adults, the same age plants were available in individual and collective cages. We have tested several variables both nymphs, adults, and in genotypes. Data were subjected to tests contrast and F with 5% significance level when the mean and the means were subjected to the most appropriate media tests. The results showed that the nymphs prefer not to eat the H.Kawandang genotype, and when this feed have lower survival. For adults, statistical differences among genotypes were observed as oviposition and its variables evaluated. Verifying the feeding of adults, it was found that they also avoid H.Kawandang genotype. For RB00-8026 genotype (resistant), it was found a tendency in tolerating the presence of insect, since insect does not prevent it. For H Kawandang genotypes and SP81-3250 anatomical and quantification of lignin analyze shows that the resistant genotype, after induced by insect attack produces a physical barrier against him, which explains the insect mortality in the presence of this. These results indicate that antibiosis and antixenosis are the main mechanisms of resistance of the insects against H.Kawandang genotype. There is a difference in the resistance mechanism between *Erianthus arundinaceus* and *Saccharum* spp.

**Keywords:** *Mahanarva fimbriolata*, *Saccharum*, antibiosis, antixenosis, tolerance, sugarcane breeding.

## 1- Introdução

No Brasil, a utilização da colheita mecanizada sem a queima prévia da palha, possibilitou que a cigarrinha-das-raízes *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854) (Hemiptera: Cercopidae) se tornasse um dos principais problemas fitossanitários nas plantações de cana-de-açúcar, causando severas perdas de produtividade (Ravaneli et al., 2011). Esse cenário é favorecido pela cobertura vegetal que é depositada sobre o solo após a realização da colheita mecanizada, proporcionando ambiente com condições ideais de umidade e temperatura para o desenvolvimento das ninfas (Dinardo-Miranda et al., 2008).

Devido à importância desta praga, uma série de estudos têm sido conduzidos para estabelecer as interações entre cana-de-açúcar e a praga, estimar o nível de dano econômico (Dinardo-Miranda & Gil De 2007, Dinardo-Miranda et al 2008), determinar a distribuição temporal e espacial da praga nos campos (Dinardo-Miranda et al., 2007), e avaliar a eficiência de inseticidas químicos e biológicos (Dinardo-Miranda et al., 2002, 2004), de práticas culturais contra esta praga (Dinardo-Miranda & Fracasso 2013) e estudos de identificação de variedades melhor adaptadas a praga (Pabón, 2012, Dinardo-Miranda et al., 2014).

Sobre a interação da cigarrinha com a cana, sabe-se que o xilema, em 65% dos casos, e os elementos de tubo crivado do floema primário são os sítios de alimentação das ninfas de *M. fimbriolata*. As ninfas sugam a seiva das raízes, inserindo seus estiletos pela epiderme, atravessando todo o córtex e atingindo o cilindro vascular. Os adultos se alimentam, na lâmina foliar, introduzindo seus estiletos preferencialmente pelos estômatos, atravessando as células do parênquima clorofiliano e atingindo o metaxilema nos feixes vasculares (Garcia et al., 2007).

As ninfas de *M. fimbriolata* alimentam-se principalmente da seiva do xilema de raízes jovens e tenras (Mendonça & Mendonça, 2005). Como a seiva do xilema é pobre, em carboidratos e aminoácidos, grandes quantidades precisam ser sugadas para atender às necessidades nutricionais desses insetos (Fewkes, 1969). As ninfas produzem uma espuma característica que as envolve e protege contra dissecação e inimigos naturais (Batista et al., 2010). A espuma é formada pelo volume de seiva sugado e por uma substância mucilaginosa excretada pela praga (Garcia, 2002). As ninfas excretam o

líquido produzido a partir da seiva da planta, adicionam bolhas de ar criadas pela expansão e contração de seu abdomen, e misturam secreções provenientes de estruturas como as glândulas Batelli e tubos de Malpighi (Kato, 1958; Marshall, 1965), secreções que são importantes para a estabilização da espuma (Valério, 2009).

### 1.1 Danos causados pelo ataque da *Mahanarva fimbriolata*

Os prejuízos atribuídos à cigarrinha-das-raízes são decorrentes da sucção de seiva nas folhas e nas raízes pelos adultos e ninfas, respectivamente, e da injeção de toxinas pelos adultos durante o processo de sucção (Penatti, 2006). Dois tipos de substâncias são injetadas pelo inseto adulto: as que se coagulam no interior dos tecidos da folha, possivelmente desorganizando o transporte da seiva e outras solúveis, que se distribuem nas folhas, predominantemente no sentido apical, determinando a morte dos tecidos (Valério, 2009). O aparelho bucal das cigarrinhas inclui dois pares de estiletos: o par externo (mandíbulas modificadas) que, com suas pontas serrilhadas, perfura o tecido vegetal, antecedendo e facilitando a penetração do par interno (maxilas modificadas). Os estiletos que compõem o par interno acoplam-se um ao outro de tal forma a originarem dois canais: um para a sucção da seiva e o outro para a introdução de secreções salivares (Valério, 2009).

O ataque das ninfas causa uma desordem metabólica generalizada na planta resultando na ocorrência do secamento dos vasos condutores, sintoma chamado de “coração morto”, e na desidratação e afinamento dos colmos (Gallo et al., 2002; Macedo e Macedo, 2004). A desordem metabólica é decorrente das picadas que atingem os elementos traqueais da raiz e os deterioram, dificultando ou impedindo o fluxo de água e de nutrientes, caracterizado pela desidratação do floema e do xilema (Garcia et al., 2007). Os sintomas iniciais da infestação constituem de áreas cloróticas que evoluem para necrose, estes sintomas aparecem no ápice da folha e se expandem até a base da mesma. As plantas quando atacadas apresentam danos fisiológicos, como redução na taxa fotossintética, no teor de clorofila, na taxa de evapotranspiração, na condutância estomática e no peso fresco.

Em altos níveis de infestação da praga, os sintomas nas plantas são muito semelhantes à restrição hídrica (Guimarães et al., 2008a). A alimentação das ninfas

prejudica o transporte de água, o que resulta em sinais hidráulicos que estimulam o fechamento dos estômatos (Guimarães et al., 2008a). A deficiência hídrica, causada pelas ninfas ao se alimentarem da seiva do xilema e/ou do floema, altera a atividade fotossintética, nesta condição, a planta reduz as perdas de água pelo fechamento dos estômatos, e conseqüentemente, reduz o influxo de CO<sub>2</sub> (Floss, 2008), reduzindo a fotossíntese pela deficiência desse substrato. A redução no teor de clorofila é outro fator que resulta na redução da atividade fotossintética.

## 1.2 Possíveis mecanismos de defesa da cana-de-açúcar ao ataque da praga

Em ecossistemas naturais e manejados, plantas e insetos estão constantemente interagindo de forma complexa. Enquanto as plantas desenvolveram diferentes mecanismos para reduzir o dano causado pelo ataque dos insetos por meio da alteração das suas características químicas e físicas e de respostas específicas que ativam diferentes vias metabólicas, os insetos desenvolveram estratégias para superar as barreiras defensivas impostas pelas plantas, possibilitando a sua alimentação, seu desenvolvimento e reprodução (Mello & Silva-Filho, 2002). As plantas são imunes ao ataque da maioria dos patógenos e pragas graças a seus múltiplos e especializados mecanismos de defesa (Veronese et al., 2003).

Plantas de cana-de-açúcar infestadas por cigarrinhas apresentam redução no teor de sólidos solúveis total, no teor de sacarose e açúcares redutores, aumento nos compostos fenólicos, na acidez total e volátil do caldo. Adicionalmente o processo de fermentação também é afetado o que resulta em vinhos com menor teor alcoólico (Ravaneli et al., 2011). A redução no teor de sacarose pode estar associada à biossíntese de compostos de defesa da planta, como o fenol, que requer energia e carbono (Taiz & Zeiger, 2004), e também estar relacionada com a redução da taxa fotossintética. Guimarães et al. (2008b) observaram que os níveis constitutivos desses compostos foram maiores na variedade resistente (SP83-5073), porém não houve efeito da infestação da praga no teor de fenóis nessa variedade. Os pesquisadores concluíram que os níveis de compostos fenólicos constitutivamente altos na variedade resistente podem estar envolvidos num mecanismo de resistência, pois houve uma maior mortalidade e duração da fase ninfal. Para Silva et al. (2005), níveis de compostos fenólicos mais

elevados podem ser os responsáveis pela não preferência do inseto, e que somente uma caracterização dos compostos fenólicos poderá indicar se existe uma resistência fenólica a insetos sugadores.

Há evidências que alguns dos compostos nitrogenados presentes no xilema com altas concentrações de amido, prejudicam a alimentação ou causam danos às ninfas (Brodbeck et al, 1999). Portanto, é possível que as ninfas possam morrer por falta de alimentos ou terem seu desenvolvimento prejudicado, devido à produção de substâncias tóxicas pelas plantas (Thompson, 2004). Para se proteger contra o ataque, a planta sintetiza biomoléculas de defesa, modificando o seu metabolismo secundário, o que resulta na produção de compostos responsáveis pela sua proteção (Taiz & Zeiger, 2004).

No entanto, informações sobre a resistência de cultivares de cana para *M. fimbriolata* são muito limitadas (Pabón 2012, Dinardo-Miranda et al 2014).

