



SANDRA ELISA BARBOSA DA SILVA

**INTERAÇÃO DE *Mahanarva spectabilis* (DISTANT, 1909) E
FORRAGEIRAS: DESEMPENHO BIOLÓGICO E
PREFERÊNCIA ALIMENTAR**

**LAVRAS - MG
2018**

SANDRA ELISA BARBOSA DA SILVA

**INTERAÇÃO DE *Mahanarva spectabilis* (DISTANT, 1909) E FORRAGEIRAS:
DESEMPENHO BIOLÓGICO E PREFERÊNCIA ALIMENTAR**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, área de concentração em Entomologia, para a obtenção do título de Doutora.

Prof. Dr. Stephan Malfitano Carvalho
Orientador
Dr. Alexander Machado Auad
Coorientador

**LAVRAS - MG
2018**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Silva, Sandra Elisa Barbosa da.

Interação de *Mahanarva spectabilis* (Distant, 1909) e
forrageiras: desempenho biológico e preferência alimentar / Sandra
Elisa Barbosa da Silva. - 2018.

66 p. : il.

Orientador(a): Stephan Malfitano Carvalho.

Coorientador(a): Alexander Machado Auad.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2018.

Bibliografia.

1. Resistência de plantas. 2. Cigarrinhas-das-pastagens. 3.
Voláteis de plantas. I. Carvalho, Stephan Malfitano. II. Auad,
Alexander Machado. III. Título.

SANDRA ELISA BARBOSA DA SILVA

**INTERAÇÃO DE *Mahanarva spectabilis* (DISTANT, 1909) E FORRAGEIRAS:
DESEMPENHO BIOLÓGICO E PREFERÊNCIA ALIMENTAR**

**INTERACTION OF *Mahanarva spectabilis* (DISTANT, 1909) AND FORAGES:
BIOLOGICAL PERFORMANCE AND FEEDING PREFERENCE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, área de concentração em Entomologia, para a obtenção do título de Doutora.

APROVADA em 16 de março de 2018

Prof. Dr. Bruno Henrique Sardinha de Souza UFLA

Prof. Dr. Diogo Montes Vidal UFMG

Dr. Rogério Antônio Silva EPAMIG - Sul de Minas

Prof. Dr. Stephan Malfitano Carvalho
Orientador

Dr. Alexander Machado Auad
Coorientador

**LAVRAS – MG
2018**

A Deus, porque Dele, por meio Dele e para Ele são todas as coisas.

*Aos meus pais Sonia (em memória) e José e a meu irmão Leandro
pelo amor, cuidado e incentivo a mim sempre dados.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

Uma das poucas certezas que tenho na vida é a de que ninguém constrói nada sozinho. Portanto, agradeço a todos aqueles que direta ou indiretamente colaboraram de alguma forma com esta etapa da minha vida, em especial:

A Deus por me cercar com amor e cuidado em todos os momentos da minha vida. Por abençoar minhas escolhas e planos e conduzir meus passos com segurança e tranquilidade.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Entomologia pela oportunidade de cursar o doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudo.

À Embrapa Gado de Leite de Juiz de Fora pela concessão de espaço físico e recursos financeiros para a condução dos experimentos.

Ao professor Stephan Malfitano Carvalho por sua compreensão e colaboração em tudo que foi possível.

Ao professor Jair Campos Moraes por todo apoio e colaboração dispensados a mim e a meu trabalho durante todo o doutorado.

Ao meu coorientador Alexander Machado Auad, o qual minha eterna admiração e estima não poderiam ser descritas aqui. Mestre, amigo e pai, com quem aprendi a desenvolver amor pela pesquisa. Agradeço por ter me acompanhado em todo o percurso desta pesquisa e pela sua competência, dedicação e entusiasmo que tanto me ajudou durante este tempo. Agradeço por ter contribuído grandemente para que esta fase não se tornasse como um fardo. Sobretudo, agradeço pelo apoio, carinho e amizade tão essenciais em minha vida e por todas as vezes que me ouviu e incentivou. Sou eternamente grata por tudo que você representa pra mim.

Aos doutores Diogo Montes Vidal, Bruno Henrique Sardinha de Souza e Rogerio Antônio da Silva por aceitarem prontamente ao convite para participarem da banca e por suas contribuições para este trabalho e minha vida acadêmica.

À amiga Roberta que se tornou ainda mais especial na minha vida e que sem dúvida foi a melhor companheira de doutorado que eu poderia ter tido, me acompanhando, ensinando, aconselhando, ouvindo e me ajudando em todos os momentos. Guardarei para sempre esta amizade e parceria.

Aos amigos do Laboratório de Entomologia da Embrapa Gado de Leite Daniela, Iris, Bruno, Tiago, Thiago, Cristiane, Marcelle, Giani, Siloé, Brunno, Marlene e Milena por todo apoio dado e principalmente pela convivência sempre tão agradável.

À Nayana e aos professores Francisco de Assis Marques e Noemi Nagata pela colaboração na parte de identificação de compostos químicos.

À Marcy, pela amizade, incentivo, por todo seu ensinamento e ajuda na parte de coleta de voláteis, bem como em todos os outros momentos em que precisei.

Aos amigos de curso André, Ivana e Willian que sempre estiveram dispostos a me ouvir e ajudar. Agradeço especialmente à amiga Paula que se fez tão presente durante todo este período e enriqueceu muito minha vida com sua amizade e companheirismo, mesmo estando distante.

Ao meu pai José e meu irmão Leandro por serem meu porto seguro e pelo amor infinito, companheirismo, apoio constante nas minhas escolhas e pela torcida tão singular. À minha querida mãe Sonia, que infelizmente não pode contemplar com seus olhos, um dos frutos do seu incansável trabalho para moldar meu caráter, e nem a concretização de sonhos que sonhávamos juntas, mas que ainda hoje me ensina que o amor continua aquecendo o coração e nos impulsionando, quando o mantemos vivo dentro de nós.

A todos os meus amigos, que foram compreensivos com meus momentos de ausência sem nunca deixarem de demonstrar o lugar que eu tinha na vida deles. Poder contar com cada um fez os meus dias serem melhores.

MUITO OBRIGADA!

RESUMO GERAL

Mahanarva spectabilis (Distant, 1909) é considerada praga limitante sobre a produção de gramíneas forrageiras no Brasil. O presente estudo avaliou a influência de diferentes forrageiras no desempenho biológico, preferência alimentar e resposta olfativa de *M. spectabilis*. Aspectos biológicos e preferência alimentar (com chance de escolha) de *M. spectabilis* foram avaliados em casa de vegetação; e preferência alimentar (sem chance de escolha) em laboratório. No campo, plantas com massa de espuma de ninfas foram amostradas. Respostas olfativas de *M. spectabilis* foram avaliadas em olfatômetro “Y”, para forrageiras sem e com injúria de *M. spectabilis* e seus extratos. Por fim, foi realizada análise química dos compostos liberados pelas forrageiras com e sem injúria. Foram constatadas diferenças significativas no desempenho biológico de *M. spectabilis* nas diferentes forrageiras havendo menor sobrevivência ninfal em Capim Gordura, Jaraguá, Tanzânia e Makueni e menor longevidade e fertilidade dos adultos em *Cynodon* e *Brachiaria decumbens* Stapf. Nos testes de preferência alimentar com chance de escolha houve maior atratividade à *B. decumbens* e Jaraguá e no teste sem chance de escolha, a taxa de excreção foi menor em Tanzânia, *Cynodon*, Jaraguá, *Brachiaria brizantha* (Hochst ex A. Rich) Stapf. Em experimento de campo, maior número de massa de espuma com ninfas foi observado em Pioneiro e Roxo de Botucatu. Em testes de olfatômetro, *M. spectabilis* mostrou preferência pelos voláteis de *B. decumbens* e Pioneiro sem injúria e repelência para os voláteis de *B. brizantha* com injúria de coespecíficos. As análises do perfil químico dos compostos orgânicos das forrageiras mostraram que há diferença entre as emissões de voláteis de plantas sem e com injúria de *M. spectabilis*, sendo que plantas com injúria emitiram maior número de compostos em comparação às plantas não atacadas. Com a presente pesquisa é possível registrar que as forrageiras Capim gordura, Tanzânia, Makueni e Jaraguá são as que menos favorecem a alimentação e desenvolvimento de *M. spectabilis*, apresentando potencial de uso como plantas resistentes à *M. spectabilis*, inclusive na diversificação de plantas. Além disso, *M. spectabilis* utiliza pistas químicas das plantas na escolha de hospedeiros, o que pode contribuir na adoção de estratégias de manejo integrado desta praga, especialmente com a utilização de compostos que repelem a praga.

Palavras-chave: Resistência de plantas. Cigarrinha-das-pastagens. Comportamento alimentar. Voláteis de planta.

GENERAL ABSTRACT

Mahanarva spectabilis (Distant, 1909) is a pest that limits the production of forage grass in Brazil. Current study evaluated the influence of different forage grass on biological performance, feed preference and olfactory response of *M. spectabilis*. Biological aspects and food preference (free choice) of *M. spectabilis* were evaluated in a greenhouse; and food preference (without choice) in the laboratory. In the field, forages with spittle masses were sampled. Olfactory responses of *M. spectabilis* were evaluated in "Y" olfactometer, for forages without and with *M. spectabilis* injury and its extracts. Finally, a chemical analysis of the compounds released by forages with and without injury was conducted. Significant differences in the biological performance of *M. spectabilis* have been registered in different foragers, with lowest nymphal survival rate in Capim Gordura, Jaraguá, Tanzânia and Makueni and low adult longevity and fertility in Cynodon and *Brachiaria decumbens* Stapf. Feed preference tests with choice revealed greater attractiveness to *B. decumbens* and Jaraguá, whereas excretion rate was lower for Tanzânia, Cynodon, Jaraguá and *Brachiaria brizantha* (Hochst ex A. Rich) Stapf in the test without choice. Field experiment demonstrated high amounts of foam with nymphs in Pioneiro and Roxo de Botucatu. In Olfactometer tests, *M. spectabilis* showed preference for volatiles of *B. decumbens* and Pioneiro without injury, and repellency for volatiles of *B. brizantha* with injury of co-specifics. Analyses of the chemical profile of forage organic compounds showed that emissions of plant volatiles with and without injury by *M. spectabilis* are different. Plants with injury emitted a greater number of compounds when compared to non-injured plants. Current research underscores that forage grasses Capim gordura, Tanzânia, Makueni and Jaraguá inhibit feed and the development of *M. spectabilis*, and thus the capacity of using them as plants resistant to *M. spectabilis*, including in plant diversification. Further, *M. spectabilis* employs the plants' chemical clues in its choice of hosts and may contribute towards the adoption of management strategies integrated to the pest, especially with the use of pest-repelling compounds.

Keywords: Plant resistance. Spittlebugs. Feeding behavior. Plant volatiles.

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	10
INTRODUÇÃO GERAL	10
REFERÊNCIAS	13
SEGUNDA PARTE – ARTIGOS	16
ARTIGO 1 Biological Performance and Preference of <i>Mahanarva spectabilis</i> (Hemiptera: Cercopidae) for Feeding on Different Forage Plants.....	16
Abstract.....	17
Introduction	17
Materials and Methods	19
Results	22
Discussion.....	24
Acknowledgments	29
References Cited.....	30
ARTIGO 2 Interação de <i>Mahanarva spectabilis</i> (Hemiptera: Cercopidae) e forrageiras é mediada por compostos orgânicos voláteis?	39
Resumo	40
Abstract.....	41
Introdução.....	41
Material e métodos	43
Resultados.....	48
Discussão.....	49
Agradecimentos	56
Referências	56

PRIMEIRA PARTE

INTRODUÇÃO GERAL

A pecuária bovina é um dos setores mais importantes do agronegócio brasileiro e consequentemente da economia nacional. Dados da United States Department of Agriculture (USDA) (2017) mostram que o país está entre os principais produtores de carne e leite do mundo, além de ser um dos principais exportadores de carne. Uma característica importante da pecuária brasileira é que a maior parte do seu rebanho tem como fonte principal de alimento as forrageiras (FERRAZ; FELICIO, 2010), que constitui a forma mais econômica e prática de produzir e oferecer alimentos para bovinos. No entanto, boa parte da produção dessa cultura é perdida anualmente em decorrência do ataque de cigarrinhas-das-pastagens, sua principal praga.

Em decorrência de sua forma de alimentação, através da sucção de seiva, ninfas e adultos das cigarrinhas-das-pastagens são capazes de causar prejuízos consideráveis às pastagens (OLIVEIRA; ALVES, 1988). Injúrias causadas pelos adultos são mais severas, pois a alimentação envolve a inoculação de toxinas presentes na saliva, que causam fitotoxemia na planta, o que afeta negativamente a atividade fotossintética, resultando na queima das pastagens, e em alguns casos na morte das plantas (BYER; WELLS, 1966). Desta forma, o ataque severo e por tempo prolongado das cigarrinhas-das-pastagens afetam significativamente a produção e qualidade da forragem (AGUIRRE et al., 2012).

Várias espécies de cigarrinhas-das-pastagens têm sido reportadas como problema relevante para a bovinicultura em toda a América tropical (VALÉRIO; NAKANO, 1988), por levarem a danos nas pastagens que resultam em grandes prejuízos econômicos (THOMPSON, 2004). No Brasil, *Mahanarva spectabilis* (Distant, 1909) (Hemiptera: Cercopidae) é apontada como praga limitante à produção de gramíneas forrageiras (AUAD et al., 2007), causando severos ataques nessas plantas, ameaçando assim, a cadeia produtiva de carne e leite.

No que se refere ao controle dessa praga, a resistência de plantas tem sido considerada como o método mais viável de controle, por ser um método eficiente, com custos relativamente mais baixos (CARDONA et al., 1999) e de fácil aceitação e adoção entre os produtores (KOLLER; VALÉRIO, 1987). Outra vantagem é que esse método de controle pode ser usado juntamente com outras formas de controle, como o biológico e o cultural, contribuindo assim, para o manejo integrado da praga (VALÉRIO et al., 2001).

A resistência de plantas é definida como a soma relativa de qualidades hereditárias apresentadas por elas, que influenciam a intensidade do dano provocado pelo inseto (PAINTER, 1968). Desta forma, as plantas podem se proteger do ataque de insetos herbívoros através de defesas que podem ser constitutivas, quando expressas de forma natural e contínua pela planta, ou induzidas pela herbivoria, sendo expressas somente após a ocorrência da injúria (KARBAN; BALDWIN, 1997). Estas defesas podem servir para confrontar os herbívoros diretamente, afetando a sua preferência por plantas hospedeiras (antixenose ou não preferência) ou seu desempenho (antibiose), influenciando aspectos de sua biologia, tais como sobrevivência e sucesso reprodutivo. Tais defesas podem ser caracterizadas pela presença de estruturas morfológicas da planta, tais como tricomas, espinhos e dureza foliar que atuam de forma negativa sobre o inseto, ou por compostos químicos que podem ter efeito tóxico, repelentes e ou antinutricionais nos herbívoros (KOST; HEIL, 2005; WAR et al., 2012).

Um dos mecanismos de defesa química das plantas contra insetos herbívoros envolve a liberação de misturas de compostos orgânicos voláteis (COVs) que podem mediar diferentes interações da planta com os outros organismos presentes no ambiente. Uma importante característica desses compostos é que eles podem estar envolvidos na orientação de herbívoros a plantas favoráveis à alimentação e oviposição (VISSER, 1986), bem como desempenhar função direta na resistência das plantas, repelindo herbívoros tanto para alimentação (BERNASCONI et al., 1998; VANCANNEYT et al., 2001; AHARONI et al., 2003; LAOTHAWORNKITIKUL et al., 2008) quanto para oviposição (WHANG et al., 2008). Dessa forma, os voláteis das plantas podem desempenhar um importante papel na resistência de plantas pelo mecanismo de antixenose ou não preferência.

Um grande número de estudos tem reportado resistência por antibiose de forrageiras a diferentes espécies de cigarrinhas-das-pastagens (VALÉRIO et al., 1997, AUAD et al., 2007, LOFEZ et al., 2009; CARDONA et al., 2010; SOUZA SOBRINHO; AUAD; LÉDO, 2010; AGUIRRE et al., 2012; FERREIRA et al., 2013). No entanto, para *M. spectabilis* os estudos são mais escassos, principalmente se tratando do efeito das forrageiras na biologia de adultos. Além disso, até o momento não há conhecimento sobre a antixenose das forrageiras a essa espécie de cigarrinha. Outro fato também desconhecido é o papel dos compostos orgânicos voláteis na resistência de plantas forrageiras e suas possíveis interações com as cigarrinhas-das-pastagens.

A diversificação de pastagens com utilização de forrageiras resistentes tem sido considerada como o melhor método para o controle das cigarrinhas-das-pastagens (VALÉRIO, 2009). A compreensão das relações entre desempenho e preferência de *M.*

spectabilis por forrageiras é de suma importância para o processo de adoção de diversificação de pastagens na pecuária bovina, pois através dessa compreensão é possível entender melhor a distribuição e abundância da população dos insetos em campo, o que auxiliará na escolha de plantas que não favoreçam a presença do inseto e que possam ser escolhidas para a diversificação, de modo a reduzir significativamente os prejuízos ocasionados pela praga. Além disso, a identificação de compostos químicos que medeiam a comunicação química entre estes insetos e as plantas apresenta grande potencial no manejo integrado das cigarrinhas-das pastagens.

Buscando compreender aspectos relacionados à resistência das diferentes forrageiras, dois fatores foram investigados neste estudo: a influência das forrageiras no desempenho biológico e preferência alimentar de *M. spectabilis*, e as respostas olfativas dos insetos às forrageiras, considerando os compostos químicos atuantes no comportamento de escolha de *M. spectabilis* pelas plantas. Assim a presente tese foi dividida em dois capítulos intitulados: Desempenho biológico e preferência de *Mahanarva spectabilis* (Hemiptera: Cercopidae) para alimentação em diferentes plantas forrageiras, e Interação de *Mahanarva spectabilis* (Hemiptera: Cercopidae) e forrageiras é mediada por compostos orgânicos voláteis?