### 1.3 Mecanismos de resistência de plantas

A resistência das plantas aos insetos-praga envolve muitos fatores e compostos que podem estar presentes no hospedeiro, constitutivamente ou serem produzidos após a indução de uma resposta (Nutt et al., 2004). As categorias de resistência a insetos em plantas geralmente aceitas e frequentemente utilizadas por pesquisadores foram propostas por Painter (1951) sendo elas a antibiose, a antixenose e a tolerância. Antibiose tem efeito direto sobre a sobrevivência ou desenvolvimento da praga (Nutt et al., 2004 e Parsa et al., 2011). Antixenose é verificada quando uma planta ou variedade é menos utilizada pelo inseto que outra para alimentação, oviposição ou abrigo, estando nas mesmas condições. Tolerância é a capacidade da planta de suportar uma densidade maior de insetos sem reduzir a produção ou a qualidade, entretanto pode ser quebrada quando a taxa de infestação for muito elevada. A antibiose geralmente depende de um mecanismo químico, e as pragas podem desenvolver mecanismos alternativos para superar este tipo de defesa da planta (Nutt et al., 2004). Antibiose é a categoria de resistência que inclui aqueles efeitos adversos que repercurtem na vida de insetos resultantes da posterior alimentação do mesmo em planta hospedeira resistente, (Painter 1951). Ambas as defesas químicas e morfológicas das plantas podem causar efeitos antibióticos que variam de leve a letal para o inseto. Os efeitos da antibiose são

mensurados pela morte em estádios precoces, tamanho reduzido ou perda de peso, períodos prolongados de desenvolvimento dos estádios imaturos, redução na longevidade dos adultos e fecundidade, morte na fase de pré-pupa ou pupa, e comportamento anormal (andando ou inquieto) (Davis, 1985). Para identificar antibiose, os materiais vegetais são cultivados em gaiolas individuais e posteriormente, infestado com o inseto em situação de não escolha para o mesmo (Davis, 1985).

Segundo Smith et al (1994), antixenose é um termo derivado do grego *xenos* = hóspede descrevendo a incapacidade de uma planta para servir como morada e alimento para o inseto. Como resultado os insetos são forçados a escolher um hospedeiro (planta) alternativo devido a presença de fatores morfológicos ou químicos na planta que contribuem para a mudança no comportamento do inseto.

Para caracterizar a resistência por antixenose o experimento é feito com o plantio de diferentes genótipos em uma mesma replicação experimental. Em casa de vegetação, por exemplo, os vasos de diferentes cultivares sob avaliação são muitas vezes plantadas em um arranjo circular e insetos teste são liberados no centro das plantas em estudo.

Populações teste de inseto são deixadas nas plantas até que o controle suscetível apresente as características provocadas pela alimentação e ou oviposição do inseto. Ao identificar plantas resistentes em um teste de escolha, o pesquisador está assegurado se o material potencialmente resistente possui antixenose.

Testes de antixenose são usados para estabelecer a resposta da planta ou de partes das plantas para o ataque, em livre escolha, de larvas/ninfas ou adultos de insetos.

Já para a tolerância, as plantas também podem ser resistentes ao ataque de insetos por possuir a capacidade de se recuperar de danos causados pelo ataque dos mesmos. De acordo com o Painter (1951) a tolerância “é baseada na resistência em que a planta possui capacidade para crescer e reproduzir ou reparar lesões de diferentes graus, suportando assim uma população aproximadamente igual à que danifica um hospedeiro susceptível.” A expressão da tolerância é determinada por uma habilidade genética inerente a planta. Ao contrário da antibiose e antixenose, tolerância envolve apenas as características das plantas e não é resultado da interação inseto-planta. No entanto, a tolerância, muitas vezes ocorre, em parte, pela combinação com antibiose e antixenose. Normalmente, a existência de tolerância está comparando dano, suporte da planta a

praga, e a produção de plantas determinadas por biomassa ou rendimento em plantas infestadas e não infestado de uma mesma cultivar.

De maneira geral as plantas produzem substâncias químicas para sua defesa, de duas maneiras diferentes: i) como substâncias constitutivas que repelem herbívoros através da toxicidade direta ou através da redução da digestibilidade dos tecidos vegetais e; ii) síntese induzida de substâncias em resposta aos danos causados pelos herbívoros (Mello & Silva-Filho, 2002). Fitohormônios por exemplo, podem ser sintetizados após, a planta ser atacado por insetos. O ataque da praga regula a expressão do gene e controla a produção dos metabólitos de proteção (Maffei et al., 2007).

As barreiras físicas, tais como o fortalecimento da parede celular, é outro mecanismo de defesa que as plantas utilizam para se defenderem do ataque dos herbívoros. A presença de lignina e outros fenóis existentes nas paredes das células das plantas hospedeiras atuam como uma barreira que impede ou limita a oferta de alimentos para os insetos fitófagos, tornando a planta menos atrativa (Santiago et al., 2013).

Pabón, 2012 e Dinardo-Miranda et al 2014, em seus estudos discriminaram grupos de genótipos resistentes, de resistência intermediária e suscetíveis a cigarrinhas-das-raízes, contudo pouco se sabe sobre qual o mecanismo responsável por essa resistência. Assim, o objetivo desse trabalho foi definir qual o principal mecanismo de resistência que a cana apresenta contra a cigarrinha das raízes.

## **2- Material e métodos**

Foram conduzidos seis experimentos. Os quatro primeiros na sala de criação de insetos situada no CECA (Centro de Pesquisa e Melhoramento em Cana-de-açúcar) em Oratórios-MG. O quinto e sexto foram conduzidos em casa de vegetação situada no Vale da Agronomia, Diogo Alves de Melo no município de Viçosa-MG. Todos os experimentos foram conduzidos no período de dezembro de 2013 a abril de 2014.

Para a criação de *Mahanarva fimbriolata*, insetos adultos e ninfas foram capturados, os adultos com auxílio de uma rede entomológica, as ninfas com uso de

canivetes, em ambos os casos os insetos capturados era colocados em plantas destinadas a transporte e encaminhados a sala de criação localizada na Estação Experimental do CECA (Centro de Pesquisa e Melhoramento da Cana-de-Açúcar), Oratórios-MG. Os insetos foram criados conforme metodologia descrita por Garcia (2002).

## 2.1 Para os experimentos 1, 2, 3 e 4

Utilizaram-se clones de cana-de-açúcar oriundos dos seguintes genótipos, um *Erianthus arundinaceus* H.Kawandang (controle resistente), um *Saccharum* spp RB00-8026 (resistente), e quatro *Saccharum* spp RB95-7610 (suscetível), RB86-7515 (suscetível), SP80-3280 (suscetível) e SP81-3250 (controle suscetível) para aplicar os tratamentos.

As mudas foram preparadas a partir de um tolete, com único nó de cana contendo uma gema lateral que foram germinadas em bandejas de plástico, cheias com substrato agrícola (Plantmax ® Agro - Cod Estaca). Após 30 dias, hastes primárias foram transplantadas, ainda incluindo raízes do corte original, em unidades de crescimento de plantas constituídas de uma conexão de PVC, com 5,3 cm de diâmetro, 6,2 cm de comprimento, aberto em ambas as extremidades, preenchidas com uma mistura de 50% solo e 50% substrato agrícola, adubada conforme recomendado para a cultura da cana-de-açúcar (CFSEMG, 1999). Quarenta e cinco dias após o transplântio as mudas estavam devidamente enraizadas e em condições de receber os tratamentos.

## 2.2 Experimento 1 (oviposição sem possibilidade de escolha de genótipo):

Para avaliar o padrão de oviposição de fêmeas de *M. fimbriolata* foi realizado um teste de oviposição sem chance de escolha utilizando os seis genótipos com distintos graus de resistência. Em uma gaiola de acetato perfurado, afixada diretamente na base do vaso e estruturada com elásticos, nas dimensões de 5,3cm de diâmetro por 50 cm de altura) contendo uma planta, foi liberado um casal de insetos tenerais de *M. fimbriolata*, como substrato de oviposição foi utilizado um disco de algodão na base da planta. Após a morte da fêmea, em aproximadamente 10 dias, coletou-se o disco de algodão usado para receber a postura da mesma e a avaliação foi realizada através da contagem do número total de ovos colocados. Foram realizada 20 repetições (gaiolas) para cada

genótipo. Após a contagem dos ovos, foi realizada uma triagem a fim de contabilizar o número de ovos viáveis e diapausicos, Considerou-se ovos diapáusicos aqueles que permaneceram por mais de 50 dias em estágio de desenvolvimento S2.

Os dados foram analisados por meio de Modelos Lineares Generalizados (GLM) seguindo a distribuição quasibinomial, tendo em vista diagnóstico positivo para sobredispersão. A simplificação do modelo foi realizada através da análise de contrastes, como recomendado por Crawley (2007). Todas as análises foram realizadas em R (R Development Core Team, 2012). As gaiolas que não continham ovos no final do experimento foram excluídas da análise.

### 2.3 Experimento 2 (oviposição com chance de escolha de genótipo):

Para avaliar se existe preferência entre os genótipos com graus distintos de resistência por fêmeas de *M. fimbriolata*, foi realizado um teste de oviposição com chance de escolha. Em uma gaiola (60cm de comprimento x 40cm profundidade x 90cm de altura) contendo os seis genótipos foi liberado um casal de insetos tenerais de *M. fimbriolata*, como substrato de oviposição foi utilizado um disco de algodão na base de cada planta. Após a morte da fêmea, em aproximadamente 10 dias, coletou-se o disco de algodão usado para receber a postura da mesma. A variável resposta consistiu na proporção de ovos (viáveis, diapáusicos e total) depositados em determinado genótipo em relação ao total ovipositado em todos os genótipos. Foram realizadas 20 repetições (gaiolas). Após a contagem dos ovos, foi realizada uma triagem a fim de contabilizar o número de ovos viáveis e diapausicos, Considerou-se ovos diapáusicos aqueles que permaneceram por mais de 50 dias em estágio de desenvolvimento S2.

Os dados foram analisados por meio de Modelos Lineares Generalizados (GLM) seguindo a distribuição quasibinomial, tendo em vista diagnóstico positivo para sobredispersão. A simplificação do modelo foi realizada através da análise de contrastes, como recomendado por Crawley (2007). Todas as análises foram realizadas em R (R Development Core Team, 2012). As gaiolas que não continham ovos no final do experimento foram excluídas da análise.

#### 2.4 Experimento 3 (comportamento de adultos frente aos genótipos):

Para avaliar se os genótipos afetavam o comportamento de adultos de *M. fimbriolata*, foi conduzido um experimento de observação direta dos adultos quando expostos aos genótipos. Em uma gaiola foram acondicionados os genótipos e no centro da mesma foram liberados um casal de insetos tenerais. A partir de liberação o casal foi observado por uma hora e os seguintes comportamentos foram avaliados para cada sexo: caminhamento, parado e alimentando. A observação consistiu em quantificar o tempo (minutos) onde cada inseto (macho e fêmea) exibiu o comportamento. Foram realizadas 23 repetições (sempre com plantas e insetos distintos).