REFERÊNCIAS

- AHARONI, A.; GIRI, A. P.; DEUERLEIN, S.; GRIEPINK, F.; DE KOGEL, W. J.; VERSTAPPEN, F. W.; BOUWMEESTER, H. J. Terpenoid metabolism in wild-type and transgenic *Arabidopsis* plants. **The Plant Cell**, Waterbury, v. 15, n. 12, p. 2866-2884, 2003.
- AUAD, A. M.; SIMÕES, A. D.; PEREIRA, A. V.; BRAGA, A. L. F.; SOBRINHO, F. S.; LÉDO, F. J. S.; PAULA-MORAES, S. V.; OLIVEIRA, S. A.; FERREIRA, R.B. Seleção de genótipos de capim-elefante quanto à resistência à cigarrinha-das-pastagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 8, p. 1077-1081, 2007.
- AGUIRRE, L. M.; CARDONA, C.; MILES J. W.; SOTELO, G. Characterization of resistance to adult spittlebugs (Hemiptera: Cercopidae) in *Brachiaria* spp. **Journal of economic entomology**, Oxford, v. 106, n. 4, p. 1871-1877, 2012.
- BERNASCONI, M. L.; TURLINGS, T. C.; AMBROSETTI, L.; BASSETTI, P.; DORN, S. Herbivore-induced emissions of maize volatiles repel the corn leaf aphid, *Rhopalosiphum maidis*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrech v. 87, n. 2, p. 133-142, 1998.
- BYERS, R. A.; WELLS, H. D. Phytotoxemia of coastal bermuda grass caused by the two-lined spittlebug, *Prosapia bicincta* (Homoptera: Cercopidae). **Annals of Entomological Society of America**, Oxford, v. 59, n. 6, p. 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**, Oxford, v. 92, n. 2, p. 490-496, 1999.
- CARDONA, C.; MILES, J. W.; ZUÑIGA, E.; SOTELO, G. Independence of resistance in *Brachiaria* spp. to nymphs or to adult spittlebugs (Hemiptera: Cercopidae): implications for breeding for resistance. **Journal of economic entomology**, Oxford, v.103, n5, p. 1860-1865, 2010.
- FERRAZ, J. B. S.; FELÍCIO, P. E. de. Production systems—An example from Brazil. **Meat Science**, Amsterdã, v. 84, n. 2, p. 238-243, 2010.
- FERREIRA, R. B.; MORAES, J. C.; AUAD; A. M.; FONSECA M. G. Interaction of spittlebug and forage grass under different carbon dioxide concentrations. **Journal of Pest Science**, Berlin, v.86: n., p.161-166, 2013..
- KARBAN, R.; BALDWIN, I. T. **Induce responses to herbivory**. Chicago: Ed. University of Chicago Press, 1997.
- KOLLER, W. W.; VALÉRIO, J. R. Preferência de cigarrinhas-das-pastagens por plantas de *Brachiaria decumbens* Stapf cv. Basilisk com diferentes características morfológicas. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Natal, v. 16, p. 131-143, 1987.
- KOST, C.; HEIL, M. Increased availability of extrafloral nectar reduces herbivory in Lima bean plants (*Phaseolus lunatus*, Fabaceae). **Basic and Applied Ecology**, Amsterdã, v. 6, n. 3, p. 237-248, 2005.

- LAOTHAWORNKITKUL, J.; PAUL, N. D.; VICKERS, C. E.; POSSELL, M.; TAYLOR, J. E.; MULLINEAUX, P. M.; HEWITT, C. N.. Isoprene emissions influence herbivore feeding decisions. **Plant, Cell & Environment**, Hoboken, v. 31, n. 10, p. 1410-1415, 2008.
- LÓPEZ, F.; CARDONA, C.; MILES, J. W.; SOTELO, G.; MONTOYA, J. Screening for resistance to adult spittlebugs (Hemiptera: Cercopidae) in *Brachiaria* spp.: methods and categories of resistance. **Journal of Economic Entomology**, Oxford, v. 102, n. 3, p. 1309-1316, 2009.
- OLIVEIRA, M. A. S.; ALVES, P. M. P. **Novas opções de gramíneas no controle da cigarrinha-das-pastagens em Rondônia**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-EMBRAPA-UEPAE, Porto Velho, 1988.
- PAINTER, R. H. **Insect resistance in crop plants**. Lawrence: Ed. University Press of Kansas, 1968.
- SOUZA SOBRINHO, F.; Auad, A. M.; Lédo, F. J. S. Genetic variability in *Brachiaria ruziziensis* for resistance to spittlebugs. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 10, n. 1, p. 83-88, 2010.
- 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**, Cambridge, v. 94, n. 03, p. 189-200, 2004.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). Foreign agricultural service. Disponível em: <<http://apps.fas.usda.gov/pdsonline/>>. Acesso em 6 ago 2017.
- VALÉRIO, J.R.; CARDONA, C.; PECK, D.C.; SOTELO, G. **Spittlebugs: bioecology, host plant resistance and advances in IPM**. In: Proceeding, 19th International Grassland Congress. São Pedro: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiróz (FEALQ), 2001, p. 217-221.
- VALÉRIO, J. R.; JELLER, H.; PEIXER, J. Selection of introductions of the genus *Brachiaria* (Griseb) resistant to the spittlebug *Zulia entreriana* (Berg) (Homoptera: Cercopidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 26, n. 2, p. 383-387, 1997.
- VALÉRIO, J.R. **Cigarrinhas-das-pastagens**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Gado de corte, Campo Grande, 2009.
- VALÉRIO, J. R.; NAKANO, O. Danos causados pelo adulto da cigarrinha *Zulia entreriana* na produção e qualidade de *Brachiaria decumbens*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 5, p. 447-453, 1988.
- VANCANNEYT, G.; SANZ, C.; FARMAKI, T.; PANEQUE, M.; ORTEGO, F.; CASTAÑERA, P.; SÁNCHEZ-SERRANO, J. J. Hydroperoxide lyase depletion in transgenic potato plants leads to an increase in aphid performance. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 98, n. 14, p. 8139-8144, 2001.
- VISSER, J. H. Host odor perception in phytophagous insects. **Annual Review of Entomology**, v. 31, n. 1, p. 121-144, 1986.

WANG, H.; GUO, W. F.; ZHANG, P. J.; Wu, Z. Y.; Liu, S. S. Experience-induced habituation and preference towards non-host plant odors in ovipositing females of a moth. **Journal of Chemical Ecology**, Berlin, v.34, n.3, 330-338, 2008.

WAR, A. R.; PAULRAJ, M. G.; AHMAD, T.; BUHROO, A. A.; HUSSAIN, B.; IGNACIMUTHU, S.; SHARMA, H. C. Mechanisms of plant defense against insect herbivores. **Plant Signaling & Behavior**, v. 7, n. 10, p. 1306-1320, 2012.

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS**ARTIGO 1 Biological Performance and Preference of *Mahanarva spectabilis* (Hemiptera: Cercopidae) for Feeding on Different Forage Plants**

S.E.B. Silva,¹ A. M. Auad,^{2,3} J. C. Moraes,¹ R. Alvarenga,¹ S. S. Claudino,² and T. T. Resende²

¹ Universidade Federal de Lavras, Caixa postal 3037, Cep 37200000, Lavras, MG, Brasil (sandraelisa.bio@gmail.com; jaircamposmoraes@gmail.com; r.alvarenga.ufla@gmail.com),

² Embrapa Gado de Leite, Av. Eugênio do Nascimento, 610, CEP 36038-330, Juiz de Fora, MG, Brasil

(alexander.auad@embrapa.br; siloeclaudino@gmail.com; tiago.resende@embrapa.br)

³ Corresponding author, e-mail: alexander.auad@embrapa.br

Este artigo foi escrito de acordo com o padrão de Journal of Economic Entomologia para o qual foi submetido, aceito e publicado (Journal of Economic Entomology, v.110, n.4, p. 1877-1885, 2017).

Abstract

The performance and preference of *Mahanarva spectabilis* (Distant) for feeding on different forage species were evaluated. The survival and duration of the nymphal period, longevity and fertility of adults, and food preferences (free choice) of adults of *M. spectabilis* were evaluated in a greenhouse trial, and food preferences of adults were also evaluated in laboratory tests without a choice of host plant. In the field, the numbers of plants with spittle masses were evaluated by forage sampling. Lower levels of nymph survival were observed in the greenhouse on Molasses grass, Jaraguá, Tanzânia, and Makueni. The duration of the nymphal period did not differ significantly on different forage species; however, the longevity and fertility of adults were significantly lower on Cynodon and *Brachiaria decumbens* Stapf. In the free-choice preference test, adult insects were attracted most strongly to *B. decumbens* and Jaraguá, with intermediate attraction to *Brachiaria brizantha* (Hochst ex A. Rich) Stapf and Pioneiro. In the test without host choice, insects exhibited lower excretion rates on Tanzânia, Cynodon, Jaraguá, *B. brizantha*, and Molasses grass, and those fed on Cynodon, Jaraguá, Molasses grass, and Makueni also exhibited reduced body mass. In the field, Pioneiro had the highest number of spittle masses, followed by Roxo de Botucatu. Thus, Molasses grass, Tanzânia, Makueni, and Jaraguá plants are less suitable food sources for *M. spectabilis* nymphs and adults. Additionally, although Jaraguá was less favorable to nymphs, it attracted food-seeking adults; hence, these plants have potential for use in control of *M. spectabilis*.

Key words: spittlebug, plant resistance, biology, feeding behavior

Introduction

Plant quality is extremely important in regulating herbivorous insect populations, as it influences the survival, growth, and fecundity of the insects (Awmack and Leather 2002). Insects frequently respond to the characteristics of host plants (Bernays and Chapman 1994, Schoonhoven et al. 2005) and may select those that will provide them with the best performance (Slansky 1993, Ishihara and Ohgushi 2006).

The characteristics of plants that affect the performance and preference of herbivorous insects can be determined by their concentrations of nutrients or secondary metabolites (Tremmel and Müller 2013) or by mechanical barriers on the plant, such as trichomes, which vary in distribution and density (Kennedy 2003). These effects may be positive, where plants present stimuli that help the insects to locate them, initiate and maintain feeding, and ensure

the development of the insects and their progeny through their nutritional characteristics (Fernandes et al. 2001). In contrast, the effects of the plant on an herbivorous insect can be negative when they invest in characteristics that make them resistant to insect attack (Karban and Myers 1989).

The cultivation of plants expressing some form of resistance to arthropod pests has been practiced for many centuries (Smith 2005) and can be considered as an alternative method to the use of insecticides in the control of agricultural pests. The cultivation of such plants can reduce the population of the insect pest without interfering with the environment; has a cumulative, persistent, and nonpolluting effect; does not add to production costs; and does not require farmers to have specific knowledge (Souza et al. 2012). This type of control, mainly involving the selection of forages that have antibiosis to nymphs (Valério et al. 1997, Auad et al. 2007, Cardona et al. 2010, Souza Sobrinho et al. 2010) or adults (Lofez et al. 2009, Cardona et al. 2010, Aguirre et al. 2012), is quite promising for the control of spittlebugs.

Spittlebugs are commonly distributed from the southern United States to northern Argentina (Valério et al. 2001). The occurrence of these insects is greater in the rainy season, and spittlebug eggs have developed a form of resistance, which allows them to survive during the dry season. Nymphs and adults feed mainly on the xylem of host plants; however, adults cause more severe damage because they inject toxins during feeding that interfere with photosynthetic activity (Byers and Wells 1966). The toxins can induce growth reduction and decreased dry matter production, leading to decreased forage grass quality. Spittlebugs therefore constitute key pests of forage crops and represent a significant problem for cattle farmers through-out tropical America (Valério and Nakano 1988). The damage caused by these insects varies for each species of grass, and economic losses can be alarming, depending on the region of occurrence, climatic conditions, and management approach (Bernardo et al. 2003). Estimates of the losses caused by these insects range from US\$840 million to US\$2.1 billion per year worldwide (Thompson 2004). Among the species that occur in Brazil, *Mahanarva spectabilis* (Distant) (Hemiptera: Cercopidae) is a pest that limits the production of forage grasses (Auad et al. 2007), by severely attacking plants, thereby threatening meat and milk production.

According to Valério (2009), the best method to control spittlebugs would be the diversification of pastures and use of resistant grasses; however, little progress has been made in this regard. The first step toward this approach is to understand the preferences of herbivorous insects for host plant species and how the insect's performance on these plants

could influence the distribution and abundance of the herbivore. Because the biological performance of herbivorous insects can be affected by mechanisms of antibiosis resistance, and their preference for the mechanism of antixenosis, better knowledge of these mechanisms in different forage plants can aid in the choice of species that can be diversified, leading to marked reductions in pest populations.

Based on the hypothesis that the biological performance and feeding preferences of *M. spectabilis* are influenced by the forage species offered, this study aimed to study the biological performance of *M. spectabilis* nymphs and adults and the food preferences of adults, to gain a better understanding of the effects that different forage species have on populations of this insect.

Materials and Methods

Acquisition and Maintenance of Insects and Plants

Adult *M. spectabilis* insects were collected from natural populations on *Pennisetum purpureum* Schum ‘BRS Kurumi’ plants in an experimental field of Embrapa Dairy Cattle in Coronel Pacheco, MG, Brazil. These adults were kept in the laboratory in acrylic rearing cages (30 by 30 by 60 cm) at a temperature of 25 ± 2 °C, containing elephant grass plant (*Pennisetum purpureum* Schum ‘Napier’) for feeding. The base of each cage was wrapped with gauze moistened with distilled water, which served as a substrate for oviposition. Gauzes were placed on a set of sieves and submitted to running water, leaving the eggs retained in the thinnest (400-mesh opening). Subsequently, eggs were placed in petri dishes (diameter, 9 cm) lined with filter paper and kept in an air-conditioned chamber at 25 ± 2 °C with $70\% \pm 10\%$ relative humidity (RH) and a photoperiod of 12:12 (L:D) h. The filter paper was humidified daily, and the embryonic development of the eggs observed.

The following species of forage grasses were studied for their effects on food preference and biological performance of the insects: *Pennisetum purpureum* Schum ‘Roxo de Botucatu’ and ‘Pioneiro’; *Panicum maximum* Jacq. ‘Makueni’ and ‘Tanzânia’; *Hyparrhenia rufa* (Nees) Stapf; *Melinis minutiflora* Beauv.; *Cynodon dactylon* (L.) Pers.; *Brachiaria brizantha* (Hochst ex A. Rich) Stapf; and *Brachiaria decumbens* Stapf. The *H. rufa* plant is commonly known as Jaraguá grass, and *M. minutiflora* as Molasses grass.

Elephant grass plants (*P. purpureum*) were propagated in pots containing soil using 10-cm (single node) cuttings. Makueni plants were grown from seeds from Embrapa Beef Cattle, located in the city of Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil; seeds were sown in 1-liter pots containing commercial pine bark substrate (Plantmax, Paulínia, São Paulo,

Brazil). At 30 d after the seeds were planted, seedlings were transplanted to pots like those containing the other seedlings.

Plants of the other forage species were obtained as seedlings from the experimental field of Embrapa Dairy Cattle, Coronel Pacheco, MG. Two plants of each species were transplanted into 1-liter capacity plastic pots containing soil with a clay texture (59% clay, 5% sediment, and 36% sand), which was collected in the experimental field of the Embrapa Dairy Cattle in Coronel Pacheco. All plants were maintained in a greenhouse and irrigated daily until their use in the experiments (60 d).

Bioassays

Biological Performance of *M. spectabilis* in the Greenhouse and Numbers of Plants with Spittle Masses in the Field

Evaluation of biological performance was conducted in a greenhouse at Embrapa Dairy Cattle. The mean temperature was 22 °C (minimum = 11.9 °C, maximum = 35.9 °C) and the mean RH 85% (minimum = 42.6%, maximum = 98.7%).

To evaluate the duration and survival of the *M. spectabilis* nymphal phase, 30 eggs in the last stage of development (S4) were placed at the base of the forage plants Roxo de Botucatu, Pioneiro, Makueni, Tanzânia, Cynodon, *B. brizantha*, *B. decumbens*, Jaraguá, and Molasses grass inside vases. The vases were then wrapped in a cage of voile cloth up to the height of the plant stem, to contain the nymphs within the vase. After 30 d, adult emergence was verified daily, and the duration and survival of the *M. spectabilis* nymphal stage determined. A randomized block design with five replications per forage was used. Thirty eggs were placed on each plant, with biological monitoring performed on 1,350 specimens of the insect pest in the nymphal phase.

To evaluate the fertility and longevity of *M. spectabilis* adults, newly emerged adults were separated into couples in voile cloth cages containing forage of the same species on which the nymphs developed. When there were insufficient couples, individuals were kept alone on these plants. The base of the offshoot on which the couple was placed was surrounded by gauze moistened with distilled water, serving as a substrate for oviposition. The number of eggs placed per female was evaluated, and the number of dead adults in the cages recorded daily to obtain the average longevity.

For the biological parameters of the adult phase, the design was completely randomized, with the number of repetitions varying according to the number of adults that emerged on each forage plant.

To investigate *M. spectabilis* nymph survival or no-preference for feeding on the different forage species in the field and determine the number of plants with spittle masses, samples were taken from the experimental field of the Embrapa Dairy Cattle in Coronel Pacheco, MG, at 21° 33'22" S latitude and 43° 06'15" W longitude, at a height above sea level of 414 m, from November 2015 to April 2016. The mean temperature was 25.2° C (maximum = 35.3° C, minimum = 16.9° C), and the RH 80.9% (maximum = 100%, minimum = 34%). Eight of the plants used in the other experiments were sampled (Roxo de Botucatu, Pioneiro, Tanzânia, Cynodon, *B. brizantha*, *B. decumbens*, Jaraguá, and Molasses grass). The area of the experiment was composed of plots of different cultivated forages where *M. spectabilis* infestation occurs naturally. Twenty plants of each forage species were evaluated. Each forage occupied a plot of 50 m² (5 by 10 m), with plots separated from each other by 1 m. To ensure standardized size of the forages, which already were established in the field, each shoot was cut 20 cm above ground level, 45 d before the start of the experiment.

Sampling was performed at 15 d intervals, without the removal of nymphs from the field, by counting the number of plants with spittle masses, normally located on the basal part of the plants, containing *M. spectabilis* nymphs. The experimental design was blocks subdivided according to time. In each block, 20 plants of each for-age species were randomly evaluated, totaling 160 plants per sample. During the experimental period, 12 samplings were conducted.

Preference Tests

Free Choice of Forage

The test to evaluate food preference, where *M. spectabilis* insects were provided with a choice of forage, was conducted under greenhouse conditions (mean temperature—30.2 °C; RH—79.7%).