Os dados foram analisados por meio de Modelos Lineares Generalizados (GLM) seguindo a distribuição quasibinomial, tendo em vista diagnóstico positivo para sobredispersão. A simplificação do modelo foi realizada através da análise de contrastes, como recomendado por Crawley (2007). Todas as análises foram realizadas em R (R Development Core Team, 2012). As gaiolas que não continham ovos no final do experimento foram excluídas da análise.

#### 2.5 Experimento 4 (comportamento alimentar das ninfas):

Utilizou-se os mesmos genótipos H.Kawandang, RB95-7610, RB00-8026, RB86-7515, SP80-3280 e SP81 3250 para aplicar os tratamentos.

As mudas também foram preparadas a partir de um tolete, com único nó de cana contendo uma gema lateral que foram germinadas em bandejas de plástico, cheias com substrato agrícola (Plantmax ® Agro - Cod Estaca). Após 30 dias, hastes primárias foram transplantadas, ainda incluindo raízes do corte original, em unidades de crescimento de plantas constituídas de caixas plásticas retangulares com 20 cm de comprimento, 16 cm de largura por 6 cm de profundidade, preenchidas com uma mistura de 50% solo e 50% substrato agrícola, adubada conforme recomendado para a cultura da cana-de-açúcar (CFSEMG, 1999) . Cada unidade de crescimento recebeu 6 mudas, uma de cada genótipo, devidamente isoladas em baias com abertura única direcionada ao centro da caixa, de forma que as raízes das plantas não se encontravam, mas todas as plantas tinham acesso ao centro da caixa. Quarenta e cinco dias após o

transplântio as mudas estavam devidamente enraizadas e em condições de receber os tratamentos.

O experimento foi instalado em delineamento blocos casualizados (DBC) onde cada parcela consistia de dez bandejas, compondo assim uma repetição. Foram realizadas 14 repetições.

O tratamento consistiu da colocação de duas ninfas de segundo instar em posição equidistantes das plantas, 24 horas após a infestação, verificava-se em qual dos genótipos elas se encontravam. Posteriormente à verificação, as ninfas eram substituídas por outras duas e se reiniciavam as observações, cada observação foi considerada uma repetição. Foi avaliada localização da ninfa após 24 horas de soltura

A ANOVA foi realizada considerando um nível de significância de 5% pelo teste F. Quando significativo, foi feito o teste de Scott Knott com 5% de significância. Para a análise estatística utilizou-se o programa computacional GENES 2013 (Cruz, 2013).

## 2.6 Experimento 5 (injúria na planta):

Utilizou-se os genótipos H.Kawandang (resistente) e SP81 3250 (suscetível) para aplicar os tratamentos, que consistiam de diferentes níveis de infestação de ninfas da *M. fimbriolata*.

As mudas foram germinadas conforme já descrito para os experimentos 1, 2 e 3, sendo que ao final do plantio na unidade de PVC foi colocada uma tampa, conexão redutora, em PVC (4,9 cm de diâmetro, 5,5 cm de comprimento), a qual apresenta uma abertura central de 1,9 cm por onde a haste da planta de cana-de-açúcar era direcionada para crescer nesta passagem, promovendo um sombreamento que teve por objetivo, induzir o enraizamento superficial da planta além de criar uma câmara de contenção das ninfas ali aprisionadas. O espaço superior da tampa foi vedado com espuma, aprisionando completamente as ninfas usadas nos tratamentos.

O experimento foi instalado em delineamento em blocos casualizados (DBC), em esquema fatorial 2 x 2, sendo dois genótipos e dois níveis de ninfas (0 e 6 ninfas) aplicados no tratamento. Foram usadas seis repetições por parcela. A ANOVA foi

realizada considerando um nível de significância de 5% pelo teste F. Quando significativo, foi feito o teste de Tukey com 5% de significância. Para a análise estatística utilizou-se o programa computacional GENES 2013 (Cruz, 2013).

Foram avaliados:

- Dano visual segundo a escala de (1 a 5 onde 1 = dano não detectado, 2 = 25% dano na folha, 3 = 50% dano na folha, 4 = 75% dano na folha e 5 = 100% dano na folha)
- % sobrevivência
- Matéria fresca
- Matéria seca
- Razão matéria seca x matéria fresca em porcentagem ((ms/mf)%)
- Análise anatômica de raiz infestada e não infestada
- Teor de lignina no colmo

Para os estudos anatômico das raízes, as amostras foram fixadas em solução de glutaraldeído (Karnovsky, 1965, modificado – 2,5% glutaraldeído, 4% paraformaldeído, 3% sacarose,  $\text{CaCl}_2$  5  $\mu\text{M}$  em tampão cacodilato 0,1  $\text{mol.L}^{-1}$ , pH 6,8), por 24 horas, desidratadas em série etílica e incluídas em metacrilato (Historresin, Leica). Para a obtenção de cortes transversais e longitudinais com 5 $\mu\text{m}$  utilizar-se-á micrótomo rotativo de avanço automático (RM 2255 – Leica) equipado com navalha de vidro. Os cortes foram corados com azul de toluidina a pH 4,4 (O'Brien & McCully, 1981) por 10 minutos, e as lâminas montadas com resina sintética (Permount). A análise e documentação fotográfica foram realizadas em microscópio de luz (Olympus-AX 70), conectado a um sistema de fotomicrografia (Olympus U-Photo), do laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia Vegetal da UFV.

Para a quantificação de lignina, as folhas foram retiradas do colmo e secas separadamente em estufa (60°C) por 24 horas. Após esse período, o colmo foi triturado, peneirado em sequência de peneiras de 20 e 80 mesh, o material retido em peneira de 80 mesh foi identificado e armazenado para posterior leitura.

Para a obtenção dos espectros de infravermelho próximo (NIR) que preveem lignina, aproximadamente 1 grama da amostra armazenada, foi depositada em um recipiente de quartzo onde foi realizada a leitura do instrumento NIR.

Os espectros NIR foram obtidos segundo metodologia proposta por Assis (2014). Em um espectrômetro com transformada de Fourier (FT) Agilent 660 com auxílio do acessório de refletância usando esfera de integração adquirido da PIKE Technologies. Este acessório coleta a energia refletida a partir de uma perspectiva esférica. A faixa investigada foi de 10000 a 4000  $\text{cm}^{-1}$  com um incremento de 4  $\text{cm}^{-1}$ . Os espectros foram obtidos através do software Resolutions Pro Versão 5.1, armazenando a informação como  $\log(1/R)$ , em que R é a refletância coletada. Para cada amostra um total de 64 varreduras foram realizadas e a média foi armazenada.

Os espectros foram exportados para a extensão xls. e importados pelo Software Matlab7.8 (Math Works, Natick, USA), onde as previsões foram realizadas usando os modelos de calibração multivariada construídos para as propriedades desejadas. Os modelos foram construídos usando regressão por quadrados mínimos parciais (PLS). Os algoritmos para previsão foram escritos no Laboratório de Instrumentação e Quimiometria em função .m para Matlab. Todos os cálculos foram realizados no Software Matlab 7.8.

## 2.7 Experimento 6 (sobrevivência na planta):

O experimento consistiu na avaliação da interferência do genótipo na sobrevivência dos diferentes estádios da *M. fimbriolata*. Utilizou-se os genótipos H.Kawandang (resistente) e SP81 3250 (suscetível) como substrato de alimentação para ninfas e adultos da *M. fimbriolata*.

Para a alimentação das ninfas as plantas foram conduzidas conforme citado no experimento 5. Posteriormente uma ninfa recém eclodia foi introduzida por planta acompanhando a evolução dessa ninfa até adulto.

Para a alimentação dos adultos as plantas foram conduzidas conforme citado no experimento 1. Posteriormente, um adulto recém emergido da criação de ninfas foi direcionado a um nova planta do mesmo genótipo que a originou.

Em ambos os casos os experimentos foram conduzidos em blocos casualizados no tempo, com 15 repetições e por planta. A ANOVA foi realizada considerando um nível de significância de 5% pelo teste F. Quando significativo, foi feito o teste de Tukey com 5% de significância. Para a análise estatística utilizou-se o programa computacional GENES 2013 (Cruz, 2013).

Foram avaliados:

- Sobrevivência em dias, das ninfas que originaram fêmeas
- Sobrevivência em dias, das ninfas que originaram adultos
- Sobrevivência em dias, de fêmeas adultas
- Sobrevivência em dias, de machos adultos

### **3- Resultados e discussão:**

#### 3.1 Experimento 1:

Quando os insetos não tiveram chance de escolher em qual genótipo ovipositar, não houve efeito do genótipo no número de ovos totais ( $P > 0,05$ ); no número de ovos viáveis ( $P > 0,05$ ) e no número de ovos que entraram em diapausa ( $P > 0,05$ ).

#### 3.2 Experimento 2:

Quando os insetos tiveram chance de escolher em qual genótipo ovipositar, houve efeito de genótipo ao avaliar o contraste entre as médias para o número de ovos totais ( $P < 0,05$ ) e número de ovos que entraram em diapausa ( $P < 0,05$ ), já o número de ovos viáveis não sofreu interferência pelos genótipos ( $P > 0,05$ ), esses resultados demonstram que houve efeito do genótipo na oviposição das fêmeas, demonstrado nas figuras 1 e 2.

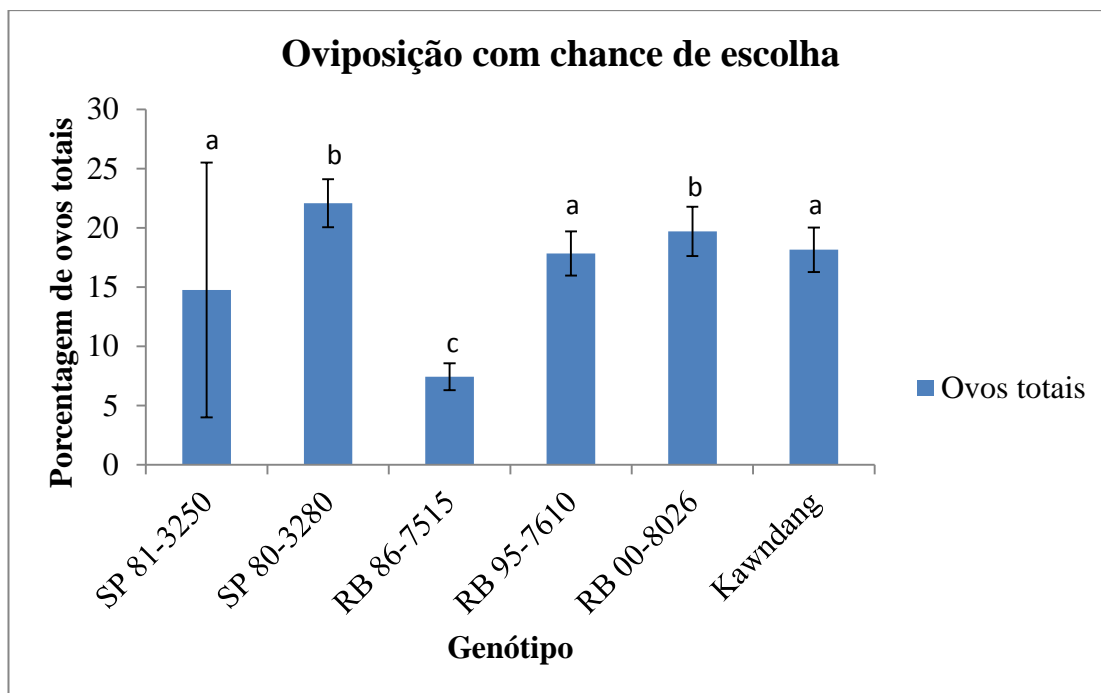


Figura 1: Análise dos contrastes entre médias para ovos totais da *M. fimbriolata* oriundos de oviposições que as fêmeas puderam escolher o genótipo. As barras representam média  $\pm$  SE. Letras diferentes indicam diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos dentro de cada densidade de ovos totais da *M. fimbriolata*; ANOVA de duas vias com comparações Pairwise GLM.

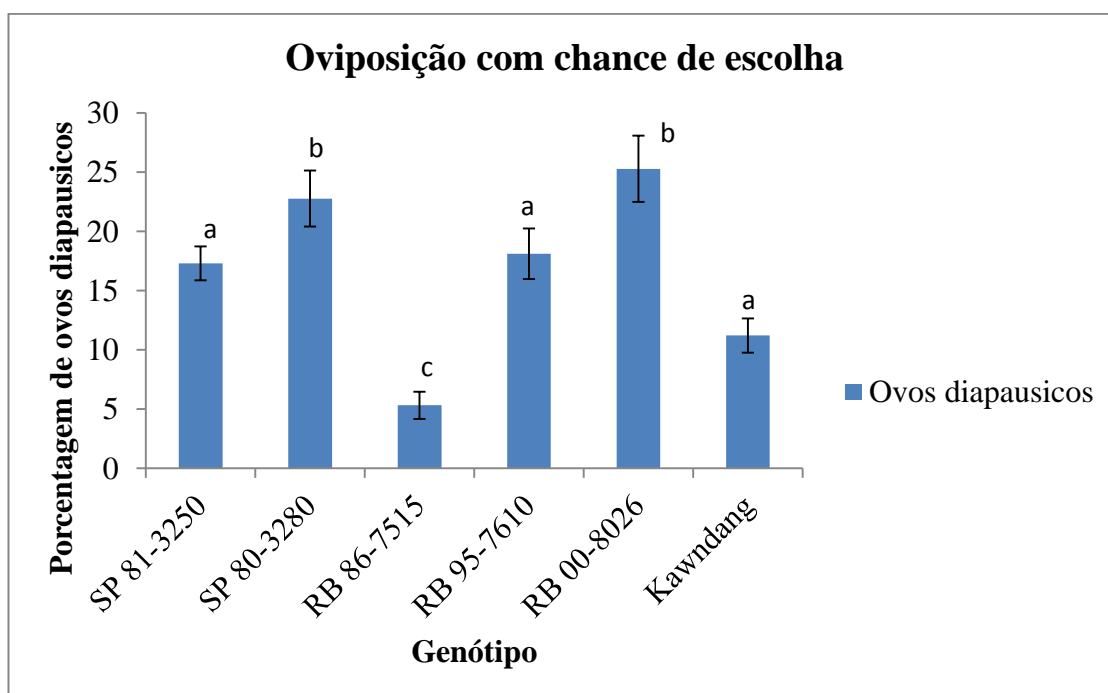


Figura 2: Análise dos contrastes entre médias para ovos diapausicos da *M. fimbriolata* oriundos de oviposições que as fêmeas puderam escolher o genótipo. As barras representam média  $\pm$  SE. Letras diferentes indicam diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos dentro de cada densidade de ovos diapausicos da *M. fimbriolata*; ANOVA de duas vias com comparações Pairwise GLM.

Verifica-se na Figura 1 e 2 que o genótipo RB 00-8026 (resistente) foi preferido pelas fêmeas da *M. fimbriolata*, o que indica que a resistência do genótipo não acontece por antibiose.

### 3.3 No experimento 3

Analisando os comportamentos, verificou-se que para os machos os contrastes entre médias para as variáveis tempo de caminhada e tempo de alimentação foram significativos ( $P < 0,05$ ) e para tempo parado ( $P > 0,05$ ) não. Já para as fêmeas apenas os contrastes relacionados à alimentação foram significativos ( $P < 0,05$ ) e não significativos para caminhada e tempo parado ( $P > 0,05$ ), estes foram discriminados nas figuras 3, 4 e 5.

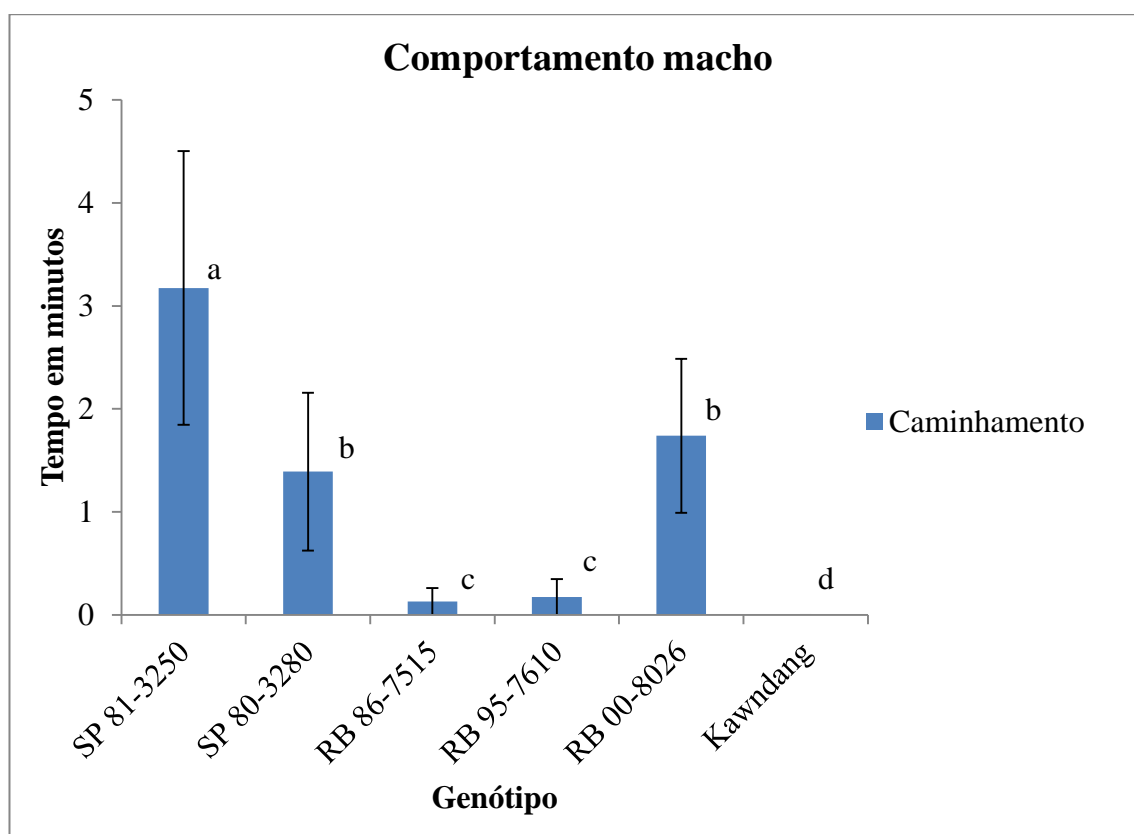


Figura 3: Análise do contraste de médias em minutos para caminhada do macho. As barras representam média  $\pm$  SE. Letras diferentes indicam diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos de caminhada em minutos de machos de *M. fimbriolata* nos diferentes genótipos; ANOVA de duas vias com comparações Pairwise GLM.