The experimental design consisted of randomized blocks, and 10 replicates were performed. Each block consisted of a roofed house (6.40 m in width by 22 m in length by 3.50 m in height), where a plant from each of the nine forage crops was placed, with a total of nine plants per greenhouse. Plants were arranged equidistantly (70 cm apart), within a radius of 1.2 m. In the center of each greenhouse, 40 *M. spectabilis* males and 20 females captured from the field were released after 2 h without feeding.

After 0.5, 1, 5, 10, 24, and 48 h following insect release, the number of insects feeding on each plant was counted. The plants and insects were changed for each replicate experiment.

Without Choice of Forage

The food preference test without choice was performed using the adult excretion test at the Embrapa Dairy Cattle Entomology laboratory. Higher excretion suggests that the plant consumed does not contain compounds that limit the feeding of the insect.

To obtain the liquid excreted by the spittlebugs, polystyrene cages (50 ml) were used; cages were closed with Royal Pack film, which was attached to the plants by a wooden stem (30 cm). A leaf of one of the nine forage plants was placed in a small opening, between the cage and the film for spittlebug feeding (methodology adapted from Lima 2010).

A spittlebug was placed in each cage and allowed to feed for 24 h. During this period, the plants with the cages were kept in an airconditioned room at $25 \pm 2^\circ \text{C}$ and at humidity of $80 \pm 10\%$. Before being placed into cages, spittlebugs were weighed on a precision scale, and after the 24-h feeding period, they were weighed again to determine loss or gain of body mass during this period. The volume of excreted liquid was determined using an automatic pipette.

The experimental design was completely randomized with 30 replicates for each forage, and an equal number of male and female insects were used.

Statistical Analysis

Data from the biological performance and preference experiments were subjected to analysis of variance (ANOVA), and the means compared using the Scott Knott test, with a 5% probability threshold, using Sisvar 5.1 software (Lavras, Minas Gerais, Brasil).

Results

Biological Performance of *M. spectabilis* in the Greenhouse and Number of Plants With Spittle Masses in the Field

M. spectabilis nymph survival varied according to the different forages offered as food ($F_{8,32} = 38.47$; $P < 0.0001$), with a higher survival of those fed on Roxo de Botucatu and Pioneiro and lower in those fed on Makueni, Tanzânia, Jaraguá, and Molasses grass. The survival of the insect pest when fed on *B. brizantha*, *B. decumbens* and *Cynodon* did not differ among these species (Fig. 1). The low survival rate of *M. spectabilis* nymphs on the Makueni, Tanzânia, Jaraguá, and Molasses grass generated insufficient numbers of insects to allow evaluation of the duration of the nymphal phase (Fig. 2) or the biological parameters of the adult phase (Figs. 3 and 4).

The mean duration of the nymphal period of *M. spectabilis* varied from 46 d to 53 d and did not differ according to the forage used ($F_{4,15} = 3.39$, $P = 0,365$; Fig. 2). However, adult longevity was significantly higher on the *B. brizantha* and Pioneiro grasses, relative to Roxo de Botucatu grass ($F_{4,563} = 39.63$; $P < 0.0001$), whereas the longevity of adults fed on Cynodon and *B. decumbens* was lower still (Fig. 3).

The number of eggs produced by *M. spectabilis* females varied according to the food offered ($F_{4,232} = 20.32$; $P < 0.0001$) and was significantly higher when the insects fed on Pioneiro, *B. brizantha*, and Roxo de Botucatu forages, compared with Cynodon and *B. decumbens*, on which the number of eggs was reduced by an average of 82% (Fig. 4).

Differences in the number of plants with *M. spectabilis* spittle masses were observed among the different forages in the field ($F_{7,133} = 44.73$; $P < 0.0001$), and the number was higher on Pioneiro cultivar compared with the other forages. An intermediate mean value was calculated for the Roxo de Botucatu cultivar (Fig. 5), while the number of plants with spittle masses was very low on *B. brizantha* and *B. decumbens* and absent on Molasses grass, Jaraguá, Tanzânia, and Cynodon.

Preference Test

Free Choice

In a comparison of the preference of *M. spectabilis* adults for different plants, *B. decumbens* and Jaraguá forages were identified as the most attractive, up to 24 h after release of *M. spectabilis* adults, compared with the other forages offered. Exceptions noted were *B. brizantha* 30 min after insect release and Pioneiro at 5 and 10 h after release, where there was no significant difference in attractiveness compared with *B. decumbens* and Jaraguá (Table 1).

An intermediate level of attraction of *M. spectabilis* to the *B. brizantha*, Cynodon, and Pioneiro grasses was observed 1 h after release of the insects. The attraction of *M. spectabilis* to the forage Molasses grass, Roxo de Botucatu, Makueni, and Tanzânia was comparable at all time points evaluated, and was less than that of other forages (Table 1).

After 48 h of insect contact with the forage plants, no significant variation was observed in the choice of the different forages offered by the insect pest (Table 1).

Without Choice

A significant difference was observed in the volume of liquid excreted by spittlebugs fed on different plants ($F_{8,253} = 4.34$, $P = 0.0001$), with higher excretion production occurring while feeding on the *B. decumbens*, Makueni, Roxo de Botucatu, and Pioneiro grasses than on

the other five plants. The mean amounts of liquid excreted varied from 2.3 μL on the Molasses grass to 748.1 μL on the Pioneiro grass (Fig. 6).

Mahanarva spectabilis adults fed on Pioneiro, Roxo de Botucatu, Tanzânia, and *B. decumbens* grasses exhibited significant body mass gains, whereas loss of body mass was observed among those feeding on Molasses grass, Makueni, Jaraguá, and Cynodon ($F_{8,253} = 2.11$, $P = 0.0358$). Although feeding on *B. brizantha* also led to a small mean body mass gain, this was significantly lower than that promoted by the other plants (Fig. 7).

Discussion

Plants confront herbivores directly, which can affect their preferences or biological performance, primarily in relation to survival and reproductive success (Gotyal et al. 2015). In this study, we investigated the biological performance of *M. spectabilis* nymphs and adults, and the food preferences of adults, in tests with and without a choice of different forage species offered.

Spittlebug nymph survival is related to the resistance level of offered forage. According to Cardona et al. (1999), <30% survival of spittlebug nymphs indicates a resistant forage, values >50% susceptible forage, and those between 30% and 50% are associated with forages with intermediate resistance. According to these parameters, the survival rates in this study of *M. spectabilis* fed on Tanzânia, Molasses grass, Makueni, and Jaraguá demonstrate that these plants are resistant to this pest species, while the other tested plants are susceptible. There is strong evidence that, in this case, the observed resistance manifested as antibiosis because, according to Cardona et al. (2004), the first manifestation of this resistance mechanism is to diminish insect survival. Cosenza et al. (1989) also verified high mortality of the nymph of the spittlebug *Deois flavopicta* Stal on Makueni, Jaraguá, and Molasses grass.

The high survival of *M. spectabilis* nymphs on the cultivar Roxo de Botucatu was also reported by Auad et al. (2007), and our results confirm the susceptibility of this cultivar. These authors reported inferior survival of the Pioneiro cultivar, relative to the findings of the present study. Susceptibility of *B. decumbens* to other spittlebug species has also been reported (Cosenza et al. 1989, Valério et al. 1997); however, this is the first study to demonstrate the susceptibility of *B. brizantha* to *M. spectabilis* nymphs.

The *B. brizantha* plant has been considered resistant to spittlebugs for several years, and a number of studies have demonstrated some degree of resistance of this forage to nymphs or adults of other spittlebug species (Lapointe et al. 1992; Cardona et al. 2004, 2010; Grisoto et al. 2014), and even to *M. spectabilis* nymphs (Souza Sobrinho et al. 2010, Ferreira

et al. 2013). In recent years, however, increased attacks of the *Mahanarva* spittlebug species have been noticed on pastures cultivated with this forage species (Valério 2009). For example, Almeida et al. (2005) found that the death of *B. brizantha* in the central–western region of Brazil was associated with the presence of nymphs and adults of spittlebugs of the *Mahanarva* genus. According to Valério (2009), one hypothesis is that high levels of insects of the *Mahanarva* genus on *B. brizantha* in some regions of Brazil is due to the greater antibiotic action of this forage on the other spittlebug species present in this country (for example, *Deois* spp. and *Notozulia* spp.), which may reduce interspecific competition in favor of *Mahanarva* spp. This may explain the susceptibility of *B. brizantha* to *M. spectabilis* identified in the current investigation.

The duration of the development of phytophagous insects is an important factor which helps to evaluate host plant quality, with longer development times suggesting poor nutritional quality. In this study, the duration of the *M. spectabilis* nymphal period was the same among those plants on which it exhibited higher survival, demonstrating that the insect developed normally on the evaluated cultivars, enabling the production of the same number of generations. However, on the Pioneiro, Roxo de Botucatu, and *B. brizantha* plants, fecundity was relatively high, indicating that, although the number of generations may be equal, these plants favor an increase in the number of eggs, which can increase the number of individuals per generation, causing greater levels of damage to these crops.

Another parameter used to indicate the suitability of a host plant is fecundity (Van Lenteren and Noldus 1990). According to Zalucki et al. 2001, insects surviving on poor quality hosts tend to have reduced fecundity, among other features. The present work suggests that *B. decumbens* and *Cynodon* are inferior quality substrates for *M. spectabilis*, compared with the other plants tested, resulting in lower reproductive performance of the spittlebug on these plants. In addition to fecundity, the observed reduced longevity of spittlebugs raised on these plants reinforces their lower nutritional adequacy relative to the other species. Although these parameters may decrease the pest population, other biological factors should be considered before these plants are designated as resistant to *M. spectabilis* adults.

In some insects, higher fecundity is associated with increased adult longevity. An example of this, reported by Azambuja et al. (2013), is the bug *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) when it is offered a diet of good nutritional quality. In the present work, this relationship was not evident because, although the insects raised on the Roxo de Botucatu cultivar presented reduced longevity relative to those fed on Pioneiro and *B. brizantha*, this was not associated with altered fecundity on these plants. Therefore, the

difference in fecundity is believed to be attributable only to the different plant species, as determined by Dinardo-Miranda et al. (2016) for *Mahanarva fimbriolata* Stal.

Data from the field experiment correlated with those from the greenhouse performance experiment, as forage species associated with low *M. spectabilis* nymph survival in the greenhouse, were also those on which no spittle masses were found during the sampling period. Similarly, on the cultivars Pioneiro and Roxo de Botucatu, where nymph survival, longevity, and adult fecundity were high in the greenhouse, high spittle mass densities were observed on field plants. These factors greatly increase the chances of damage being caused by the spittlebugs, and the observed correlation demonstrates that data derived from greenhouse experiments can be extended to predict which plant species will be affected by spittlebug incidence in the field. Similar results were reported by Garcia (2006), who observed greater longevity and fecundity coinciding with the occurrence of *M. fimbriolata* in the field. Correlations between laboratory or greenhouse experiments and those undertaken in the field have also been reported for other insect species (Sidhu et al. 2013, Dong et al. 2013, Nagasawa and Matsuda 2015).

Herbivorous insects are able to respond to various host plant stimuli by selecting them for feeding purposes (Panda and Khush 1995). The absence of favorable stimuli or the presence of unfavorable stimuli in the plants is related to antixenosis expression (Souza et al. 2012). In this study of *M. spectabilis* biology, the majority of plants on which the insects showed lower survival (Molasses grass, Tanzânia, and Makueni) were among those not preferred in the free-choice preference test. Thus, in addition to antibiosis, these plants could also be resistant to *M. spectabilis* through the mechanism of antixenosis or nonpreference. The nonpreference of another spittlebug species, *D. flavopicta*, for the Makueni and Molasses grass in the free-choice test has previously been observed by Cosenza (1982).

Often insects select host plants according to their suitability for feeding and oviposition (Bernays and Chapman 1994). The antixenosis resistance mechanism is important because it can have a strong effect on the damage to the host plant and consequent production losses, and is particularly effective in situations in which herbivorous individuals have the opportunity to choose between different acceptable plants (Mody et al. 2015). The cause of insect nonpreference of a plant depends on several factors, including the nutritive value of the plant (Scheirs et al. 2003), morphological factors such as trichomes (Kennedy 2003), and the presence and abundance of chemical defense compounds (Dicke and Van Poecke 2002).

According to Cosenza (1982), the repellence of Molasses grass to *D. flavopicta* nymphs is associated with chemical defense compounds in exudates from plant hairs. The

same mechanism may be important in the preference of adult *M. spectabilis* insects observed in this study. In addition, when phytophagous insects seek a host plant, olfaction can play an important role, as herbivorous insects orient themselves in the environment through volatile mixtures produced by plants (Bernays and Chapman 1994, Schoonhoven et al. 1998, Bruce and Pickett 2011). Plant production of volatile organic compounds capable of repelling herbivores has been identified in some studies. Khan et al. (2000) verified that volatiles were produced by Molasses grass repel female *Chilo partellus* (Swinhoe) (Lepidoptera: Pyralidae); therefore, this plant has been widely used in a push–pull strategy as a repellent plant. Hence, there is evidence that some secondary compounds expressed in this, and possibly also in the other plants, may have had an effect on spittlebugs, and this is worthy of more detailed investigation.

The evidence of nonpreference for Molasses grass and Tanzânia is reinforced by the results demonstrating that the insects were less attracted to them in the free-choice test and also exhibited lower excretion rates in the preference test without choice of host plant. Along with the extremely low nymph survival on these plants, the data collected in this study strongly suggest that they could be applied in the field to reduce the problems caused by spittlebugs.

Mahanarva spectabilis only preferred Cynodon for feeding in the free-choice tests at the first evaluation time. When the nonpreference later in the time course is compared with the biological parameters, the nonattraction to Cynodon is not surprising. Although the Cynodon was susceptible to nymphs, it did not favor attraction or feeding by the adults, according to the low rate of excretion and body mass loss on this plant in the test without a choice of host. This can be explained by different food preferences of spittlebug nymphs and adults, which may have differing nutritional requirements (Cardona et al. 2010).

Although the cultivar Roxo de Botucatu exhibited favorable biological performance in the greenhouse, high spittle mass density in the field, and a high excretion rate and *M. spectabilis* weight gain in the feeding preference test without a choice of host, this plant was among the nonpreferred hosts in the free-choice feeding test. In contrast, the Jaraguá plant, on which both nymph survival and adult excretion rate were low, and spittlebug body mass reduced, was the most attractive for *M. spectabilis*, together with *B. decumbens*.

According to Schlick-Souza et al. (2011), a less attractive host in a free-choice test would be expected to be proven susceptible in tests without a choice of host, as observed for the Roxo de Botucatu grass in this work. Nevertheless, according to these authors, the opposite, as occurred with Jaraguá, is less common but can also occur. This discrepancy may

be due to the volatilization of many compounds within the same environment, affecting the attraction of the insects during their search for a host, leading to variations in the results (Schlick-Souza et al. 2011).

Preference may also not coincide with performance, because native insects will feed on nonnative plants. In this system, no coevolution was present, and the clues that measure preference can be dissociated from those related to herbivore performance (Pearse 2011). In extreme cases, the plants, being attractive, can act as a biological trap for the herbivores despite being poor hosts. Thus, the Jaraguá plant should be further investigated to determine the mechanisms responsible for its observed attractiveness to *M. spectabilis*, as these mechanisms may enable the implementation of a trap plant in the field, leading to possible reductions in pest incidence.

Unlike Jaraguá, *B. decumbens*, which was also highly attractive to *M. spectabilis* adults, is susceptible to nymphs, and although it does not favor the longevity and fertility parameters of adults, according to the excretion and body mass gain data, *B. decumbens* was well consumed. The attractiveness in the case of *B. decumbens* cannot be explored, as in the case of Jaraguá, because even with lower performance, the insects can develop and cause serious damage to these plants. In addition, this plant is highly susceptible to attack by other spittlebugs species (Valério and Nakano 1988, Cosenza et al. 1989, Valério et al. 1997).

Xylem-feeding insects are able to detect small differences in amino acid composition among host plant species (Brodbeck et al. 1990). As consensus exists that spittlebugs feed on xylem, the attraction of *B. decumbens* and *B. brizantha* to *M. spectabilis* at some time points may also be attributable for this variation in amino acids. Moreover, in the excretion test, spittlebugs that fed on *B. brizantha* did not demonstrate high consumption levels; however, they did achieve a slight body mass increase. Possibly, lower consumption occurs because of the abundance of amino acids, which provides the quantity needed for the insects to develop. The concentration of nutrients may also have led to the body mass gain of spittlebugs fed on Tanzânia, and the loss of mass for those that fed on Makueni grass, which, in contrast, contributed to a high rate of excretion.

The attraction of the insects to *B. brizantha* and Pioneiro, and their associated excellent performance in these plants, together with a high excretion rate in the case of Pioneiro, indicates that these forage plants may result in increased *M. spectabilis* populations in the field. However, the attraction to these plants occurred in the first few hours of evaluation and did not persist. It is possible that the volatiles induced in the plant after

herbivory interfere with its attractiveness to insects. Therefore, the mechanisms responsible for this attraction should be further explored.

Although some variations occurred, this study provides evidence that a relationship exists between biological performance and *M. spectabilis* preference. The Roxo de Botucatu and Pioneiro cultivar led to high performance of nymphs and adults, in addition to a high feeding rates and high spittle mass densities in the field. Therefore, the cultivation of these plants should be limited in sites with a history of problems with *M. spectabilis*. The *B. brizantha* plant also resulted in high performance and exhibited a degree of attractiveness in the greenhouse; this is notable because, until now, this plant has been considered resistant to spittlebugs. Thus, its use should be explored further, as the plant could have resistance mechanisms against other species of spittlebugs, while favoring the incidence of *M. spectabilis*. In contrast, Molasses grass, Tanzânia, and Makueni do not favor nymph survival or the feeding of these insects. As such, these plants have the potential for use in management strategies. One recommendation would be to diversify pastures, combining these plants with susceptible species, thereby reducing pasture vulnerability. Pasture diversification, with the use of resistant forage grasses, presents great potential and has become the preferred alternative for the control of these insects (Valério 2009).

In addition, the possibility of the Jaraguá plant being used as a trap for *M. spectabilis* is suggested from our data, as it can attract adults in the greenhouse but does not favor the survival of nymphs in either this environment or the field.

Future studies may address the causes of the observed attraction of *M. spectabilis* to Jaraguá, Pioneiro, *B. brizantha*, and *B. decumbens*, and the reasons for its nonpreference for the other plants investigated, particularly the Molasses grass, Tanzânia, and Makueni. A consideration of these mechanisms could contribute to new control strategies, such as pasture diversification and the push–pull strategy, using a combination of plant stimuli to manipulate the distribution and abundance of *M. spectabilis*.

Acknowledgments

We thank the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brazil), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), and Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) for supporting our research.

References Cited

- Aguirre, L. M., C. Cardona, J. W. Miles, and G. Sotelo. 2012.** Characterization of resistance to adult spittlebugs (Hemiptera: Cercopidae) in *Brachiaria* spp. *J. Econ. Entomol.* 106: 1871–1877.
- Almeida, P. C., H. M. Davila, M. Corsi, R.C.D. Goulart, and P. M. Santos. 2005.** Nível de infestação de cigarrinhas em áreas com a presença de morte do capim *Brachiaria brizantha* cv. marandu. In Proceedings, 42º Reunião da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 25–28 July 2005. Goiânia, GO, Brazil.
- Auad, A. M., A. D. Simões, A. V. Pereira, A.L.F. Braga, F. S. Sobrinho, F.J.S. Lédo, S. V. Paula-Moraes, S. A. Oliveira, and R. B. Ferreira. 2007.** Seleção de genótipos de capim-elefante quanto a resistência a cigarrinha-das-pasta-gens. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 42: 1077–1081.
- Awmack, C. S., and S. R. Leather. 2002.** Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Ann. Rev. Entomol.* 47: 817–844.
- Azambuja, R., P. E. Degrande, and F. F. Pereira. 2013.** Comparative biology of *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) feeding on cotton and soybean reproductive structures. *Neotrop. Entomol.* 42: 359–365.
- Bernardo, E.D.A., V.D.F. Rocha, O. Puga, and R. A. Silva. 2003.** Espécies de cigarrinhas-das-pastagens (Hemiptera: Cercopidae) no meio-norte do Mato Grosso. *Ciência Rural* 33: 369–371.
- Bernays, E. A., and R. E. Chapman. 1994.** Behavior: the process of host-plant selection, pp. 95–165. In E. A. Bernays and R. E. Chapman (eds.), *Host-plant selection by phytophagous insects*. Chapman and Hall, New York.
- Brodbeck, B. V., R. F. Mizell, III, W. J. French, P. C. Andersen, and J. H. Aldrich. 1990.** Amino acids as determinants of host preference for the xylem feeding leafhopper, *Homalodisca coagulata* (Homoptera: Cicadellidae). *Oecologia* 83: 338–345.
- Bruce, T.J.A., and J. A. Pickett. 2011.** Perception of plant volatile blends by herbivorous insects—finding the right mix. *Phytochem* 72: 1605–1611.
- Byers, R. A., and H. D. Wells. 1966.** Phytotoxemia of coastal bermudagrass caused by the two-lined spittlebug, *Prosapia bicincta* (Homoptera: Cercopidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 59: 1067–1071.

- Cardona, C., J. W. Miles, and G. Sotelo. 1999.** An improved methodology for massive screening of *Brachiaria* spp. genotypes for resistance to *Aeneolamia varia* (Homoptera: Cercopidae). *J. Econ. Entomol.* 92: 490–496.
- Cardona, C., P. Fory, G. Sotelo, A. Pabon, G. Diaz, and J. W. Miles. 2004.** Antibiosis and tolerance to five species of spittlebug (Homoptera: Cercopidae) in *Brachiaria* spp.: implications for breeding for resistance. *J. Econ. Entomol.* 97: 635–645.
- Cardona, C., J. W. Miles, E. Zuñiga, and G. Sotelo. 2010.** Independence of resistance in *Brachiaria* spp. to nymphs or to adult spittlebugs (Hemiptera: Cercopidae): implications for breeding for resistance. *J. Econ. Entomol.* 103: 1860–1865.
- Cosenza, G. W. 1982.** Resistência de gramíneas forrageiras a cigarrinha-das-pastagens *Deois flavopicta* (Stal., 1854). Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, Brazil.
- Cosenza, G. W., R. D. Andrade, D. T. Gomes, and C. D. Rocha. 1989.** Resistência de gramíneas forrageiras a cigarrinha-das-pastagens. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 24: 961–968.
- Dicke, M., and R.M.P. Van Poecke. 2002.** Signalling in plant–insect interactions: signal transduction in direct and indirect plant defence, pp. 289–316. In D. Scheel and C. Wasternack (eds.), *Plant signal transduction*. Oxford University Press, Oxford, England, United Kingdom.
- Dinardo-Miranda, L. L., J. V. Fracasso, D. Perecin, M.C.D. Oliveira, D.O.P. Lopes, T. S. Izeppi, and I.A.D. Anjos. 2016.** Resistance mechanisms of sugarcane cultivars to spittlebug *Mahanarva fimbriolata*. *Scientia Agricola* 73: 115–124.
- Dong, J. W., H. S. Pan, Y. H. Lu, and Y. Z. Yang. 2013.** Nymphal performance correlated with adult preference for flowering host plants in a polyphagous mirid bug, *Apolygus lucorum* (Heteroptera: Miridae). *Arthropod Plant Interact.* 7: 83–91.
- Fernandes, A. M., A. M. Farias, M. M. Soares, and S. D. Vasconcelos. 2001.** Desenvolvimento do pulgão *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) em três cultivares do algodão herbáceo *Gossypium hirsutum* L. r. *latifolium* Hutch. *Neotrop. Entomol.* 30: 467–470.
- Ferreira, R. B., J. C. Moraes, A. M. Auad, and M. G. Fonseca. 2013.** Interaction of spittlebug and forage grass under different carbon dioxide concentrations. *J. Pest Sci.* 86: 161–166.
- Garcia, J. F. 2006.** Bioecologia e manejo da cigarrinha-das-raízes, *Mahanarva fimbriolata* (Stal, 1854) (Hemiptera: Cercopidae), em cana-de-açúcar. Ph. D. Thesis, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP, Brazil.

- Gotyal, B. S., K. Selvaraj, P. N. Meena, and S. Satpathy. 2015.** Host plant resistance in cultivated jute and its wild relatives towards jute hairy caterpillar *Spilosoma obliqua* (Lepidoptera: Arctiidae). *Fla. Entomol.* 98: 721–727.
- Grisoto, E., J. D. Vendramim, A. L. Lourencão, J. A. Usberti Filho, and C.T.D.S. Dias. 2014.** Biology of *Mahanarva fimbriolata* on forage grasses. *Ciência Rural* 44: 1043–1049.
- Ishihara, M., and T. Ohgushi. 2006.** Reproductive inactivity and prolonged developmental time induced by seasonal decline in host plant quality in the willow leaf beetle *Plagiodera versicolora* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Environ. Entomol.* 35: 524–530.
- Karban, R., and J. H. Myers. 1989.** Induced plant responses to herbivory. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 20: 331–348.
- Kennedy, G. G. 2003.** Tomato, pests, parasitoids, and predators: tritrophic interactions involving the genus *Lycopersicon*. *Ann. Rev. Entomol.* 48: 51–72.
- Khan, Z. R., J. A. Pickett, J.V.D. Berg, L. J. Wadhams, and C. M. Woodcock. 2000.** Exploiting chemical ecology and species diversity: stem borer and striga control for maize and sorghum in Africa. *Pest Manag. Sci.* 56: 957–962.
- Lapointe, S. L., M. S. Serrano, G. L. Arango, G. Sotelo, and F. Cordoba. 1992.** Antibiosis to spittlebugs (Homoptera: Cercopidae) in accessions of *Brachiaria* spp. *J. Econ. Entomol.* 85: 1485–1490.
- Lima, L. C. 2010.** Resistência de variedades de cana-de-açúcar a Cigarrinha-das-raízes *Mahanarva fimbriolata* (Stal) (Hemiptera, Cercopidae). Ph. D. Thesis, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, SP, Brazil.
- Lofez, F., C. Cardona, J. W. Miles, G. Sotelo, and J. Montoya. 2009.** Screening for resistance to adult spittlebugs (Hemiptera: Cercopidae) in *Brachiaria* spp.: methods and categories of resistance. *J. Econ. Entomol.* 102: 1309–1316.
- Mody, K., J. Collatz, and S. Dorn. 2015.** Plant genotype and the preference and performance of herbivores: cultivar affects apple resistance to the florivorous weevil *Anthonomus pomorum*. *Agric. For. Entomol.* 17: 337–346.
- Nagasawa, A., and K. Matsuda. 2015.** Factors determining the host range of two tortoise beetles, *Cassidane bulbosa* L. and *C. piperata* Hope (Coleoptera: Chrysomelidae) in Japan. *Open Entomol. J.* 9: 1–6.
- Panda, N., and G. A. Khush. 1995.** Host plant resistance to insects. Cab International, Wallingford, United Kingdom.
- Pearse, I. S. 2011.** The role of leaf defensive traits in oaks on the preference and performance of a polyphagous herbivore, *Orgyia vetusta*. *Ecol. Entomol.* 36: 635–642.

- Scheirs, J., L. de Bruyn, and R. Verhagen. 2003.** Host nutritive quality and host plant choice in two grass miners: primary roles for primary compounds? *J. Chem. Ecol.* 29: 1373–1389.
- Schlick-Souza, E. C., E.L.L. Baldin, and A. L. Lourencão. 2011.** Variation in the host preferences and responses of *Ascia monuste* orseis Godart (Lepidoptera: Pieridae) to cultivars of collard greens *Brassica oleracea* (L.) var. acephala. *J. Pest Sci.* 84: 429–436.
- Schoonhoven, L. M., T. Jermy, and J.J.A. Van Loon. 1998.** *Insect-plant biology: from physiology to evolution*, 1st ed. Chapman and Hall, London, United Kingdom.
- Schoonhoven, L. M., J.J.A. Van Loon, and M. Dicke. 2005.** *Insect-Plant Biology*, 2nd ed. Oxford University Press, Oxford, United Kingdom.
- Sidhu, J. K., M. J. Stout, and D. C. Blouin. 2013.** Performance and preference of sugarcane borer, *Diatraea saccharalis*, on rice cultivars. *Entomol. Exp. Appl.* 149: 67–76.
- Slansky, F. Jr. 1993.** Nutritional ecology: the fundamental quest for nutrients. In N. E. Stamp and T. M. Caesy (eds.), *Caterpillars: ecological and evolutionary constraints on foraging*. Chapman and Hall, New York.
- Smith, C. M. 2005.** *Plant resistance to arthropods: molecular and conventional approaches*. Springer, Berlin, Germany.
- Souza Sobrinho, F., A. M. Auad, and F.J.S. Lédo. 2010.** Genetic variability in *Brachiaria ruziziensis* for resistance to spittlebugs. *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* 10: 83–88.
- Souza, B.H.S., A.L.B. Boiça Junior, A. G. Silva, and N.E.L. Rodrigues. 2012.** Não preferência para alimentação e aspectos biológicos de *Spodoptera eridania* em cultivares de feijão-caupi. *Revista Caatinga* 25: 31–37.
- Thompson, V. 2004.** Associative nitrogen fixation, C4 photosynthesis, and the evolution of spittlebugs (Hemiptera: Cercopidae) as major pests of neotropical sugarcane and forage grasses. *Bull. Entomol. Res.* 94: 189–200.
- Tremmel, M., and C. Müller. 2013.** The consequences of alternating diet on performance and food preferences of a specialist leaf beetle. *J. Insect Physiol.* 59: 840–847.
- Valério, J. R. 2009.** *Cigarrinhas- das- pastagens*. Vol 1. Embrapa Gado de corte. Campo Grande, MS, Brazil.
- Valério, J. R., and O. Nakano. 1988.** Danos causados pelo adulto da cigarrinha *Zulia entreriana* na produção e qualidade de *Brachiaria decumbens*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 23: 447–453.

- Valério, J. R., H. Jeller, and J. Peixer. 1997.** Selection of introductions of the genus *Brachiaria* (Griseb) resistant to the spittlebug *Zulia entreriana* (Berg) (Homoptera: Cercopidae). *Anais Da Sociedade Entomologica Do Brasil* 26: 383–387.
- Valério, J. R., C. Cardona, D. C. Peck, and G. Sotelo. 2001.** Spittlebugs bioecology, host plant resistance and advances in IPM. In *Proceedings, 19th International Grassl*, 11–21 February. São Pedro, São Paulo, Brazil.
- Van Lenteren, J. C., and L.P.J.J. Noldus. 1990.** Whitefly-plant relationships: behavioral and ecological aspects, pp. 47–90. In D. Gerling (ed.), *Whiteflies: their bionomics, pest status and management*. Intercept Press, Andover, United Kingdom.
- Zalucki, M. P., S. B. Malcolm, T. D. Paine, C. C. Hanlon, L. P. Brower, and A. R. Clarke. 2001.** It's the first bites that count: survival of first-instar mon-archs on milkweeds. *Austral. Ecol.* 26: 547–555.

Table

Table 1. Number of *M. spectabilis* adults present on forage 0.5, 1, 5, 10, 24, and 48 h after being released in the greenhouse

Forages	Horary (h)					
	0,5 (P=0,0000)	1 (P=0,0000)	5 P=0,0002	10 P=0,0001	24 P=0,0049	48 P=0,6436
<i>B. decumbens</i>	29,93± 7,34a	30,50±6,83a	16,97±5,31a	26,78±8,22 a	21,98±6,38a	16,50±10,27a
Jaraguá	21,11±4,60a	22,75±4,11a	23,98±5,10a	23,28±8,09 a	21,30±7,35a	17,00±10,55a
<i>B. brizantha</i>	15,95±4,25a	11,63±3,10b	13,60±5,86b	10,0±5,53b	14,28±10,43b	10,00±6,67a
Pioneiro	11,78±4,90b	14,57±4,95b	23,25±7,42a	19,41±5,18a	10,22±3,80b	12,00±6,63a
Cynodon	11,31±2,97b	11,35±2,66b	11,49±3,75b	8,67±4,37b	7,08±3,93b	10,00±6,68a
Tanzânia	6,90±2,71b	6,85±2,56c	5,18±2,58b	4,36±2,87b	8,37±3,89b	12,00±9,98a
Roxo de Botucatu	1,59±1,10b	1,58±1,58c	2,67±1,85b	1,67±1,67b	3,65±2,50b	2,50±2,50a
Makueni	0,71±0,71b	0,00±0,00c	2,92±1,97b	5,83±4,98b	2,00±2,00b	10,00±10,00a
Molasses grass	0,71±0,71b	0,77± 0,77c	0,00±0,00b	0,00±0,00b	1,11±1,11b	0,00±0,00a

Values followed by the same letter in each column do not differ significantly (Scott Knott test; $P < 0.05$).

Figures

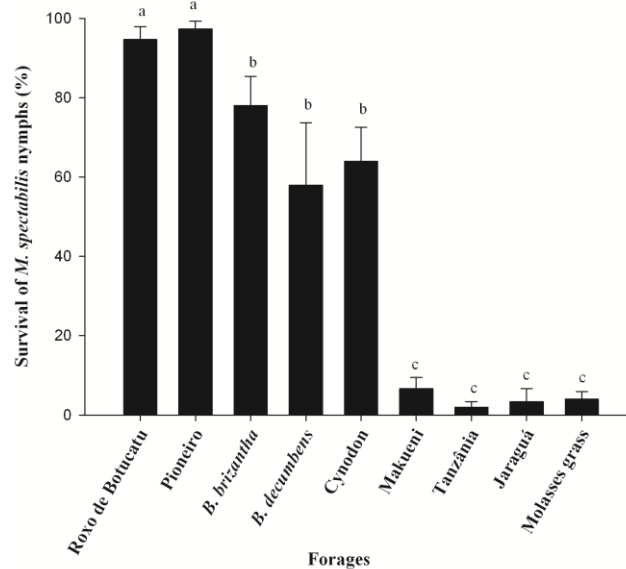


Fig. 1. Survival of *M. spectabilis* nymphs (%) fed on different forages. Mean values labeled with the same letter do not differ significantly (Scott Knott test; $P < 0.05$).

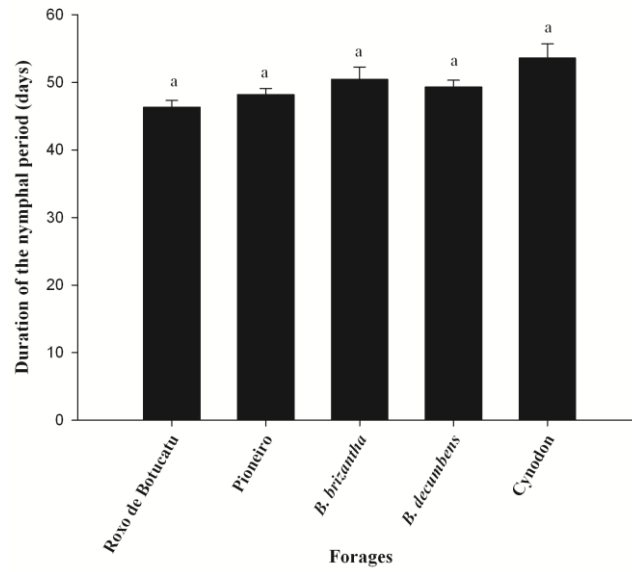


Fig. 2. Duration of the nymphal period (days) of *M. spectabilis* fed on different forages. Mean values labeled with the same letter do not differ significantly (Scott Knott test; $P < 0.05$).

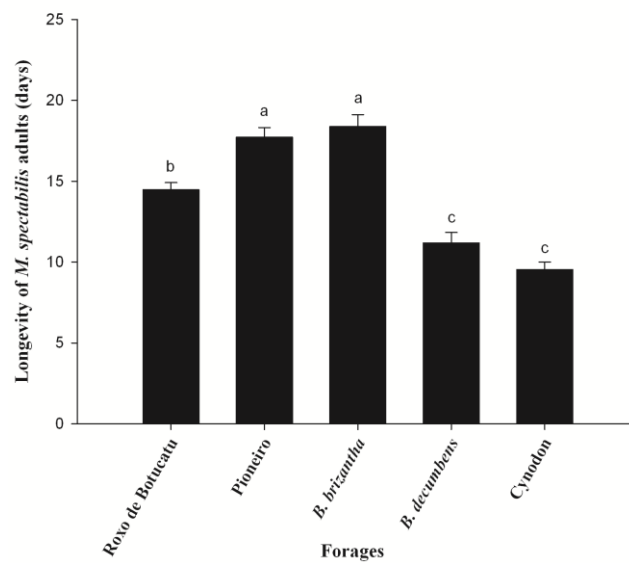


Fig. 3. Longevity of *M. spectabilis* adults (days) fed on different forages. Mean values labeled with the same letter do not differ significantly (Scott Knott test; $P < 0.05$).