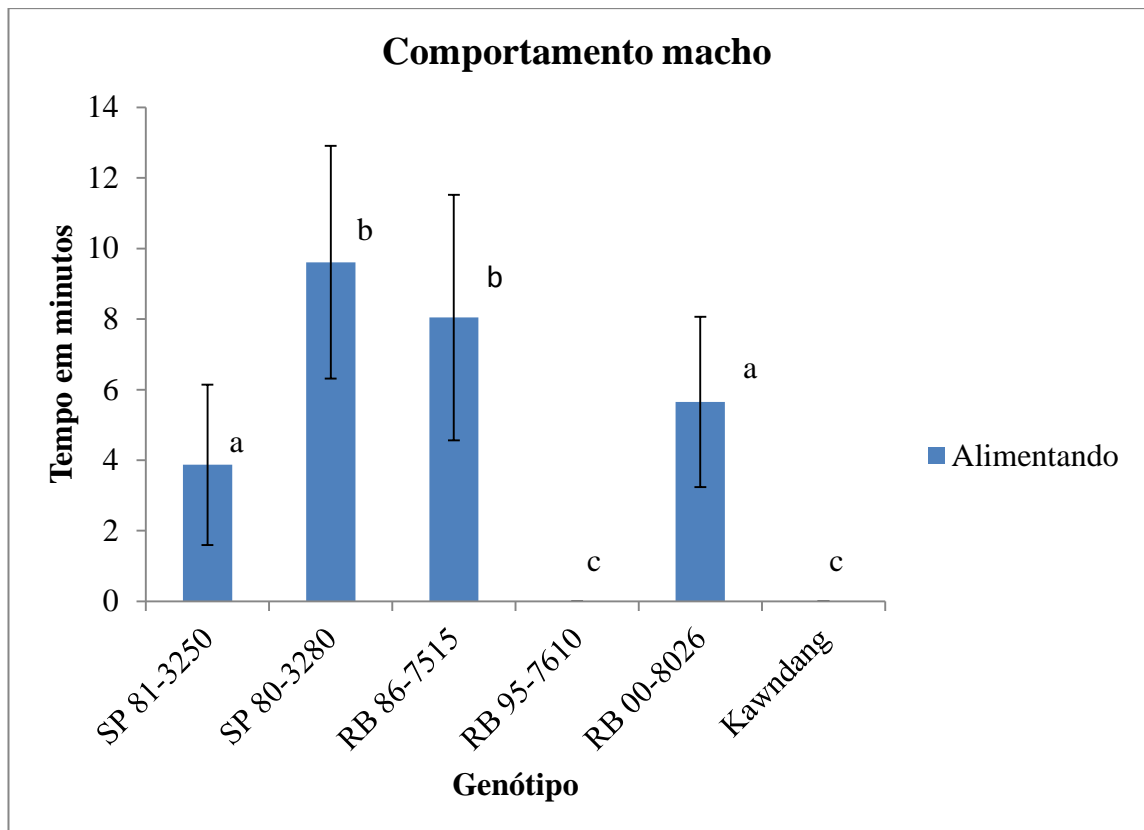


Figura 4: Análise do contraste de médias em minutos para alimentação do macho. As barras representam média  $\pm$  SE. Letras diferentes indicam diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos de alimentação em minutos de machos de *M. fimbriolatanos* diferentes genótipos; ANOVA de duas vias com comparações Pairwise GLM.

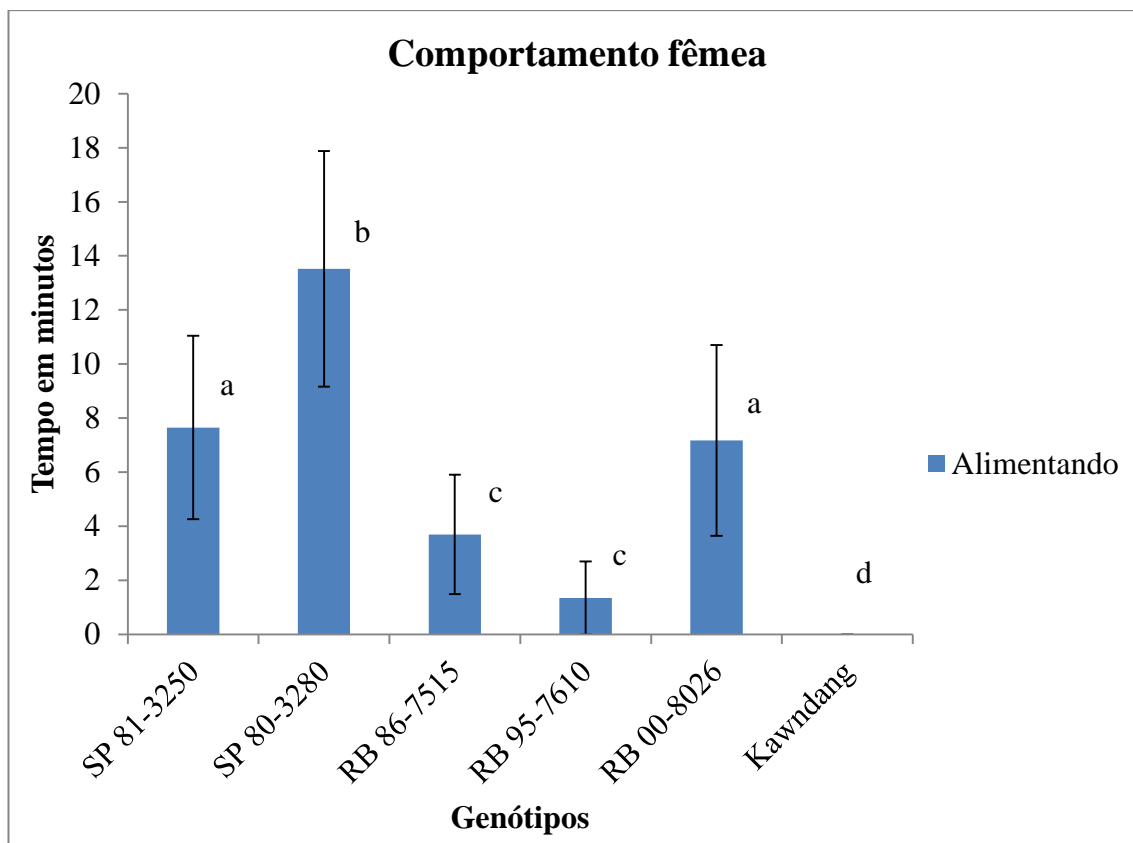


Figura 5: Análise do contraste de médias em minutos para alimentação da fêmea. As barras representam média  $\pm$  SE. Letras diferentes indicam diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os tratamentos de alimentação em minutos de fêmeas de *M. fimbriolatanos* diferentes genótipos; ANOVA de duas vias com comparações Pairwise GLM.

As figuras 3, 4 e 5 retratam uma forte tendência dos insetos se direcionarem a um determinado genótipo em detrimento a outro. De maneira geral, verificou-se que os adultos evitaram o genótipo H Kawandang (controle resistente), e o RB 95-7610 (Suscetível), o que caracteriza antixenose desses genótipos em relação à *M. fimbriolata*, porém o genótipo RB00-8026 (resistente) não foi evitado pelos adultos para nenhuma das características avaliadas, o que nos leva a crer que a resistência apresentada por esse genótipo está relacionada a tolerância do mesmo em relação à *M. fimbriolata*.

#### 3.4 Experimento 4:

Para as ninfas, a preferência alimentar foi significativa ( $P < 0,05$ ), Tabela 1. Mais uma vez verifica-se que o genótipo H Kawandang (controle resistente) foi evitado e que o genótipo RB00-8026 (resistente) não foi rejeitado como fonte de alimento para as ninfas. Neste caso o genótipo RB 95-7610 não foi evitado, confirmando sua

suscetibilidade a ninfa da *M. fimbriolata* descrita por Pabón (2012). Ao considerar apenas os genótipos resistentes, percebemos que mais de um mecanismo de resistência está relacionado a interação cana-de-açúcar x *M. fimbriolata*, uma vez que o genótipo RB00-8026 (resistente) indica que existe tolerância, e no H Kawandang (controle resistente) a indicação é de antixenose para os adultos, e antibiose ou antixenose para as ninfas.

Tabela 1: Número médio de ninfas por genótipo na avaliação de preferência alimentar (experimento 4).

Genótipo	Média
SP81-3250	2,3571 b
RB00-8026	3,6923 a
RB95-7610	2,1428 b
RB86-7515	3,0714 a
SP80-3280	2,7142 a
H.Kawandang	1,0714 c

Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott a 5% de significância

Sendo assim o experimento 5, demonstrará dados que auxiliarão a entender qual ou quais os mecanismos de resistência existentes no genótipo H Kawandang (controle resistente).

### 3.5 Experimento 5:

Na Tabela 2 a ANOVA feita considerando-se como tratamentos os dois genótipos atacados com 6 ninfas e cada uma das nove variáveis como sendo um período de avaliação espaçado de 3 em 3 dias, comparou-se a evolução do dano visual na planta no decorrer das avaliações. Na primeira avaliação (3 dias após a inoculação dos insetos na planta) todas as repetições receberam nota 1 (ausência de dano). A partir da segunda avaliação em diante, os dois genótipos já começam a ser discriminados quanto à nota da escala de dano. Assim, aos seis dias de infestação, a diferença entre os mesmos já é percebida e vai aumentando até a morte do genótipo SP81-3250 (suscetível), em torno

de 21 dias, (Figura 3). Segundo Cardona (1999), o genótipo é considerado resistente quando o mesmo apresenta nota inferior a 3 na escala de dano visual. Na figura 7 verifica-se a equação que descreve o modelo de regressão que determina a evolução do dano nos genótipos em questão, quando do ataque de seis ninfas. Enquanto no genótipo suscetível a nota 3, segundo o modelo, é atingida aos 14,9 dias, no genótipo resistente a nota 3 não foi atingida.

Tabela 2: Resumo da ANOVA para cada um dos períodos de avaliação nos genótipos resistente e suscetível infectados no experimento 5.

FV	GL	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Blocos	5	0	0,08	0,08	0,15	0,13	0,08	0,52	0,07	0,27
Genótipos	1	0	1,33	3,00	4,00	1,33	2,08	2,52	15,18	9,18
			*	*	*	*	*	*	*	*
Resíduos	5	0	0,08	0,2	0,18	0,08	0,13	0,22	0,33	0,23
Média		0	1,33	1,91	2,22	2,58	2,83	2,95	2,95	3,20
CV%		0	21,6	23,3	19,0	11,1	12,8	15,8	19,6	15,1

\* significativos a 5% de probabilidade; respectivamente; pelo teste F, ns não-significativo; pelo teste F



Figura 6: A, B e C genótipo SP81-3250 não infestado (esquerda) e infestado (direita), aos 7, 14 e 21 dias respectivamente, E, F e G genótipo H Kawandang não infestado (esquerda) e infestado (direita) aos 7, 14 e 21 dias respectivamente.

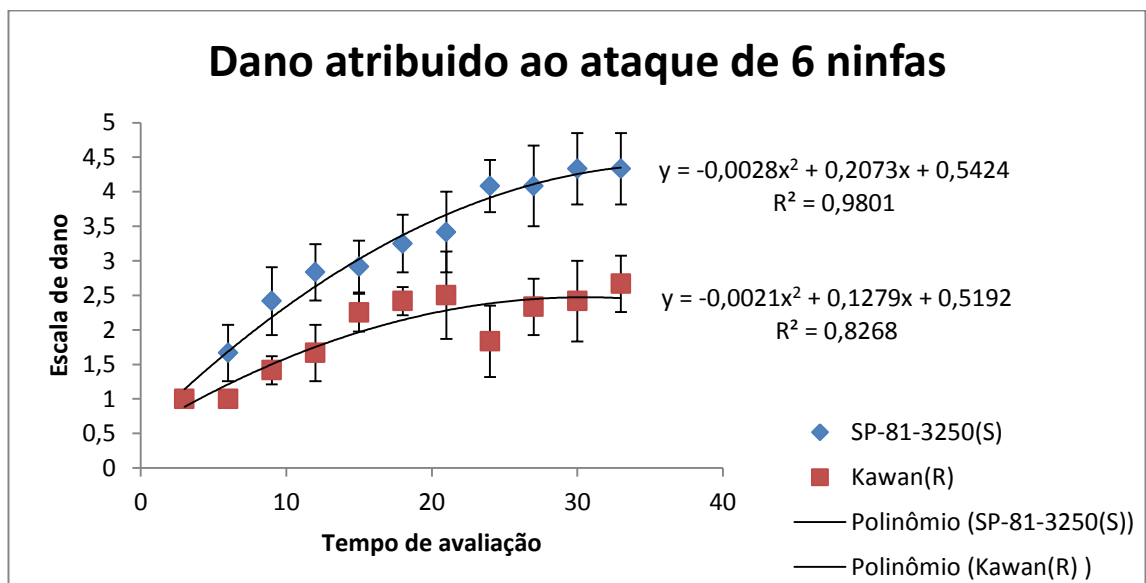


Figura 7: Modelos que relacionam dano visual ao período de avaliação (em dias) nos genótipos resistente e suscetível de cana-de-açúcar contra a *M. fimbriolata*.

Houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre a quantidade de insetos mortos ao se alimentarem nos dois genótipos. Uma vez que ao proceder a avaliação visual de dano, simultaneamente era avaliado o número de insetos mortos e quando necessário procedia-se a reposição de ninfas a fim de manter um nível constante de 6 indivíduos por planta. No genótipo SP81-3250 constatou-se uma mortalidade média de  $20 \pm 1,41$  insetos por planta, enquanto no H Kawandang esse número sobe para  $35 \pm 3,16$  insetos. Em ambos os casos a mortalidade das ninfas foi maior que as relatadas por Pabón (2012) e Dinardo-Mirando (2014), provavelmente devido a diferença na condução dos experimentos, uma vez que Pabón (2012) infestou suas plantas com ovos em estágio S4 de desenvolvimento sem reposição dos insetos mortos e Dinardo-Miranda (2014) utilizou vasos com maior volume de substrato, proporcionando maior quantidade de raízes e reduzindo a competição entre os insetos. Contudo os resultados obtidos deixam claro que houve um fator na planta que promoveu maior mortalidade das ninfas no genótipo resistente.

Ao analisar os cortes anatômicos das raízes infestadas e não infestadas por *M. fimbriolata* na figura 8, verifica-se duas claras diferenças entre os genótipos. i) o aerênquima da variedade SP81-3250 apresenta maior espaço intercelular que o H Kawandang, mais compacto. Esta diferença seria uma primeira barreira física entre o estile do inseto e seu sítio de alimentação (xilema e elementos de tubo crivado do floema primário) na raiz da cana, que se encontra mais interno ao tecido do aerênquima. ii) a diferença na síntese e acúmulo dos compostos mucilaginosos, que na foto aparecem como as pontuações mais escuras coradas pelo azul de toluidina. Em ambos os genótipos infestados, verifica-se o extravasamento de parte desses compostos, mas quando se busca acúmulo destes compostos no interior do tecido vegetal, verifica-se que apenas o genótipo H Kawandang armazenou na região do protoxilema.

O genótipo SP813250, independentemente, de estar ou não exposto á interação com as ninfas apresentou presença de aerênquima no seu córtex (Figura 8 A e B). A ocorrência do aerênquima foi limitada apenas à região cortical. As células da epiderme, exoderme e o cilindro esclerenquimatoso apresentavam-se intactas e lignificadas. A formação de aerênquima é induzida por fatores ambientais como deficiência nutricional (Siyiannis et al., 2012), alagamento (Xu et al., 2013), densidade do solo e temperatura, assim como, níveis de etileno elevado (Yin et al., 2013). Entretanto, Leite (2013) estudando a presença de aerênquima em raiz de cana-de-açúcar observou que esta

característica ocorre independentemente dos fatores ambientais externos, sendo sua formação constitutiva.

A presença do aerênquima nas células do córtex do genótipo suscetível atua como um agente facilitador para que os estiletes das ninfas atinjam o cilindro vascular das plantas, uma vez que, o estilete conseguindo vencer a barreira imposta pela camada de lignina, não encontra nenhum outro obstáculo para atravessar o córtex. Segundo Thimmaiah et al. (1994), a suscetibilidade de genótipos de algodão ao ataque de pulgão está diretamente relacionada à menor compactação dos tecidos. Segundo estes pesquisadores, a menor compactação fornece espaços intercelulares que facilita o estilete do pulgão atingir o floema. Na ausência do aerênquima o estilete tem que perfurar várias células até atingir o xilema e/ou floema. É sabido que a parede celular atua como uma defesa direta das plantas, assim como a suberina, calose e a cutícula. A parede celular é uma barreira física que impede a entrada de patógenos e/ou artrópodes nos seus tecidos. A lignina é considerada substância resistente aos patógenos, pois dificulta sua colonização. Porém, isso não inviabiliza o acesso dos patógenos ao interior das plantas (Silva et al., 2005a).

Tecidos parenquimáticos podem exibir resistência aos patógenos, mesmo sem apresentar lignificação. A resistência nesse caso é atribuída à organização e às características das células (Silva et al., 2005a). No genótipo resistente as células parenquimáticas eram compactas, ou contrário, do genótipo suscetível. As raízes do genótipo H. Kawadang eram mais densas que a do genótipo SP813250 (Figura 8). A maior densidade pode ser considerada como resultado da melhor aglomeração e organização das células do parênquima cortical, que também pode atuar como uma barreira que dificultou o acesso dos estiletes das ninfas ao xilema. Assim, a alta taxa de mortalidade das ninfas de primeiro instar observada no genótipo H. Kawadang, ocorreu devido organização e compactação das células do córtex que atuou como uma barreira defensiva das plantas.

A barreira imposta pela compactação das células impediu/dificultou o acesso do estilete das ninfas ao cilindro vascular, o que reduziu a virulência do inseto, e fez com que a planta tolerasse a interação com as ninfas. Este resultado colabora com os encontrados por Thimmaiah et al. (1994) que também detectaram células mais densas e compactas nos genótipos resistentes de algodão ao ataque do pulgão. Segundo estes pesquisadores, células densas e compactas dificultam o acesso do estilete do pulgão ao

floema e, portanto, poderia ser um dos fatores responsáveis pela resistência da planta hospedeira.

Garcia et al (2007) descreve que as ninfas sugam a seiva das raízes, inserindo seus estiletes pela epiderme, atravessando todo o córtex e atingindo o cilindro vascular. Como a mucilagem está armazenada próximo ao cilindro vascular, estes compostos interferem na alimentação da ninfa, seja reduzindo sua palatabilidade, seja pelo impedimento físico, que dificulta a ninfa de absorver a quantidade necessária de seiva do xilema para uma alimentação adequada, uma vez que essa seiva é pobre em carboidratos e aminoácidos, e precisa ser sugada em grandes quantidades para atender às necessidades nutricionais desses insetos (Fewkes, 1969). Thompson (2004) sugere que a mortalidade das ninfas estaria relacionada a toxicidade dos compostos secundários e não a baixa absorção da seiva bruta pelo inseto.