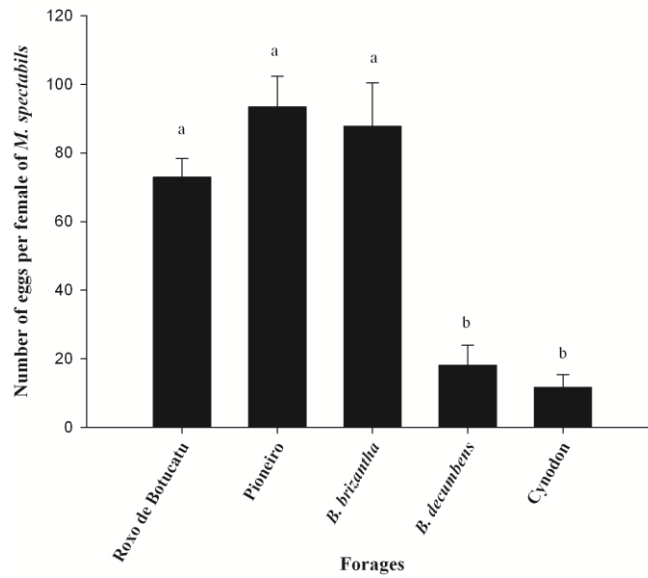


Fig. 4. Number of eggs of *M. spectabilis* fed on different forages. Mean values labeled with the same letter do not differ significantly (Scott Knott test; $P < 0.05$)

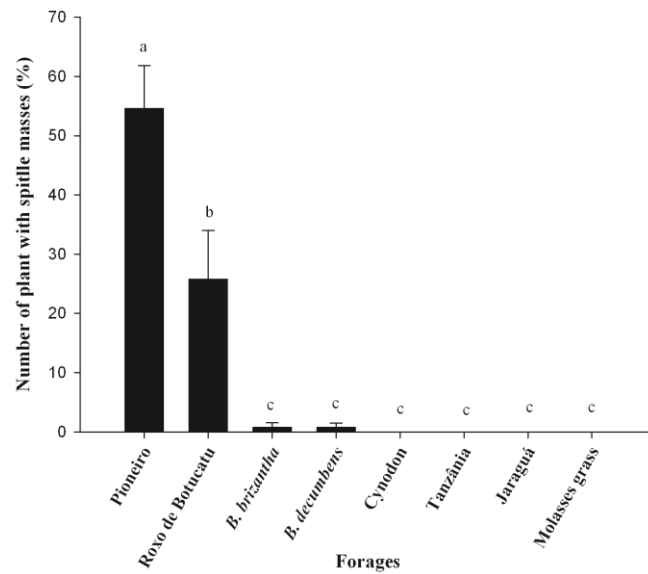


Fig. 5. Percentage of plants of the different forages with spittle masses pre-sent in the experimental field of the Embrapa Dairy Cattle. Mean values labeled with the same letter do not differ significantly (Scott Knott test; $P < 0.05$).

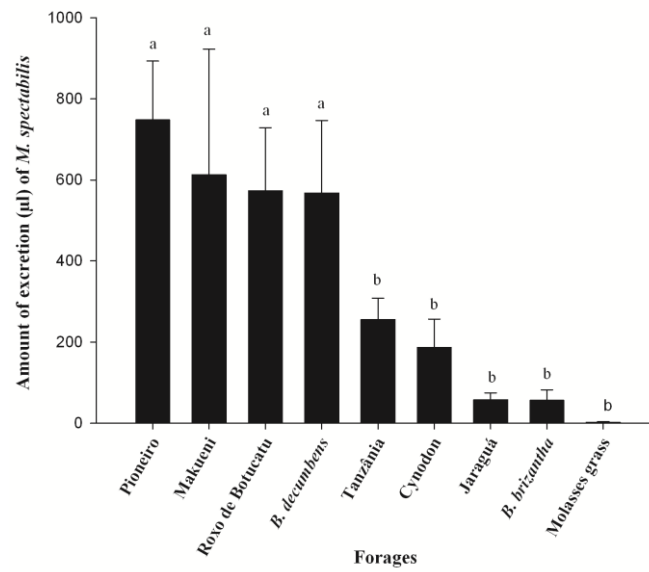


Fig. 6. Amount of excretion (μL) of *M. spectabilis* fed on different forages. Mean values labeled with the same letter do not differ significantly (Scott Knott test; $P < 0.05$).

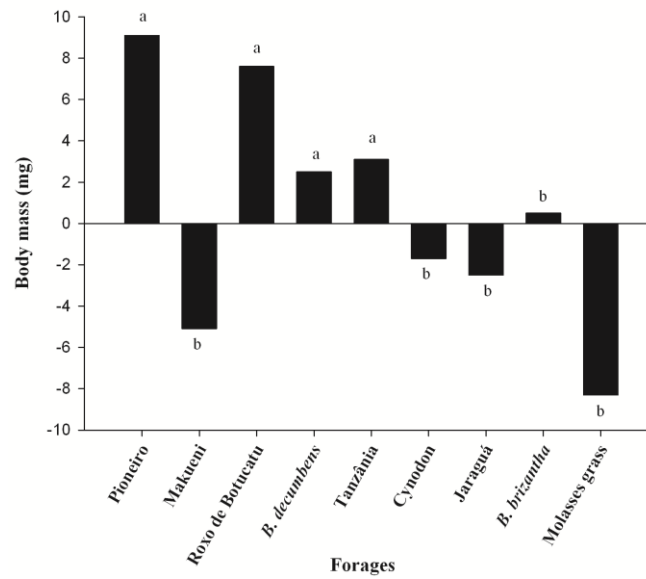


Fig. 7. Body mass (mg) of *M. spectabilis* fed on different forages for 24 h. Mean values labeled with the same letter do not differ significantly (Scott Knott test; $P < 0.05$).

ARTIGO 2 Interação de *Mahanarva spectabilis* (Hemiptera: Cercopidae) e forrageiras é mediada por compostos orgânicos voláteis?

Sandra E. B. Silva¹; Alexander M. Auad^{2*}; Jair C. Moraes¹; Roberta Alvarenga¹; Marcy G. Fonseca²; Francisco A. Marques³, Noemi Nagata³.

¹ Universidade Federal de Lavras, Caixa postal 3037, Cep 37200000, Lavras, MG, Brasil

² Embrapa Gado de Leite, Av. Eugênio do Nascimento, 610, CEP 36038-330, Juiz de Fora, MG, Brasil

³ Universidade Federal do Paraná, Rua XV de Novembro, 1299, CEP 80060-000, Curitiba - PR, Brasil.

* Autor correspondente. E-mail: alexander.auad@embrapa.br

Este artigo foi escrito de acordo com o padrão de Journal of Pest Science para o qual foi submetido.

Resumo

Vários insetos herbívoros utilizam pistas químicas das plantas a fim de encontrar hospedeiros adequados à sua alimentação. O papel do olfato na detecção de plantas hospedeiras de *Mahanarva spectabilis* (Distant, 1909) (Hemiptera: Cercopidae), praga de pastagens, ainda é desconhecido. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar as respostas olfativas de *M. spectabilis* a diferentes plantas forrageiras. Foram conduzidos bioensaios em olfatômetro “Y” para avaliar o comportamento de respostas de adultos de *M. spectabilis* para as forrageiras sem e com injúria da cigarrinha, bem como para seus extratos. Também foi observado a influência da pressão barométrica nas não respostas das cigarrinhas. Foram utilizadas as cultivares Roxo de Botucatu, Pioneiro, Makueni, Tanzânia, Tifton, Marandú e Basilisk, além dos capins Jaraguá e Gordura. *M. spectabilis* mostrou preferência pelos voláteis das cultivares Basilisk e Pioneiro sem injúria. Comportamento de repelência de *M. spectabilis* foi observado para os voláteis de plantas e extrato da cultivar Marandú com injúria de coespecíficos. A mistura volátil das forrageiras sem injúria difere da mistura volátil das forrageiras com injúria de *M. spectabilis*, sendo que após a injúria, as forrageiras apresentaram maior diversidade de compostos, incluindo a liberação de mentona, eucaliptol e cânfora, sugeridos como sendo os compostos responsáveis pela perda da atratividade ou repelência. A diminuição da pressão barométrica influencia o número de insetos não respondedores. Esses resultados fornecem evidência de que *M. spectabilis* utilizam pistas químicas das plantas na escolha de hospedeiros, o que pode contribuir na adoção de estratégias de manejo integrado da praga.

Palavras chave: Cigarrinha-das-pastagens, Voláteis de plantas, Comportamento. Repelência

Abstract

Several herbivorous insects use the plants' chemical cues to find the suitable hosts for feeding. The role of smell in detecting the host plants of *Mahanarva spectabilis* (Distant, 1909) (Hemiptera: Cercopidae) is still largely unknown. Current assay assesses olfactory responses of *M. spectabilis* to different forager plants. Bioassays were performed in a Y-olfactometer to evaluate the behavior of adult *M. spectabilis*'s responses for foragers and extracts, with and without injury by *M. spectabilis*. The influence of the barometric pressure on the non-responses of the spittlebugs was also observed. The cultivars Roxo de Botucatu, Pioneiro, Makueni, Tanzania, Tifton, Marandú and Basilisk were used in the bioassays, as well as the Jaraguá and Molasses grasses. *M. spectabilis* preferred volatiles of Basilisk and Pioneer cultivars, without injury. *M. spectabilis*'s repellent behavior was reported for plant volatiles and for Marandú cultivar extract, with injury for co-specifics. Foragers' volatile mixture, without injury, differs from the volatile mixture of foragers with injury by *M. spectabilis*. After injury, foragers had a greater diversity of compounds, which also included the release of Menthone, Eucalyptol and Camphor, the probable compounds causing loss of attractiveness or repellence. The decrease in barometric pressure influences the number of non-responding insects. Results demonstrate that spittlebug *M. spectabilis* employs the plants' chemical cues in its choice of hosts. This fact may contribute towards strategies of integrated management against the pest.

Keywords: Spittlebug, Plant volatiles, Behavior, Repellency

Introdução

As cigarrinhas-das-pastagens (Hemiptera: Cercopidae) são pragas de gramíneas forrageiras na América Tropical, promovendo redução do crescimento, queda na produção e na qualidade dessas plantas (Cosenza et al. 1982; Valério e Nakano 1988). Ao sugarem a seiva das plantas, os adultos desses insetos, injetam toxinas que interferem na atividade fotossintética da planta, causando amarelecimento, secagem das folhas e em alguns casos até a morte das plantas (Cosenza et al. 1982; Byer e Wells 1966).

As perdas mundiais causadas pelas cigarrinhas são estimadas entre 840 milhões a 2,1 bilhões de dólares por ano (Thompson 2004). No Brasil, *Mahanarva spectabilis* (Distant,

1909) (Hemiptera: Cercopidae) é apontada como praga limitante na produção de gramíneas forrageiras (Aquad et al. 2007), causando severos ataques nestas plantas, ameaçando assim a cadeia produtiva de carne e leite, tendo em vista que maior parte do rebanho brasileiro é criado a pasto (Ferraz e Felício 2010; Dias Filho 2014).

O método de controle tradicional baseado em inseticidas químicos sintéticos não é recomendado para o controle de cigarrinhas-das-pastagens por ser inviável tanto ecologicamente, já que demandaria o tratamento de extensas áreas; quanto economicamente, devido ao custo resultante do tratamento dessas áreas (Valério 2009). Dessa forma, a resistência de plantas é considerada como método alternativo ideal pela capacidade de diminuir a população de inseto praga sem interferir demasiadamente com o ecossistema e sem causar ônus adicionais aos custos de produção (Souza et al 2012)

Recentemente, a fim de buscar forrageiras resistentes às cigarrinhas-das-pastagens, o desempenho e comportamento de escolha para alimentação de *M. spectabilis* foi avaliado para diferentes espécies forrageiras, e os autores evidenciaram categoria de resistência do tipo antixenose em *Melinis minutiflora* Beauv. e *Panicum maximum* Jacq. Cvs. Makueni e Tanzânia, sugerindo que a não preferência para estas plantas e a atratividade para outras, como *Brachiaria decumbens* Stapf, Jaraguá, Roxo de Botucatu e Pioneiro, poderiam estar relacionadas aos voláteis emitidos pelas plantas (Silva et al. 2017).

As plantas liberam uma mistura de voláteis específicos de cada espécie que desempenham um papel crucial nas suas interações ecológicas com outros organismos (Dudareva et al. 2004). Esses compostos são reconhecidos como componentes de um sistema de defesa das plantas com a função principal de protegê-las do ataque de herbívoros (Baldwin 2010). No entanto, eles também podem estar envolvidos na orientação de herbívoros a plantas favoráveis à alimentação e oviposição (Visser 1986), bem como, desempenhar função direta na resistência das plantas, repelindo-os (Bernasconi et al. 1998; Aharoni et al. 2003; Whang et al. 2008; Zhang et al. 2013; Calumpang et al. 2014). Dessa forma, os voláteis das plantas podem influenciar o comportamento de herbívoros, tendo um importante papel na escolha por hospedeiros ou resistência por antixenose das plantas.

Nos últimos anos, vários estudos têm abordado a comunicação química existente entre plantas e insetos herbívoros (Bruce et al. 2005; Bruce e Pickett 2011; Maharjan et al. 2016; Silva et al. 2015; Silva et al. 2016). A compreensão dessa comunicação é importante, pois as substâncias envolvidas, por mediarem interações, possuem inúmeras possibilidades de uso no manejo integrado de pragas (Moraes et al. 2003). Nesse sentido, o uso de semioquímicos pode gerar o estabelecimento de medidas alternativas ou auxiliar dos métodos convencionais

de controle e monitoramento populacional de pragas (Vilela e Pallini 2002; Bastos et al. 2008). Um exemplo de sucesso do uso de voláteis de plantas no manejo de pragas é o sistema “push-pull” (Cook et al. 2007). Este sistema consiste na manipulação do comportamento de insetos-pragas, bem como de seus inimigos naturais, por meio da integração de estímulos que mascaram ou protegem a cultura de interesse (“push”), enquanto outra fonte de estímulos os atrai para uma cultura armadilha (“pull”) (Miller e Cowles 1990).

Entre as cigarrinhas-das-pastagens, não há conhecimento sobre o papel olfativo dos voláteis das forrageiras no comportamento de escolha por plantas hospedeiras. A elucidação da base olfativa do comportamento de seleção da planta hospedeira poderia contribuir significativamente para uma melhor compreensão da recepção e percepção olfativa, com posterior possibilidade de aplicação de voláteis associados a plantas no manejo integrado dessa cigarrinha. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar as respostas olfativas de *M. spectabilis* a diferentes plantas forrageiras, identificar compostos químicos emitidos por forrageiras que interferem nessas respostas.

Material e métodos

Manutenção de insetos e plantas

Adultos de *M. spectabilis* foram coletados semanalmente no campo experimental da Embrapa Gado de Leite em Coronel Pacheco, MG, Brasil. Os adultos foram mantidos em planta de capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum cv. Napier), em gaiolas de acrílico (30x 30 x 60 cm) sob condições controladas (25± 2 °C, 70-80% umidade relativa).

As forrageiras *Pennisetum purpureum* Schum cvs. Roxo de Botucatu e Pioneiro; *P. maximum* cvs. Makueni e Tanzânia; *Hyparrhenia rufa* (Nees) Stapf (Jaraguá); *M. minutiflora* (Capim gordura); *Cynodon dactylon* (L.) Pers cv. Tifton; *Brachiaria brizantha* (Hochst ex A. Rich Stapf) cv. Marandú e *B. decumbens* cv. Basilisk, foram utilizadas nos experimentos. Mudanças dessas plantas, obtidas em casa de vegetação, foram individualmente plantadas em copos de plástico de 300 mL contendo solo com textura argilosa (59% de argila, 5% de silte e 36% de areia), advindas do campo experimental da Embrapa Gado de Leite, em Coronel Pacheco, MG, Brasil.

As plantas foram mantidas em casa de vegetação na Embrapa Gado de Leite, em Juiz de Fora, MG, Brasil. Utilizaram-se plantas com 30-35 dias para os bioensaios em olfatometria e coleta de voláteis. Para tanto, realizaram-se plantios contínuos em intervalos regulares.

Bioensaios com as forrageiras

Os bioensaios de olfatometria foram realizados no laboratório de Entomologia da Embrapa Gado de Leite, usando um olfatômetro de vidro do tipo “Y” (3,5 cm de diâmetro, braço principal de 30 cm, braços laterais de 23 cm cada e ângulo de 120° entre os braços), o qual operou com um fluxo de ar contínuo de 1,0 L/min. O ar bombeado foi umidificado com água destilada, filtrado com carvão ativado e calibrado através de um medidor de fluxo. Cada braço do olfatômetro foi ligado através de tubos de silicone a duas câmaras de vidro (42 cm de altura x 16 cm de largura), uma servindo como controle (ar limpo) e a outra contendo os materiais vegetais.

Em preparação para os bioensaios em olfatometria, os copos de plástico contendo as plantas foram envoltos em folha de alumínio, da base do copo até o caule das plantas, minimizando assim possíveis efeitos de voláteis emitidos pelo solo em que as plantas foram cultivadas. As respostas olfativas de *M. spectabilis* foram comparadas para as seguintes combinações de odores:

(1) Pioneiro sem injúria vs. ar limpo; (2) Roxo de Botucatu sem injúria vs. ar limpo; (3) Basilisk sem injúria vs. ar limpo; (4) Marandú sem injúria vs. ar limpo; (5) Capim gordura sem injúria vs. ar limpo; (6) Jaraguá sem injúria vs. ar limpo; (7) Tanzânia sem injúria vs. ar limpo; (8) Makueni sem injúria vs. ar limpo e (9) Tifton sem injúria vs. ar limpo.

As respostas olfativas dos insetos às espécies forrageira injuriadas por adultos de *M. spectabilis* vs ar limpo também foram avaliadas. Para essas combinações, as plantas foram submetidas à injúria de quatro casais de *M. spectabilis*, por um período de 24 horas, e mantidas em gaiolas feitas de tela de “nylon” (35 cm de largura e 60 cm de comprimento). Trinta minutos antes dos bioensaios, os insetos foram retirados das plantas para evitar que os semioquímicos emitidos pelos insetos interferissem nas respostas dos herbívoros.