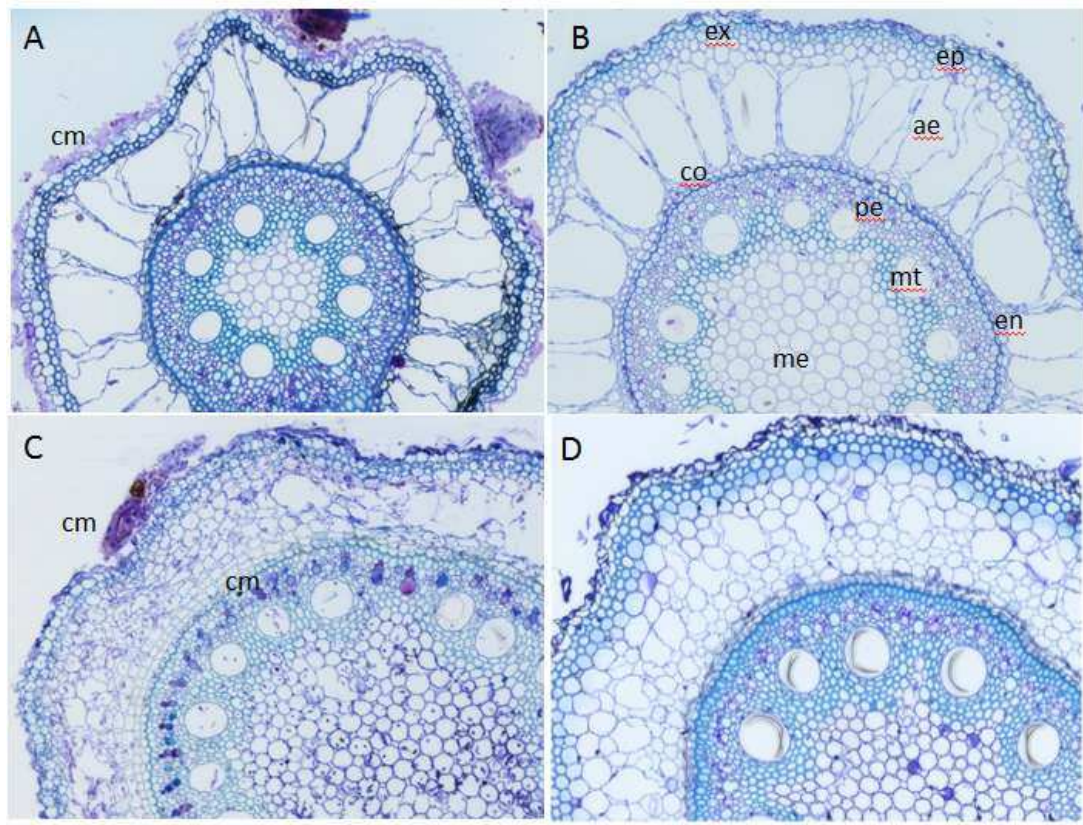


Figura 8: Lâmina das raízes infestada e não infestada com ninfas de *M. fimbriolata*, onde: A) SP 81-3250 com inseto em aumento de 10x1,0; B) SP 81-3250 sem inseto em aumento de 10x1,0; C) H Kawandang com inseto em aumento 10x1,0 e D) H Kawandang sem inseto em aumento 10x1,0. ae = aerênquima; co = córtex; ep = epiderme; ex = exoderme; en = endoderme; me = medula; mt = metaxilema; pe = periciclo; cm = compostos mucilaginoso.

Com relação a matéria fresca e seca dos genótipos atacados e não atacados, houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) para matéria fresca e seca na interação entre os fatores genótipo (resistente e suscetível) x nível de inseto (presença e ausência). Com relação à matéria fresca o genótipo, SP 81-3250 apresentou diferença significativa ( $P < 0,05$ ) na sua matéria fresca quando atacado ou não atacado pela ninfa. Os sintomas de perda de turgência nas folhas das plantas conforme relatado por Gallo et al. (2002) e Macedo e Macedo (2004), demonstram que a desordem metabólica que ocorre em decorrência das picadas que atingem os elementos traqueais da raiz os deteriora, dificultando ou impedindo o fluxo de água e de nutrientes, caracterizando a desidratação da planta como um todo (Garcia et al., 2007). Observando novamente a figura 6, vemos que a infestação da praga, provoca sintomas nas plantas muito semelhantes à restrição hídrica, confirmando Guimarães et al. (2008a). Contudo ao verificar o genótipo H Kawandang (resistente), não há diferença estatística entre o genótipo na presença e ausência da ninfa do inseto, provavelmente o ataque da ninfa não interrompe o fluxo de água no xilema. Como não houve a interrupção do fluxo de água o metabolismo foi menos prejudicado neste genótipo que no suscetível, esta informação fica clara ao observar na tabela 3, os dados de acúmulo de matéria seca em ambos os genótipos, onde também não se verifica diferença estatística para o genótipo resistente quando atacado e não atacado.

Tabela 3: Média de pesagem final das plantas 30 dias após o início do experimento.

Tratamento	MF	MS
SP81-3250 sem inseto	16.65 ( $\pm 2,61$ ) a	9.92 ( $\pm 0,68$ ) a
SP81-3250 com inseto	12.76 ( $\pm 2,33$ ) b	8.41 ( $\pm 0,56$ ) b
H. Kawandang sem inseto	13.99 ( $\pm 1,07$ ) ab	8.63 ( $\pm 1,07$ ) b
H. Kawandang com inseto	15.02 ( $\pm 1,86$ ) ab	8.91 ( $\pm 1,86$ ) b

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente a 5% pelo teste de Tukey.

Ao avaliar a resposta da planta na parte aérea após o ataque do inseto, verificou-se que 30 dias após a indução pelo inseto a síntese de lignina constitutiva na parede das células do tecido do colmo no genótipo resistente H Kawandang foi significativamente maior ( $P < 0,05$ ) que no genótipo suscetível atacado e nos controles não induzidos pelo inseto (Tabela 4). Mello & Silva-Filho (2002) e Maffei et al., (2007) relatam que a

presença do herbívoros induz a expressão de genes que controlam a produção dos metabólitos de proteção. Esses por sua vez induzem um aumento na síntese e armazenamento de lignina nas paredes das células das plantas hospedeiras que atuam como uma barreira que impede ou limita a oferta de alimentos para os insetos fitófagos, tornando a planta menos atrativa (Santiago et al., 2013).

Tabela 4: Médias da quantificação de lignina oriundas dos genótipos infestados e não infestados pela *Mahanarva fimbriolata*.

Tratamento	Lignina
SP81-3250 sem inseto	23,70 ( $\pm 0,81$ ) b
SP81-3250 com inseto	22,53 ( $\pm 1,75$ ) b
H. Kawandang sem inseto	23,02 ( $\pm 1,46$ ) b
H. Kawandang com inseto	26,04 ( $\pm 1,01$ ) a

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente a 5% pelo teste de Tukey.

### 3.6 Experimento 6:

Ao avaliar a sobrevivência da *M. fimbriolata* nos diferentes genótipos, verificou-se diferença significativa ( $P < 0,05$ ) para ninfas que originaram macho e na sobrevivência de machos adultos

No genótipo resistente, a ninfa que originava machos concluiu seu período ninfal em 50,8 ( $\pm 4,12$ ) dias, a mesma característica avaliada para o genótipo suscetível demonstra que esse período era concluído em 46,4 ( $\pm 4,18$ ) dias, havendo um atraso na maturação do *M. fimbriolata* no genótipo resistente. Ao concluir esta etapa, os adultos recém emergidos eram transferidos para novas plantas do mesmo genótipo que viveram e concluíram seu ciclo de vida em nessa nova planta, em todo o processo um único inseto foi colocado por planta, eliminando-se o efeito de competição entre insetos até a morte do indivíduo, a sobrevivência média dos adultos machos no genótipo resistente foi de 12,2 ( $\pm 3,25$ ) dias e no genótipo suscetível de 16,53 ( $\pm 6,26$ ) dias. Verificando-se a redução do estágio adulto do inseto no genótipo resistente.

Para as fêmeas, tanto a fase de ninfa 49,06 ( $\pm 3,97$ ), 48,53 ( $\pm 4,13$ ) dias, como adulta, 15,53 ( $\pm 5,89$ ) e 13,53 ( $\pm 5,99$ ) dias nos genótipos resistente e suscetível respectivamente não acusaram interferência dos genótipos na sobrevivência do inseto.

Segundo Gossain et al. (2005), características físicas, morfológicas e químicas podem causar efeitos negativos no comportamento do pulgão verde em plantas de trigo, além de interferir na sua competitividade.

Estes dados indicam que o efeito de antibiose do genótipo H kawandang é mais evidente contra o macho da *M. fimbriolata*.

#### 4- Conclusões:

- Mais de um mecanismo explica a resistência da cana-de-açúcar contra a *M. fimbriolata*;
- O genótipo RB00-8026 é tolerante a *M. fimbriolata*;
- O genótipo H kawandang apresenta antibiose e antixenose contra a *M. fimbriolata*;
- O genótipo H kawandang apresenta respostas induzidas nos diferentes tecidos vegetais, sendo portanto um genitor promissor, a ser utilizado no programa de melhoramento da cana-de-açúcar contra cigarrinha-das-raízes.

#### 5- Bibliografia:

ASSIS, C. **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, 2014

BATISTA, E.; AUAD, A.M.; BRAGA, A.L.F.; FERREIRA, R.B.; HALLACK, N.M.R. Aspectos do Comportamento da Cigarrinha-das-Pastagens *Mahanarva spectabilis* (Distant) (Hemiptera: Cercopidae) na Produção de Espuma. **EntomoBrasilis**, 3(2): 25-28, 2010.

BRODBECK, B.V.; ANDERSEN, P.C.; MIZELL, R.F. Effects of total dietary nitrogen and nitrogen form on the development of xylophagous leafhoppers. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, 42:37–50, 1999.

CARDONA, C.; MILES, J.W.; SOTELO, G. An improved methodology for massive screening of *Brachiaria* spp. genotypes for resistance to *Aeneolamia varia* (Homoptera: Cercopidae). **Journal of economic entomology**, v.92, p.490-496, 1999.

COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO DO ESTADO DE MINAS GERAIS – CFSEMG. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais – 5ª aproximação**. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa, 1999. 359 p.