Antes dos bioensaios em olfatometria, os insetos adultos foram retirados da gaiola de criação (descrita no tópico anterior) e mantidos em gaiolas de “voil” por uma hora sem se alimentarem. Os insetos foram testados individualmente, introduzindo-os na base do olfatômetro. Considerou-se como resposta, os insetos que caminhavam contra a corrente de ar alcançando o fim de um dos braços do “Y”, dentro de um período de 10 minutos. Indivíduos que não responderam durante esse intervalo de tempo foram considerados como não respondedores, e portanto, não foram incluídos nas análises.

Foram avaliadas respostas de no mínimo 40 insetos para cada forrageira, sendo que cada indivíduo foi testado apenas uma vez para evitar pseudorepetição. A cada 10 insetos testados, as plantas foram trocadas por novas plantas do mesmo tratamento a fim de reproduzir a fonte de odor.

A cada cinco insetos testados, o olfatômetro foi lavado com álcool etílico 96° GL e mantidos em uma estufa a 100°C durante 10 minutos e o olfatômetro foi rotacionado a 180° para evitar tendência posicional. A cada 10 insetos testados o olfatômetro foi lavado com detergente, água destilada e álcool e colocado na estufa a 100° C, durante 20 minutos.

Todos os testes foram realizados entre 10:00 e 16:00, no período de ocorrência dos insetos (entre outubro e abril), entre os anos 2015 e 2016. A temperatura média durante o período de teste foi de $26 \pm 2^\circ \text{C}$ e umidade relativa de $60 \pm 10\%$.

Coleta de voláteis

A coleta de voláteis das forrageiras foi realizada por meio de técnica de aeração. Para a coleta de extratos, foram selecionadas as plantas que modificaram a resposta de *M. spectabilis* em olfatômetro (Basilisk, Pioneiro e Marandú). Além destas plantas, também foram coletados extratos de Capim Gordura e Roxo de Botucatu, pois estudos prévios mostraram a não preferência em campo e casa de vegetação para Capim Gordura e a preferência em campo para Roxo de Botucatu (Silva et al 2017). Para observar possíveis mudanças na constituição de voláteis, foram coletados voláteis das plantas com e sem injúria de *M. spectabilis*.

Os copos (300 mL) com as plantas, foram envoltos em papel alumínio, como descrito anteriormente, e foram introduzidos individualmente em uma câmara de vidro (42 cm de altura x 16 cm de diâmetro), adaptada para aeração onde um fluxo de ar contínuo de 1,0 L/m, umidificado e filtrado com carvão ativado e calibrado através de um fluxômetro, atravessou a câmara carregando os voláteis liberados pela planta. Os voláteis ficaram retidos em uma coluna de vidro (11 cm de comprimento x 1 cm de diâmetro) contendo 0,5 gramas de polímero adsorvente (Haye Sep® D 80/ 100 Supelco, Belfonte, PA) como descrito por Zarbin (2001).

As plantas tiveram seus voláteis coletados por 24 horas em dias consecutivos (entre maio e dezembro de 2016), sendo que cada tratamento foi replicado 10 vezes. Os compostos foram dessorvidos a partir de 4 mL de *n*-hexano destilado (J.T Backer® 95% hexane, Sovereign, Taboão da Serra, SP, Brasil) em frascos de vidro de borossilicato. As amostras

foram pré-concentradas sob um fluxo de nitrogênio (com pureza de 99,99%) até aproximadamente 100 µL e colocadas no freezer (-25°) para posterior uso nos bioensaios.

Bioensaios com os extratos das plantas

Para testar a resposta olfativa de *M. spectabilis* aos extratos voláteis das plantas, foi utilizado um olfatômetro em “Y”, como descrito no tópico “Bioensaios com as forrageiras”. Extratos das plantas foram testados contra *n*-hexano, que serviu como controle. Observou-se a resposta de *M. spectabilis* para as seguintes combinações de odores: (1) Extrato de Pioneiro sem injúria vs. *n*-hexano; (2) Extrato de Roxo de Botucatu sem injúria vs. *n*-hexano; (3) Extrato de Basilisk sem injúria vs. *n*-hexano; (4) Extrato de Marandú sem injúria vs. *n*-hexano; (5) Extrato de Capim gordura sem injúria vs. *n*-hexano; (6) Extrato de Pioneiro com injúria vs. *n*-hexano; (7) Extrato de Roxo de Botucatu com injúria vs. *n*-hexano; (8) Extrato de Basilisk com injúria vs. *n*-hexano; (9) Extrato de Marandú com injúria vs. *n*-hexano e (10) Extrato de Capim gordura com injúria vs. *n*-hexano.

Para avaliar o efeito dos extratos voláteis, um pedaço de papel filtro (3 cm x 2 cm) foi impregnado com 10 µL dos extratos coletados das forrageiras ou *n*-hexano e depois colocado na extremidade distal de cada braço do olfatômetro. As fontes de odor (extrato das plantas ou *n*-hexano) foram substituídas a cada inseto testado.

Para cada tratamento foram avaliadas respostas de no mínimo 35 insetos, cada um, uma única vez. Os procedimentos de limpeza do olfatômetro seguiram os mesmos descritos para o bioensaio com as plantas. Os bioensaios foram realizados entre janeiro e abril de 2017.

Efeito da pressão barométrica na não resposta de *M. spectabilis* em olfatômetro

A influência da pressão barométrica no comportamento de não resposta de *M. spectabilis* para os voláteis das plantas ou extratos das forrageiras foi avaliado. Para tanto, as condições de pressão barométrica por hora foram obtidas através do Instituto Nacional de Meteorologia local (estação INMET).

Com base nos estudos de Marchand e McNeil (2000) e de Pellegrino et al (2013), examinaram-se os efeitos da mudança de pressão barométrica, ocorridas no período de 12 horas antes do início dos bioensaios, a cada dia de teste. As não respostas foram contabilizadas e separadas de acordo com as seguintes condições de pressão: (i) estável (pressão não oscilando mais que 1,9 mbar nas 12 horas anteriores aos bioensaios); (ii) elevada

(pressão foi estável nas primeiras 6 horas, mas aumentou pelo menos 2 mbar entre as próximas 6 horas); ou (iii) reduzida (pressão foi estável nas primeiras 6 horas, mas diminuiu por pelo menos 2 mbar entre as próximas 6 horas).

Análise química dos extratos liberados pelas forrageiras

Os extratos contendo os compostos voláteis liberados pelas forrageiras foram analisados através de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC/MS) realizada em um sistema Shimadzu CGMS-QP2010 Plus, equipado com um detector quadrupolo usando uma coluna de baixa sangria RTX-5MS (Crossbond[®] 5% difenil / 95% dimetil polisiloxano, 30 m x 0.25 mm x 0.25 µm), utilizado hélio como gás de arraste (1,02 mL/min). A divisão de fluxo foi ajustada para dar uma proporção de 20:1. A temperatura do forno foi programada de 60–250°C a 3°C/min.; EIMS: energia eletrônica, 70 eV; temperatura da fonte de íons a 180 °C.

Os compostos individuais foram identificados comparando seus índices de retenção (RI) e espectros de massas com aqueles de compostos autênticos, presentes nas bibliotecas de dados espectrais de massas (Adams 1995) e por um banco de dados de computador usando Wiley 275, NIST 21, NIST 107 (NIST 1998).

Análise estatística

As escolhas feitas pelas cigarrinhas *M. spectabilis* foram analisadas usando o teste do Chi quadrado, no programa estatístico R 3.0.1 (R Development Core Team, 2014). Insetos que não fizeram escolha entre as fontes de odores sob pressão estável, aumentada ou diminuída foram comparados pelo teste U de Mann-Whitney, analisados no programa estatístico Bio Estat 3.0 (Ayres et al. 2003).

Os dados quantitativos dos compostos orgânicos voláteis (% relativa) extraídos das cultivares Pioneiro, Basilisk e Marandu sem injúria e com injúria de *M. spectabilis* (Tabela 1) foram processados via análise de componentes principais (PCA), empregando-se o pacote PLS-Toolbox 3.0, que opera em ambiente Matlab 7.0.1. Nesta análise os dados foram autoescalados, a fim de compensar as diferenças entre as concentrações relativas de cada composto e evitar um mascaramento dos compostos voláteis minoritários.

Resultados

Bioensaios com as forrageiras

A cigarrinha-das-pastagens *M. spectabilis* foi atraída para odores das cultivares sem injúria de Basilisk ($\chi^2 = 4,9$; GL= 1; P= 0,027) e Pioneiro ($\chi^2 = 4,9$; GL=1; P= 0,027). Porém, os odores das forrageiras Jaraguá, Tanzânia, Makueni, Tifton, Capim gordura, Roxo de Botucatu e Marandú sem injúria não foram significativamente atrativos para a cigarrinha-das-pastagens (Figura 1).

Nenhuma das espécies forrageiras submetidas ao ataque do inseto-praga emitiu odores que proporcionasse atração significativa para *M. spectabilis*. Odores de repelência somente foram constatados para as respostas de *M. spectabilis* aos odores de Marandú com injúria ($\chi^2 = 6,4$; GL= 1; P= 0,011), de modo que os insetos foram mais atraídos para o ar limpo que para as plantas (Figura 2).

Bioensaios com os extratos das plantas

Para os extratos provenientes das forrageiras Basilisk, Pioneiro, Capim gordura, Roxo de Botucatu e Marandú, a resposta de atração ou repelência do inseto-praga não foi influenciada significativamente por seus odores (Figura 3) quando não injuriados pelos insetos.

Constatou-se preferência pelo ar limpo quando contrastado com extrato de Marandú com injúria de *M. spectabilis* ($\chi^2 = 6,4$; GL= 1; P= 0,011). Para as demais forrageiras, os odores das plantas não proporcionaram atração ou repelência ao inseto praga (Figura 4).

Efeito da pressão barométrica na não resposta de *M. spectabilis* em olfatômetro

Um grande número de insetos não respondeu aos voláteis das plantas e aos extratos durante os bioensaios (Figuras 1, 2, 3 e 4). Essa não resposta foi afetada pela diminuição da pressão barométrica, cujo valor foi inversamente proporcional (U= 966.00, P= 0,0017) ao número de insetos não respondedores, quando comparado com aqueles mantidos em pressão barométrica estável. Por outro lado, a pressão elevada não alterou o número de espécimes que não responderam ao estímulo olfativo.

Análise química dos extratos liberados pelas forrageiras

A análise química das amostras indicou que a constituição de voláteis foi diferente entre as cultivares Pioneiro, Basilisk e Marandú sem injúria e com injúria de *M. spectabilis* (Tabela 1), fato que é confirmado através da Análise de Componentes Principais (PCA) e a distribuição dos “scores” (Figura 5). A separação das cultivares com injúria daquelas sem injúria foi obtida pelo primeiro componente principal (PC1) que representa 58,93% da variância total dos dados. Embora o segundo componente (PC2) representa um adicional importante de 20,72% da variação, totalizando cerca de 80% da variância, a distribuição das amostras entre PC1 vs. PC2 geraram indícios da possibilidade de discriminar também as cultivares.

Analisando-se conjuntamente os gráficos de “scores” e “loadings” do PC1 vs. PC2 (Figura 5), é possível observar que a mistura volátil das forrageiras sem injúria foi caracterizada pela emissão de limoneno e β -pineno em maior concentração relativa; no entanto, estes compostos também estão presentes em plantas com injúria. Dessa forma, o foco principal da diferenciação das cultivares sem injúria foi a ausência dos compostos mentona, cânfora, eucaliptol, *o*-cimeno.

Os compostos mentona e eucaliptol estiveram presentes na cultivar Marandú com injúria, na qual os insetos foram repelidos em testes de olfatométrica, e em Basilisk e Pioneiro que perderam a atratividade, comparado com aquelas sem injúria. As cultivares Marandú e Basilisk emitiram ainda os compostos cânfora e *o*-cimeno. No entanto, embora Marandú e Basilisk com injúria possuíram qualitativamente a mesma constituição de voláteis, a cultivar Marandú emitiu quantidade maior de Cânfora quando comparado a Basilisk (Tabela 1), fato que também pode ser comprovado pelo posicionamento deste cultivar (lado positivo de PC1 e PC2), cuja maior influência se deu pelo composto cânfora (Figura 5).

Discussão

A seleção da planta hospedeira é crucial para a sobrevivência de insetos herbívoros, e esta decisão é frequentemente baseada na adequabilidade da planta para alimentação (Bernays e Chapman 1994). Essa seleção pelo herbívoro é um processo que requer uma série de eventos que vão desde a percepção do local da planta hospedeira até sua aceitação (Bruce et al 2005; Schoonhoven et al. 2005).

É bem conhecido que muitos insetos utilizam compostos orgânicos voláteis das plantas como pistas olfativas para encontrar sua planta hospedeira (Bruce e Pickett 2011; Hare 2011; Furstenberg-Hägg et al. 2013), podendo assim, discriminar entre plantas hospedeiras e não hospedeiras (Bruce e Pickett 2011). Neste estudo, investigou-se o papel dos voláteis de plantas forrageiras no comportamento de adultos de *M. spectabilis*.

Adultos de *M. spectabilis* responderam positivamente aos voláteis de plantas sem injúria das cultivares Pioneiro e Basilisk, confirmando a existência de preferência alimentar de *M. spectabilis* por essas plantas, como sugerido por Silva et al. (2017). Os autores constataram atração destes insetos para Basilisk em casa de vegetação e de Pioneiro em casa de vegetação e em campo. A atração dos insetos para os voláteis liberados por essas plantas sugerem que eles utilizam informações provenientes das plantas para localizar recursos adequados, já que estas também demonstraram ser suscetíveis a ninfas e adultos da cigarrinha nos estudos de Silva et al. (2017). Os voláteis liberados por plantas sem injúria de insetos são os chamados constitutivos, e já foram demonstrados por atrair outros insetos, como por exemplo, o pulgão *Aphis gossypii* Glöver (Hedge et al. 2011) e o bicudo-do-algodoeiro *Anthonomus grandis* Boheman (Magalhães et al. 2012) para algodão.

Embora as plantas tenham sido atrativas para os insetos, o mesmo não ocorreu quando os extratos coletados de Basilisk e Pioneiro sem injúria foram oferecidos como fonte de odor aos insetos. O sistema olfativo dos insetos tem sensibilidade e especificidade extremamente altas para determinadas voláteis (Pickett et al. 1993; Hanson et al. 1999). Assim, é possível que na concentração dos extratos, devido à metodologia usada, alguns compostos importantes altamente voláteis não tenham permanecido nos extratos, gerando essa discrepância entre as respostas dos insetos às plantas e aos seus extratos. Dessa forma, os compostos presentes nas plantas atrativos aos insetos não foram detectados, uma vez que a análise química das plantas não mostra componentes diferentes da cultivar Marandú, que não é atrativa aos insetos estudados.

O entendimento do comportamento de insetos na localização de hospedeiros pode ser fundamental para sistemas de monitoramento e captura de pragas (Cai et al. 2015). O uso de atrativos em armadilhas, por exemplo, melhora significativamente o desempenho desta, aumentando a chance de detectar até infestações da praga em baixa densidade (Mahroof e Philips 2008). Além disso, plantas atrativas também podem ser utilizadas como parte de estratégia *push-pull* para o controle de pragas, em conjunto com plantas repelentes (Ukeh et al. 2009). Dessa forma, a atratividade de *M. spectabilis* aos odores de Pioneiro e Basilisk

precisa ser mais bem estudada a fim de identificar as razões pelas quais a atração ocorre, o que apresenta potencial de ser utilizado no manejo desta praga (Silva et al. 2017).

M. spectabilis não responderam aos voláteis liberados por plantas e aos extratos de Basilisk e Pioneiro com injúria de coespecíficos. Isto demonstra que esses insetos podem discriminar entre plantas infestadas e não infestadas. Quando herbívoros se alimentam de uma planta, há a liberação de compostos orgânicos voláteis a partir do local da injúria, como resultado de danos provocados aos tecidos celulares (Dudareva et al. 2004). Estudos demonstram que as alterações bioquímicas e fisiológicas que ocorrem nas plantas após a alimentação por insetos herbívoros, podem mudar a constituição dos voláteis liberados (Karban e Baldwin 1997; Turlings e Wackers 2004; Arimura et al. 2009; Kugimiya et al. 2010). A análise de componentes principais (PCA) realizada neste estudo mostrou clara diferença entre os voláteis liberados antes e após a herbivoria (Tabela 1, Figura 5), sendo que os compostos mentona, eucaliptol, cânfora e o-cimeno, emitidos apenas em plantas com injúria, explicam essa diferença.

A emissão de novos compostos voláteis pelas plantas após a herbivoria é frequentemente referida como voláteis de plantas induzidos pela herbivoria (HIPVs) (Agrawal 1998; Hare 2011; Zhuang et al. 2012). Os HIPVs podem afetar os herbívoros indiretamente, pela atração de inimigos naturais em interações tritróficas (Takabayashi e Dicke 1996; Du et al. 1998; Turlings e Ton 2006; Heil 2008) e diretamente devido à presença de substâncias tóxicas, repelentes ou deterrentes (Bernasconi et al. 1998; De Moraes et al. 2001).

Os compostos liberados após a herbivoria neste estudo são monoterpenos, que juntamente com outros terpenoides representam um dos maiores grupos de HIPVs (Maffei 2010; Holopainen e Bland 2013), e suas emissões após infestação de insetos já foram constatadas em outros estudos. Fernandes et al. (2010), por exemplo verificaram a emissão de cânfora em plantas de couve somente após a herbivoria de *Pieris brassicae* L. Em outro estudo, foi constatada a emissão de eucaliptol após a herbivoria de *Diuraphis noxia* (Mordvilko) em raízes de *Arabidopsis* (Steeghs et al 2004).

Embora as cultivares Pioneiro e Basilisk com injúria não sejam atrativas a *M. spectabilis*, a constituição de voláteis dessas plantas se difere no sentido de Pioneiro não apresentar os compostos o-cimeno e Cânfora em sua constituição, como Basilisk. Dos compostos liberados após a herbivoria, os que se assemelharam entre as duas forrageiras foram mentona e eucaliptol. Estudos mostram que esses compostos podem ter ação inseticida ou deterrente (Ibrahim et al. 2001; Tripathi et al. 2001). Assim, supõe-se que esses compostos podem ter sido responsáveis por afetar o comportamento de seleção hospedeira, e

apresentam potencial de serem utilizados como forma de reduzir a colonização de herbívoros adicionais, por tornarem as plantas menos atrativas aos insetos.

Diferente do que ocorre para Basilisk e Pioneiro, *M. spectabilis* não responderam aos voláteis liberados pela cultivar Marandu e extrato desta planta sem injúria e foram repelidos pelas plantas e seus extratos após a injúria de *M. spectabilis*, sugerindo que podem evitar plantas previamente infestadas.

Comportamento de repelência pode ocorrer se o odor do hospedeiro demonstra ser um hospedeiro de pobre qualidade (Cook et al. 2007). Diversos estudos reportaram Marandú como resistente às cigarrinhas-das-pastagens de diferentes espécies (Lapointe et al. 1992; Cardona et al. 2004; Cardona e. al. 2010; Grisoto et al. 2014), e até mesmo para ninfas de *M. spectabilis* (Souza Sobrinho et al. 2010; Ferreira et al. 2013). No entanto, Silva et al (2017) demonstraram que essa planta favoreceu o desempenho de ninfas e adultos de *M. spectabilis* em casa de vegetação. Desta forma, a repelência ocorrida no atual estudo pode não estar envolvida com a qualidade da planta.

Além de poder indicar plantas de qualidade pobre, os HIPVs podem deter a utilização da planta por herbívoros subsequentes como indicadores de competição, sendo que competidores específicos podem ser particularmente evitados, a fim de reduzir a competição por sítios de alimentação e ou oviposição (Dicke e Van Loon, 2000). Estudos prévios realizados em casa de vegetação também revelaram que após uma hora de infestação de *M. spectabilis*, Marandú deixou de ser preferida para alimentação, além de ser considerada pouco atrativa em campo (Silva et al. 2017).

Outros estudos também demonstraram menor atração de insetos herbívoros a plantas infestadas por coespecíficos. Da Costa et al. (2010), por exemplo encontraram que após a infestação por coespecíficos, a cultivar SPHGB de *Capsicum* spp repele o afídeo *A. gossypii*. Dessa forma, a injúria ocasionada pela chegada dos primeiros insetos herbívoros pode induzir mudanças na produção de metabólitos secundários, alterando o perfil de voláteis que podem ser usados como sinais químicos pelas pragas imigrantes (Kalinova et al 2000; Bichão et al 2005). Isto fica claro na análise química no presente estudo que mostrou que embora qualitativamente os compostos liberados sejam os mesmos de Basilisk, quantitativamente há maior produção de cânfora em Marandú. Desta forma, há indícios de que esse composto seja o responsável pela repelência. Este composto já foi demonstrado entre os compostos que repelem outros insetos, como por exemplo, o besouro-da-batata-do-colorado *Leptinotarsa decemlineata* Say (Schearer 1984) e o lepidóptero *Ectropis obliqua* Prout (Zhang et al. 2013).

Repelentes emitidos pelas plantas podem ser utilizados para reduzir populações de insetos pragas (Calumpang et al. 2014). O cultivo de espécies de plantas repelentes adjacentes à espécies hospedeiras pode interferir com as pistas olfativas usadas pelo inseto praga (Altieri et al. 1977). Assim, plantas repelentes representam um componente chave em estratégias “push pull” baseadas em plantas para o manejo de populações de pragas (Zhang et al 2013). Na África, por exemplo, plantas de Capim gordura e *Desmodium uncinatum* (Jacq) que liberam voláteis repelentes são usados intercalados em cultura de milho e sorgo, a fim de reduzir a população de pragas (Khan et al. 1997; Khan e Pickett 2004). Dessa forma, dentre os compostos encontrados em Marandú com injúria, o composto Cânfora especialmente, apresenta potencial de ser utilizado como repelente à *M. spectabilis*.

A resposta dos insetos à Basilisk, Pioneiro e Marandú mostra que sinais olfativos podem estar envolvidos na seleção hospedeira de *M. spectabilis*. No entanto, embora sejam capazes de responder aos estímulos olfativos, observou-se um grande número de insetos não respondedores. Isto pode ser explicado pelo fato de que o período de ocorrência de *M. spectabilis* e da realização dos testes coincide com o período de maior ocorrência de chuvas no Brasil, o que causa diminuição na pressão barométrica. Essa queda já foi demonstrada por alterar o comportamento de outros insetos (Pellegrino et al. 2013), e neste trabalho aumentou a frequência de insetos não respondedores.

As plantas e extratos de Roxo de Botucatu e Capim Gordura, bem como as plantas Makueni, Tanzânia e Jaraguá não alteraram o comportamento de resposta de *M. spectabilis* em olfatometro. A não resposta aos voláteis da cultivar Tifton neste estudo mostram que não há comunicação química entre essa planta e *M. spectabilis*, corroborando os estudos de Silva et al. (2017) que demonstraram pouca atratividade dessa planta em casa de vegetação e nenhuma atratividade em campo.

Embora Roxo de Botucatu tenha sido uma das forrageiras mais atrativas e ter favorecido a sobrevivência em campo e casa de vegetação de *M. spectabilis*, ela não se mostrou atrativa em casa de vegetação em estudo anterior (Silva et al. 2017), da mesma forma que não foi atrativa em olfatômetro no presente estudo, mostrando que *M. spectabilis* não consegue distinguir os voláteis dessa planta. Por outro lado, as plantas de Capim gordura, Makueni e Tanzânia que demonstraram não serem preferidas para alimentação por adultos de *M. spectabilis* em estudo anterior (Silva et al. 2017), neste estudo, não demonstraram repelência à *M. spectabilis*. Assim, não há evidência de que a resistência dessas plantas poderia estar relacionada aos compostos orgânicos voláteis das plantas. Desta forma, a não

preferência para as plantas pode estar associada a outros fatores, tais como sinais acústicos, visuais dentre outros.

O fato de os insetos não terem o comportamento de resposta alterado por essas plantas ou seus extratos, não significa que elas não possam ter substâncias atraentes, no caso de Roxo de Botucatu, ou repelentes no caso das demais plantas identificadas como resistentes. Capim gordura, por exemplo, libera compostos repelentes a outros insetos e tem sido bastante utilizado em sistemas “push pull” no controle de pragas (Khan et al. 2000). Assim, a não resposta a essas plantas pode estar associada à baixa especificidade de *M. spectabilis* aos voláteis emitidos das forrageiras em questão.

A baixa especificidade olfativa em outros insetos tem sido associada ao baixo número de receptores olfativos nas suas antenas. Stacconi e Romani (2012), por exemplo, associaram a baixa gama de hospedeiros de *Scaphoideus titanus* Ball à presença de poucas sensilas olfativas nas antenas, que estariam relacionadas à especialização em alguns odorantes específicos emitidos por uma única planta hospedeira. Recentemente, Ranieri et al. (2016) também verificaram poucas sensilas olfativas nas antenas de *Philaenus spumarius* L., inseto da subfamília Cercopoidea, relacionado à possibilidade de que os poucos receptores olfativos e neurônios sensoriais nessa espécie possam ter uma especificidade muito baixa, ou as pistas químicas poderiam não ser tão importante para esses insetos, tais como estímulos visuais e vibratórios durante a localização hospedeira.

O processo de seleção do hospedeiro pode envolver dois extremos, a escolha do hospedeiro à distância, usando pistas olfativas e visuais, e os insetos selecionando seu hospedeiro somente após o contato quando pistas táteis e gustativas também são empregadas (Visser 1988). Embora as pistas voláteis das plantas hospedeiras possam fornecer informações cruciais para os insetos herbívoros durante a orientação para uma planta (Bruce e Pickett 2011), as características físicas das plantas também desempenham um importante papel na avaliação da adequação da planta hospedeira (Waladde et al. 1990). Insetos da subordem Auchenorrhyncha, como *M. spectabilis*, são considerados por alguns autores como menos receptivos a odores na comunicação intraespecífica e na busca de hospedeiros que outros insetos da ordem Hemiptera. Sendo assim, as interações desses insetos seriam mediadas principalmente por sinais acústicos (Claridge 1985).

Para a maioria dos insetos herbívoros diurnos, pistas olfativas e visuais desempenham um papel central durante a localização hospedeira (Finch e Colier 2000). A combinação de pistas olfativas e visuais pode ser um método viável para explorar a orientação olfativa de herbívoros diurnos, e tem sido demonstrado afetando o comportamento de outros hemípteros

tais como *Homalodisca vitripennis* (Germar) (Patt e Setamou 2007), o *Lygus hesperus* Lygus *hesperus* (Blackmer e Canãs 2005), *Diaphorina citri* Kuwayama (Wenniger et al. 2009) e *Empoasca vitis* Göthe (Cai et al. 2015). Pistas visuais e vibratórias de Capim gordura, Makueni, Tanzânia devem ser consideradas em estudos futuros, a fim de se identificar os mecanismos responsáveis pela não preferência de *M. spectabilis* por essas plantas e pela preferência de Roxo de Botucatu, ambas, detectadas por Silva et al. (2017).

Outras características químicas e táteis dessas plantas também devem ser consideradas em estudos futuros. Em outras espécies de insetos como, por exemplo, *Chilo partellus* (Swinhoe), foi relatado que os insetos aproximam de potenciais plantas hospedeiras para avaliar sua adequação e exibem comportamento de não aceitação após o contato com pistas químicas e táteis particulares (Midega et al. 2011). De acordo com Cosenza (1982), a repelência de ninfas de *D. flavopicta* à Capim gordura seria devido à presença de exudatos em tricomas das plantas.

A planta Jaraguá foi caracterizada em outros estudos como atraente aos adultos das cigarrinhas *Deois flavopicta* (Cosenza et al 1989) e *M. spectabilis* (Silva et al 2017). No entanto, neste estudo não atraíram *M. spectabilis* em olfátometro. Essa discrepância pode ser explicada pelo fato de que nos outros estudos as cigarrinhas podiam interagir diretamente com a planta envolvendo todos os sentidos, enquanto que no atual estudo apenas o sentido olfativo foi avaliado. Sendo assim, a atração para esta planta pode não ser apenas química, e também estarem envolvidas pistas visuais, gustativas e ou táteis.

Este trabalho é o primeiro a evidenciar que pistas olfativas podem desempenhar um papel na comunicação interespecífica entre uma espécie de cigarrinha-das-pastagens e algumas de suas plantas hospedeiras. Foi demonstrado que a escolha para planta hospedeira pode ser atribuída a odores específicos de plantas como Basilisk e Pioneiro, que precisam ser melhor estudados, bem como a repelência para plantas já infestadas, no caso de Marandú. Estes dados sugerem o potencial de uso dos voláteis dessas plantas em programas de manejo de *M. spectabilis*, em especial do composto cânfora que aparentemente repele as cigarrinhas e daqueles que possivelmente tornam as forrageiras menos atrativas, como mentona e eucaliptol.

A identificação desses voláteis foi o primeiro passo para entender os papéis ecológicos desses compostos na comunicação química entre as forrageiras e cigarrinhas-das-pastagens. Futuros estudos poderão abordar a atividade dos compostos sobre a cigarrinha-das-pastagens em laboratório e em campo, e seus efeitos em inimigos naturais e polinizadores, antes de serem explorados no manejo da praga.

Agradecimentos

Agradecemos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) por dar suporte a esta pesquisa.

Referências

- Adams RP (1995) Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. Allured Publishers, Carol Stream, IL
- Agrawal AA (1998) Induced responses to herbivory and increased plant performance. *Science* 279: 1201-1202
- Aguirre L M, Cardona C, Miles JW, Sotelo G (2012) Characterization of resistance to adult spittlebugs (Hemiptera: Cercopidae) in *Brachiaria* spp. *J Econ Entomol* 106:1871-1877
- Aharoni A, Giri A P, Deuerlein S, Griepink FDE, Kogel WJ, Verstappen F W, Bouwmeester HJ (2003) Terpenoid metabolism in wild-type and transgenic Arabidopsis plants. *Plant Cell* 15: 2866-2884
- Altieri MA, Van Schoonhoven A, Doll J (1977) The ecological role of weeds in insect pest management systems: a review illustrated by bean (*Phaseolus vulgaris*) cropping systems. *PANS* 23: 195-205.
- Arimura G, Matsui K.; Takabayashi J (2009) Chemical and molecular ecology of herbivore-induced plant volatiles: proximate factors and their ultimate functions. *PlantCell Physiol* 50: 911-923
- Auad AM, Simões AD, Pereira AV, Braga ALF, Sobrinho FS, Léo FJS, Paula-Moraes SV, Oliveira SA, Ferreira RB (2007) Seleção de genótipos de capim-elefante quanto à resistência à cigarrinha-das-pastagens. *Pesq Agropec Bras* 42: 1077-1081
- Ayres M, Ayres JR M, Ayres D L, Santos AS (2003) BiosEstat 3.0: Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Pará: Belém: Sociedade Civil Mamirauá, Brasília CNPq. 291 p.
- Bastos CS, Suinaga FA, Vieira RM, Lima EF (2008) Resistência do algodoeiro a artropodes-praga. *O Agronegócio do Algodão no Brasil* (ed. by NEM Beltrão, DMP Azevedo). Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, DF, Brasil pp. 357-411
- Baldwin IT (2010) Plant volatiles. *Curr Biol* 20:92–97

- Bernasconi ML, Turlings TC, Ambrosetti L, Bassetti P, Dorn S (1998) Herbivore-induced emissions of maize volatiles repel the corn leaf aphid, *Rhopalosiphum maidis*. *Entomol Exp Appl* 87: 133-142
- Bernays EA, Chapman RE (1994) Behavior: the process of host-plant selection, pp. 95–165. In EA Bernays, RE Chapman (eds.) *Host–plant selection by phytophagous insects*. Chapman and Hall, New York
- Bichão H, Borg-Karolson AK, Araújo J, Mustaparta H (2005) Five types of olfactory receptor neurons in the strawberry blossom weevil *Anthonomus rubi*: selective responses to inducible host plants volatiles. *Chem Senses* 30: 153-170
- Blackmer JL, Cañas LA (2005) Visual cues enhance the response of *Lygus hesperus* (Heteroptera:Miridae) to volatiles from host plants. *Environ Entomol* 34: 1524-1533
- Bruce TJA, Pickett JA (2011) Perception of plant volatile blends by herbivorous insects—finding the right mix. *Phytochem* 72: 1605-1611
- Bruce TJA, Wadhams LJ, Woodcock CM (2005) Insect host location: a volatile situation. *Trends Plant Sci* 10: 269-274
- Byers R A, Wells HD (1966) Phytotoxemia of coastal bermudagrass caused by the two-lined spittlebug, *Prosapia bicincta* (Homoptera: Cercopidae). *Ann Entomol Soc Am* 59: 1067-1071
- Claridge MF (1985) Acoustic signals in the Homoptera: behavior, taxonomy, and evolution. *Annu Rev Entomol* 30: 297-317
- Cai XM, Xu XX, Bian L, Luo ZX, Xin Z, Chen ZM (2015) Attractiveness of host volatiles combined with background visual cues to the tea leafhopper, *Empoasca vitis*. *Entomol Exp Appl* 157: 291-299
- Calumpang SMF, Navasero MM, Burgonio GAS, Navasero MV (2014) Repellency of Volatile Organic Chemicals of Kakawate, *Gliricidia sepium* (Jacq) Walp, to Rice Green Leafhopper, *Nephotettix virescens* (Distant) (Hemiptera: Cicadellidae). *Philip Agric Sci* 97: 148-154
- Cardona C, Fory P, Sotelo G, Pabon A, Diaz G, Miles J. W (2004) Antibiosis and tolerance to five species of spittlebug (Homoptera: Cercopidae) in *Brachiaria* spp.: implications for breeding for resistance. *J Econ Entomol* 97: 635-645
- Cardona C, Miles JW, Zuñiga E, Sotelo G (2010) Independence of resistance in *Brachiaria* spp. to nymphs or to adult spittlebugs (Hemiptera: Cercopidae): implications for breeding for resistance. *J Econ Entomol* 103: 1860-1865

- Cook SM, Khan ZR, Pickett JA (2007) The use of push-pull strategies in integrated pest management. *Annu Rev Entomol* 52: 375-400
- Cosenza GW, Andrade RD, Gomes DT, Rocha CD (1989) Resistência de gramíneas forrageiras à cigarrinha-das-pastagens. *Pesq Agropec Bras* 24: 961-968
- Cosenza GW (1982) Resistência de gramíneas forrageiras à cigarrinha-das-pastagens *Deois flavopicta* (Stal 1854). Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, Brazil
- Da Costa JG, Pires EV, Riffel A, Birkett MA, Bleicher E, Sant'Ana AEG (2011) Differential preference of *Capsicum* spp. cultivars by *Aphis gossypii* is conferred by variation in volatile semiochemistry *Euphytica* 177: 299-307
- De Moraes CM, Mescheer MC, Tumlinson JH (2001) Caterpillar-induced nocturnal plant volatiles repel nonspecific females. *Nature* 410: 577-580
- Dias-Filho MB (2014) Diagnóstico das pastagens no Brasil. Embrapa Amazônia Oriental, Belém PA Brasil
- Dicke M, van Loon JJA (2000) Multitrophic effects of herbivore-induced plant volatiles in an evolutionary context. *Entomol Exp Appl* 97: 237-249
- Du YJ, Poppy GM, Powell W, Pickett JA, Wadhams LJ, Woodcock CM (1998) Identification of semiochemicals released during aphid feeding that attract parasitoid *Aphidius ervi*. *J Chem Ecol* 24: 1355-1368
- Dudareva N, Pichersky E, Gershenzon J (2004) Biochemistry of plant volatiles. *Plant Physiol* 135: 1893-1902.
- Fernandes F, Pereira DM, de Pinho PG, Valentão P, Pereira JA, Bento, A, Andrade PB (2010) Headspace solid-phase microextraction and gas chromatography/ion trap-mass spectrometry applied to a living system: *Pieris brassicae* fed with kale. *Food chem* 119: 1681-1693
- Ferraz JBS, Felício PE de (2010) Production systems—An example from Brazil. *Meat Science* 84: 238-243
- Ferreira RB, Moraes JC, Auad AM, Fonseca MG (2013) Interaction of spittlebug and forage grass under different carbon dioxide concentrations. *J Pest Sci* 86: 161-166
- Finch S, Collier RH (2000) Host plant selection by insects – a theory based on ‘appropriate/inappropriate landings’ by pest insects of cruciferous plants. *Entomol Exp Appl* 96: 91-102
- Fürstenberg-Hägg J, Zagrobelny M, Bak S (2013) Plant defense against insect herbivores. *Int J Mol Sci* 14: 10242-10297