- CRAWLEY, M. J. **The R book**.. John Wiley & Sons Ltd, 2007.
- CRUZ, C.D. GENES - A software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**. v.35, n.3, p.271-276, 2013
- DAVIS, F.M. Entomological techniques and methodologies used in research programmes on planr resistance to insects, **Insect Sci Appl.**, 6, 391. 1985.
- DINARDO-MIRANDA, L.L.; GARCIA, V.; PARAZZI, J.V. Efeito de inseticidas no controle de Mahanarva fimbriolata (Stål) (Hemiptera: Cercopidae) e de nematóides fitoparasitos, na qualidade tecnológica e na produtividade da cana-de-açúcar. **Neotrop Entomol** 31:609–614. 2002
- DINARDO-MIRANDA, L.L.; COELHO, A.L.; FERREIRA, J.M.G. Influência da época de aplicação de inseticidas no controle de Mahanarva fimbriolata (Stål) (Hemiptera: Cercopidae), na qualidade e na produtividade da cana-de-açúcar. **Neotrop Entomol** 33:91–98. 2004
- DINARDO-MIRANDA, L.L.; GIL, M.A. Estimativa do nível de dano econômico de Mahanarva fimbriolata (Stål) (Hemiptera: Cercopidae) em cana-de-açúcar. **Bragantia** 66:81–88. 2007
- DINARDO-MIRANDA, L.L.; VASCONCELOS, A.C.M.; VIEIRA, S.R.; FRACASSO, J.V.; GREGO, C.R. Uso da geoestatística na avaliação da distribuição espacial de Mahanarva fimbriolata em cana-de-açúcar. **Bragantia** 66: 449–455. 2007
- DINARDO-MIRANDA, L.L.; PIVETTA, J.P., FRACASSO, J.V. Economic injury level for sugarcane caused by the spittlebug Mahanarva fimbriolata (Stål) (Hemiptera: Cercopidae). **Sci Agric** 65:16–24. 2008
- DINARDO-MIRANDA, L.L.; FRACASSO, J.V. Sugarcane straw and the populations of pests and nematodes. **Sci Agric** 70:305–310. 2013
- DINARDO-MIRANDA, L.L.; COSTA, V.P.; FRACASSO, J.V.; PERECIN, D.; OLIVEIRA, M.C.; IZEPI, T.S.; LOPES, D.O.P., Resistance of Sugarcane Cultivars to Mahanarva fimbriolata (Stål) (Hemiptera: Cercopidae) **Neotrop Entomol** 43:90–95 DOI 10.1007/s13744-013-0182-9. 2014
- FEWKES, D.W. The biology of sugarcane froghoppers. In: Williams, J.R. et al. (Ed.) **Pests of sugarcane**. Amsterdam: **Elsevier Publishing**, p. 281-307. 1969.
- FLOSS, E. **Fisiologia das plantas cultivadas: o estudo que está por trás do que se vê**. 4° ed. Passo Fundo: UPF, 733p. 2008.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BATISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIN, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R. S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**, Piracicaba: FEALQ, 920 p, 2002.

- GARCIA, J.F. **Técnica de criação e tabela de vida de Mahanarva fimbriolata (Stal, 1854) (Hemiptera:Cercopidae)**. Dissertação (Mestrado em Ciências: Entomologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 59p. 2002
- GARCIA, J.F.; BOTELHO, P.S.M.; PARRA, J.R.P. Laboratory rearing technique off Mahanarva fimbriolata (Stål) (Hemiptera: Cercopidae). **Scientia agrícola**, v.64, p.73-76; 2007.
- GOSSAIN, M.M; PRADO, E; MORAES, J.C. Effect of Silicon Applied to Wheat Plants on the Biology and Probing Behavior of the Greenbug Shizaphis graminum (Rond.) (Hemiptera: Aphididae). **Neotropical Entomology** 34: 807-813, 2005.
- GUIMARÃES, E.R.; MUTTON, M.A.; MUTTON, M.J.R.; FERRO, M.I.T.; RAVANELI, G.C.; DA SILVA, J.A. Free proline accumulation in sugarcane under water restriction and spittlebug infestation. **Sci. Agric.**, 65(6): 628-633, 2008 a.
- GUIMARÃES, E.R.; MUTTON, M.A.; FERRO, M.I.T.; DA SILVA, J.A.; MUTTON, M.J.R. Níveis constitutivos de compostos fenólicos podem estar relacionados à resistência da cana-de-açúcar à cigarrinha-das-raízes. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, 1(3): 357-365, 2008 b.
- KATO, K. Origin and composition of spittle made by spittlebugs. **Sci. Repts. Saitama Univ. Ser. B.**, 3(1): 33-53, 1958.
- KARNOVSKY, M.J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, v. 27, p. 137-138, 1965.
- LEITE, D.C.C. **Modificações da parede celular durante a formação do aerênquima em raízes de cana-de-açúcar**. 2013. 106 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2013.
- MACEDO, N.; MACEDO, D. As pragas de maior incidência nos canaviais e seus controles. **Visão agrícola**, v. 1, p. 38-46, 2004.
- MAFFEI, M.E.; MITHÖFER, A.; BOLAND, W. Before gene expression: early events in plant–insect interaction. **Trends in Plant Science**, 12(7): 310-316, 2007.
- MARSHALL, A.T. Batelli glands of cercopoid nymphs (Homoptera). **Nature**, 205: 925, 1965.
- MELLO, M.O. & SILVA-FILHO, M.C. Plant-insect interactions: an evolutionary arms race between two distinct defense mechanisms. **Brazilian Journal of Plant Physiology.**, 14(2):71-81, 2002.

- MENDONÇA, A.F.; MENDONÇA, I.C.B.R. Cigarrinha da raiz *Mahanarva fimbriolata* (Hemíptera: Cercopidae). In: Mendonça, A.F. (Ed.) **Cigarrinhas da cana-de-açúcar**. Controle biológico. Maceió: Insecta, Cap. 3. p. 95-200. 2005.
- NUTT, K.A.; O'SHEA, M.G.; ALLSOPP, P.G. Feeding by sugarcane whitegrubs induces changes in the types and amounts of phenolics in the roots of sugarcane. **Environmental and Experimental Botany**, 51: 155–165, 2004.
- O'BRIEN, T. P.; MUCCULLY, M.E. **The study of plant structure principles and selected methods**. Melbourne – Australia: Termarcaphi Pty Ltd., 45 p., 1981.
- PABÓN VALVERDE, A.H. **Screening for resistance and identification of tolerance in sugarcane genotypes to spittlebug *Mahanarva fimbriolata***. 2012. 58 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2012.
- PAINTER, R.H., **Insect Resistance in Crop Plants**, Macmillan, New York, p-520, 1951
- PARSA, S.; SOTELO, G.; CARDONA, C. Characterizing herbivore resistance mechanisms: spittlebugs on *Brachiaria* spp. as an example. **Journal of Visualized Experiments**, 2011.
- PENATTI, C. **Cigarrinha das raízes da cana-de-açúcar**. Coplana: 24-25, 2006.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 25. 2012. ISBN 3-900051-07-0.
- RAVANELI, G.C.; GARCIA, D.B.; MADALENO, L.L.; MUTTON, M.A.; STUPIELLO, J.P.; MUTTON, M.J.R. Spittlebug impacts on sugarcane quality and ethanol production. **Pesquisa agropecuária brasileira**, 46(2): 120-129, 2011.
- SANTIAGO, R.; BARROS-RIOS, J.; MALVAR, R.A. Impact of cell wall composition on maize resistance to pests and diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, 14: 6960-6980, 2013.
- SIYIANNIS, V.F.; PROTONOTARIOS, V.E.; ZECHMANN, B.; CHORIANOPOULOU, S.N.; MÜLLER, M.; HAWKESFORD, M.J.; BOURANIS, D.L. Comparative spatiotemporal analysis of root aerenchyma formation processes in maize due to sulphate, nitrate or phosphate deprivation. **Protoplasma**, 249:671–686, 2012.
- SILVA, R.J.N. da; GUIMARÃES, E.R.; GARCIA, J.F.; BOTELHO, P.S.M.; FERRO, M.I.T., MUTTON, M.A., MUTTON, M.J.R. Infestation of froghopper nymphs changes the amounts of total phenolics in sugarcane. **Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)**, 62(6): 543-546, 2005.

SILVA, L.M.; ALQUINI, Y.; CAVALLET, V.J. Inter-relações entre a anatomia vegetal e a produção vegetal. **Acta Botanica Brasilica** 19(1): 183-194, 2005a.

SMITH, C.M.; KHAN, Z.R.; PATHAK, M.D. Techniques for evaluating insects resistance in crop plants. Library of Congress Cataloging in Publication Data. p- 320. 1994.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3<sup>o</sup> ed. Artmed, Porto Alegre, 719p., 2004.

THIMMAIAH, K.K.; PANCHAL, Y.C.; KADAPA, S.N.; PRABHAKAR, A.S.N. Comparative anatomical studies in insect pest resistant and susceptible cotton genotypes. **Journal of Agricultural Science**, 7(4): 410-416, 1994.

THOMPSON, V. Associative nitrogen fixation, C4 photosynthesis, and the evolution of spittlebugs (Hemiptera: Cercopidae) as major pests of neotropical sugarcane and forage grasses. **Bulletin of Entomological Research**, 94:189–200, 2004.

VALÉRIO, J.R. **Cigarrinhas–das-pastagens**. Vol. 1. Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, 51p. 2009.

VERONESE, P.; RUIZ, M.T.; COCA, M.A.; LEE, H.; IBEAS, J.I.; DAMZ, B.; PARDO, J.M.; HASEGAWA, P.M.; BRESSAN, R.A.; NARASIMHAN, M.L. In defense against pathogen: both plant sentinels and foot soldiers need to know the enemy. **Plant Physiology** 131: 1580-1590, 2003.

XU, Q.T.; YANG, L.; ZHOU, Z.Q.; MEI, F.Z.; QU, L.H.; ZHOU, G.S. Process of aerenchyma formation and reactive oxygen species induced by waterlogging in wheat seminal roots. **Planta**, 238:969–982, 2013.

YIN, D.; CHEN, S.; CHEN, F.; JIANG, J. Ethylene promotes induction of aerenchyma formation and ethanolic fermentation in waterlogged roots of *Dendranthema* spp. **Molecular Biology Reports**, 40:4581–4590, 2013.

### **Conclusões Gerais:**

- O dano para ninfa ocorre quando pelo menos 4 indivíduos atacam o genótipo suscetível de cana-de-açúcar e é identificado aos 16,6 dias após infestação
- O dano para adulto ocorre quando pelo menos 6 indivíduos atacam o genótipo suscetível de cana-de-açúcar e é identificado aos 14,9 dias após infestação
- Escala de dano visual, razão matéria seca/material fresca e sobrevivência dos insetos são bons indicadores para determinar a resistência e suscetibilidade da cana-de-açúcar contra *Mahanarva fimbriolata*
- Foram identificados mecanismos de antibiose, antixenose e tolerância da cana-de-açúcar contra *Mahanarva fimbriolata*
- O genótipo silvestre H Kawandang apresentou antibiose com produção de compostos mucilaginosos na raiz e aumento no teor de lignin no colmo