- Grisoto E, Vendramim JD, Lourenção AL, Usberti Filho JA, Dias CTDS (2014) Biology of *Mahanarva fimbriolata* on forage grasses. *Cienc Rural* 44: 1043-1049
- Hansson BS, Larsson MC, Leal WS (1999) Green leaf volatile-detecting olfactory receptor neurones display very high sensitivity and specificity in a scarab beetle. *Physiol Entomol* 24:121–126
- Hare JD (2011) Ecological role of volatiles produced by plants in response to damage by herbivorous insects. *Annu Rev Entomol* 56:161-180
- Hegde M, Oliveira JN, Costa JG, Bleicher E, Santana AEG, Bruce TJA, Caulfield J, Dewhurst SY, Woodcock CM, Pickett JA, Birkett MA (2011) Identification of semiochemical released by cotton, *Gossypium hirsutum*, upon infestation by the cotton aphid, *Aphis gossypii*. *J Chem Ecol* 37:741-750
- Heil M (2008) Indirect defence through tritrophic interactions. *New Phytol* 178: 41-61
- Holopainen JK, Blande JD (2013) Where do herbivore-induced plant volatiles go?. *Front Plant Sci* 4: 185
- Ibrahim MA, Kainulainen P, Aflatuni A, Tiilokkala K, Holopainen JK (2001) Insecticidal, repellent, antimicrobial activity and phytotoxicity of essential oils: with special reference to limonene and its suitability for control of insect pests (Review). *Agric Food Sci in Finl* 10:243-259
- Karban R (2010) Neighbours affect resistance to herbivory – a new mechanism. *New Phytol* 186: 565-566
- Karban R, Baldwin IT (1997) *Induced Responses to Herbivory*. University of Chicago Press, Chicago.
- Khan ZR, Ampong-Nyarko K, Chiliswa P, Hassanali A, Kimani S, et al. (1997) Intercropping increases parasitism of pests. *Nature* 388:631-632
- Khan ZR, Pickett JA (2004) The ‘push-pull’ strategy for stemborer management: a case study in exploiting biodiversity and chemical ecology. In *Ecological Engineering for Pest Management: Advances in Habitat Manipulation for Arthropods*, ed. GM Gurr, SD Wratten, MA Altieri, pp. 155–64. Wallington, Oxon, UK: CABI
- Khan ZR, Pickett JA, Berg JVD, Wadhams LJ, Woodcock CM (2000) Exploiting chemical ecology and species diversity: stem borer and striga control for maize and sorghum in Africa. *Pest Manag Sci* 56: 957-962
- Kalinova B, Stransky K, Harmatha J, Ctvrticka R, Zd'arek J (2000) Can chemical cues from blossom buds influence cultivar preference in the apple blossom weevil (*Anthonomus pomorum*)? *Entomol Exp Appl* 95: 47-52

- Kugimiya S, Shimoda T, Tabata J, Takabayshi J (2010) Present or past herbivory: a screening of volatiles released from *Brassica rapa* under caterpillar attacks as attractants for the solitary parasitoid, *Cotesia vestalis*. *J Chem Ecol* 36: 620-628
- Lapointe SL, Serrano MS, Arango GL, Sotelo G, Córdoba F (1992) Antibiosis to spittlebugs (Homoptera: Cercopidae) in accessions of *Brachiaria* spp. *J Econ Entomol* 85: 1485-1490
- Lófez F, Cardona C, Miles JW, Sotelo G, Montoya J (2009) Screening for resistance to adult spittlebugs (Hemiptera: Cercopidae) in *Brachiaria* spp.: methods and categories of resistance. *J Econ Entomol* 102: 1309-1316
- Maffei M.E (2010) Sites of synthesis, biochemistry and functional role of plant volatiles. *S Afr J Bot* 76: 612-631
- Maharjan R, Jung C (2016) Olfactory Response and Feeding Preference of *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae) to Potato Cultivars. *Environ Entomol* 45: 1205-1211
- Mahroof RM, Phillips TW (2008) Responses of stored product Anobiidae to pheromone lures and plant-derived volatiles. *J Appl Entomol* 132:161-167
- Magalhães DM, Borges M, Laumann RA, Sujii ER, Mayon P et al. (2012) Semiochemicals from herbivory induced cotton plants enhance the foraging behavior of the cotton boll weevil, *Anthonomus grandis*. *J Chem Ecol* 38: 1528-1538
- Marchand D, McNeil JN (2000) Effects of wind speed and atmospheric pressure on mate searching behaviour of the aphid parasitoid *Aphidius nigripes* (Hymenoptera: Aphidiidae). *J Insect Behav* 13: 187-199
- Miller JR, Cowles RS (1990) Stimulo-deterrent diversion: a concept and its possible application to onion maggot control. *J Chem Ecol* 16:3197-3212
- Moraes MCB, Souza LMP, Laumann R, Borges M (2003) Metodologia para estudo de semioquímicos e a sua aplicação no manejo de pragas. A influência de soja no comportamento do parasitoide *Telonomus podisi*. Brasília, Embrapa, 6p.
- National Institute of Standards and Technology (1998) PC version of the NIST/ EPA/NIH Mass Spectral Database. U.S. Department of Commerce, Gaithersburg, MD
- Patt JM, Sétamou M (2007) Olfactory and visual stimuli affecting host plant detection in *Homalodisca coagulata* (Hemiptera: Cicadellidae). *Environ Entomol* 36: 142-150
- Pellegrino AC, Peñaflor MFGV, Nardi C, Bezner-Kerr W, Guglielmo CG, Bento JMS, McNeil JN (2013) Weather forecasting by insects: modified sexual behaviour in response to atmospheric pressure changes. *PLoS One* 8: e75004

- Pickett JA, Wadhams LJ, Woodcock CM (1993) Exploiting behaviourally active phytochemicals in crop protection. In: van Beek, T.A., Breteler, H. (Eds.), *Phytochemistry and Agriculture*. Clarendon Press, Oxford, pp. 62-75
- R development core team. *r: a language and environment for statistical computing*. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, Vienna, 2014.
- Ranieri E, Ruschioni S, Riolo P, Isidoro N, Romani R (2016) Fine structure of antennal sensilla of the spittlebug *Philaenus spumarius* L.(Insecta: Hemiptera: Aphrophoridae). I. Chemoreceptors and thermo-/hygroreceptors. *Arthropod Struct Dev* 45: 432-439
- . Scheerer WR (1984) Components of oil of tansy (*Tanacetum vulgare*) that repel Colorado potato beetles (*Leptinotarsa decemlineata*). *J Nat Prod* 47: 964-969
- Schoonhoven LM, Van Loon JJA, Dicke M (2005). *Insect-Plant Biology*, 2nd ed. Oxford University Press, Oxford, UK
- Souza Sobrinho F, Auad AM, Léo FJS (2010) Genetic variability in *Brachiaria ruziziensis* for resistance to spittlebugs. *Crop Breed Appl Biotechnol* 10: 83-88
- Silva SEB, A. Auad M, Moraes JC, Alvarenga R, Claudino SS, Resende TT (2017) Biological Performance and Preference of *Mahanarva spectabilis* (Hemiptera: Cercopidae) for Feeding on Different Forage Plants. *J Econ Entomol* 110: 1877-1885
- Silva JB, Silva-Torres CS, Moraes MCB, Torres JB, Laumann RA, Borges M (2015) Interaction of *Anthonomus grandis* and cotton genotypes: Biological and behavioral responses. *Entomol Exp Appl* 156: 238-253
- Silva R, Walter GH, Wilson LJ, Furlong MJ (2016) Effect of the postfeeding interval on olfactory responses of thrips to herbivore-induced cotton plants. *Insect Sci* 23: 881-892
- Stacconi MVR, Romani R (2012) Antennal sensory structures in *Scaphoideus titanus* Ball (Hemiptera: Cicadellidae). *Microsc Res Tech* 75: 458-466
- Steeghs M, Bais HP, de Gouw J, Goldan P, Kuster W, Northway M, Fall R, Vivanco JM (2004) Proton-transfer-reaction mass spectrometry as a new tool for real time analysis of root-secreted volatile organic compounds in Arabidopsis. *Plant Physiol* 135: 47-58
- Takabayashi J, Dicke M (1996) Plant-carnivore mutualismo through herbivore-induced carnivore attractants. *Trends Plant Sci* 1:109-113
- Thompson V (2004) Associative nitrogen fixation, C4 photosynthesis, and the evolution of spittlebugs (Hemiptera: Cercopidae) as major pests of neotropical sugarcane and forage grasses. *Bull. Entomol. Res.* 94: 189-200

- Tripathi AK, Prajapati V, Aggarwal KK, Kumar S. Toxicity (2001) Feeding deterrence, and effect of activity of 1,8-cineole from *Artemisia annua* on progeny production of *Tribolium castaneum* (Coleoptera:Tenebrionidae). *J Econ Entomol* 94:979-983
- Turlings TCJ, Ton J (2006) Exploiting scents of distress: the prospect of manipulating herbivore-induced plant odours to repel pest insects and attract their enemies. *Curr Opin Plant Biol* 9: 421-427
- Turlings TCJ, Wackers F (2004) Recruitment of predators and parasitoids by herbivore-injured plants. In: Carde, R.T.; Millar, J.G. (Ed.) *Advances in insect chemical ecology*. Cambridge: Cambridge University Press, p.21-75
- Ukeh DA, Birkett MA, Pickett JA, Bowman AS, Mordue Luntz AJ (2009) Repellent activity of alligator pepper, *Aframomum melegueta*, and ginger, *Zingiber officinale*, against the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. *Phytochem* 70:751-758
- Valério JR (2009) *Cigarrinhas- das- pastagens*. Vol 1. Embrapa Gado de corte. Campo Grande, MS, Brazil
- Valério JR, Nakano O (1988) Danos causados pelo adulto da cigarrinha *Zulia entreriana* na produção e qualidade de *Brachiaria decumbens*. *Pesq Agropec Bras* 23: 447-453
- Vancanneyt G, Sanz C, Farmaki T, Paneque M, Ortego F, Castañera P, Sánchez-Serrano JJ (2001) Hydroperoxide lyase depletion in transgenic potato plants leads to an increase in aphid performance. *Proc Natl Acad Sci* 98: 8139-8144
- Vilela EF, Pallini A (2002) Uso de semioquímico no controle biológico de pragas. In: Parra, J.R. et al. *Controle biológico no Brasil: predadores e parasitóides*. São Paulo: Manole.
- VISSER JH (1988) Host-plant finding by insects: orientation, sensory input and search patterns. *J Insect Physiol* 34: 259-268
- Waladde SM, Kahoro HM Ochieng SA (1990) Sensory biology of *Chilo* spp. with special reference to *C. partellus*. *Insect Sci Appl* 11:593-602
- Wang H, Guo WF, Zhang PJ, Wu ZY, Liu SS (2008) Experience-induced habituation and preference towards non-host plant odors in ovipositing females of a moth. *J Chem Ecol* 34:330-338
- Wenninger EJ, Stelinski LL, Hall DG (2009) Roles of olfactory cues, visual cues, and mating status in orientation of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) to four different host plants. *Environ Entomol* 38: 225-234
- Zakir A, Bengtsson M, Sadek MM, Hansson BS, Witzgall P, Anderson P (2013) Specific response to herbivore-induced de novo synthesized plant volatiles provides reliable information for host plant selection in a moth. *J Exp Biol* 216: 3257-3263

- Zarbin PHG, 2001. Extração, isolamento e identificação de substâncias voláteis de insetos. In: Feromônio de Insetos: Biologia, Química e Emprego no manejo de Pragas, 2nd edn. Ed. by Vilela EF, Della-Lucia MC, Holos, Ribeirão Preto, pp. 45–50
- Zhang ZQ, Sun XL, Xin ZJ, Luo ZX, Gao Y, Bian L, Chen ZM (2013). Identification and field evaluation of non-host volatiles disturbing host location by the tea geometrid, *Ectropis obliqua*. *J Chem Ecol* 39: 1284-1296
- Zhuang XF, Köllner TG, Zhao N, Li GL, Jiang YF, Zhu LC, Ma JX, Degenhardt J, Chen F (2012) Dynamic evolution of herbivore-induced sesquiterpene biosynthesis in sorghum and related grass crops. *Plant J* 69: 70-80

Tabela 1- Média (\pm Erro padrão) da % relativa de emissão de voláteis de Pioneiro, Basilisk e Marandú sem e com injúria de *M. spectabilis*.

Compostos	Pioneiro sem injúria	Basilisk sem injúria	Marandú sem injúria	Pioneiro com injúria	Basilisk com injúria	Marandú com injúria
1- Limoneno	54,03 \pm 0,7	55,33 \pm 1,9	50,25 \pm 0,0	52,55 \pm 3,4	53,94 \pm 0,1	38,78 \pm 5,7
2- β -Pinoeno	45,97 \pm 0,7	41,85 \pm 2,5	46,82 \pm 0,0	41,16 \pm 1,0	37,07 \pm 1,1	37,98 \pm 2,0
3- α - Pinoeno	ND	2,81 \pm 0,6	2,93 \pm 0,0	3,03 \pm 0,8	2,74 \pm 0,0	2,46 \pm 0,4
4- Mentona	ND	ND	ND	1,69 \pm 1,2	1,92 \pm 0,7	1,54 \pm 0,4
5- Cânfora	ND	ND	ND	ND	1,04 \pm 0,2	15,49 \pm 5,2
6- Eucaliptol	ND	ND	ND	2,3 \pm 0,3	1,53 \pm 0,2	2,15 \pm 0,7
7- <i>o</i> - Cimeno	ND	ND	ND	ND	1,76 \pm 0,0	1,59 \pm 0,0

ND: não detectado

Figuras

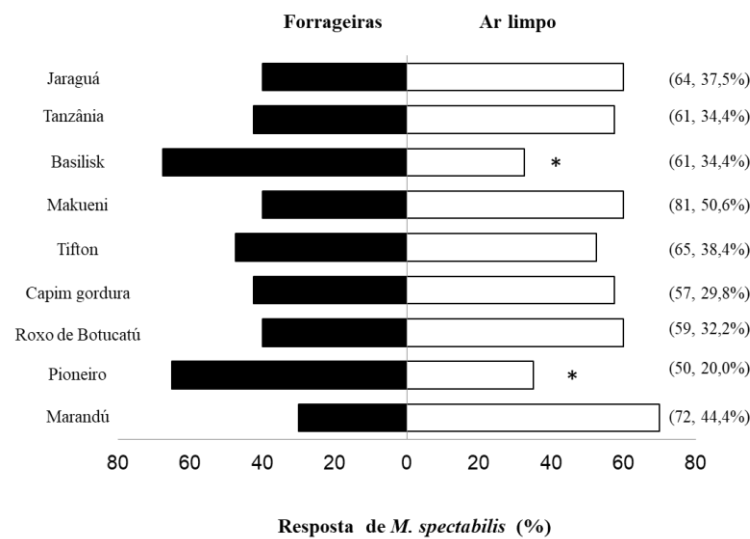


Fig. 1 Resposta comportamental de adultos de *M. spectabilis* para voláteis de plantas sem injúria e ar limpo em olfatômetro. Asterisco (*) denota diferença significativa ($P < 0,05$). Números entre parêntesis indicam o número de cigarrinhas testadas e a frequência (%) de insetos que não responderam, respectivamente

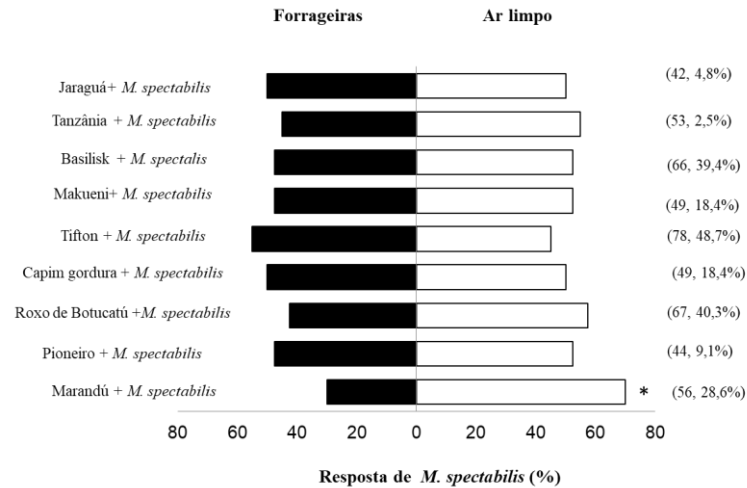


Fig. 2 Resposta comportamental de adultos de *M. spectabilis* para voláteis de plantas com injúria de *M. spectabilis* e ar limpo em olfatômetro. Asterisco (*) denota diferença significativa ($P < 0,05$). Números entre parêntesis indicam o número de cigarrinhas testadas e a frequência (%) de insetos que não responderam, respectivamente

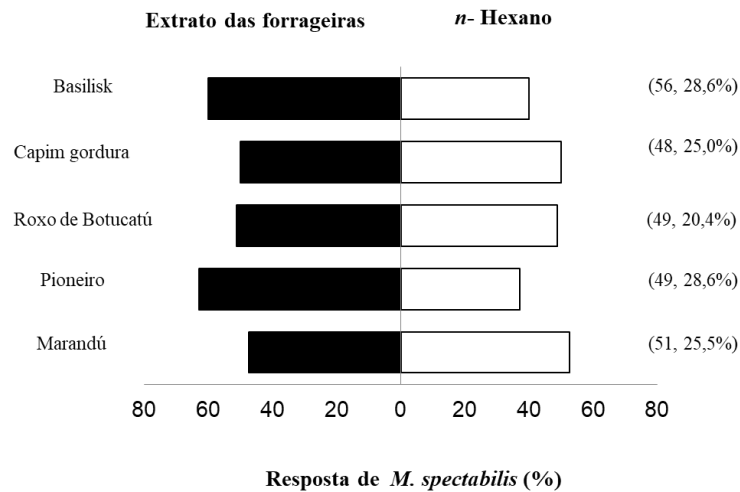


Fig. 3 Resposta comportamental de adultos de *M. spectabilis* para extratos de plantas sem injúria e *n*-hexano em olfatômetro. Asterisco (*) denota diferença significativa ($P < 0,05$). Números entre parêntesis indicam o número de cigarrinhas testadas e a frequência (%) de insetos que não responderam, respectivamente

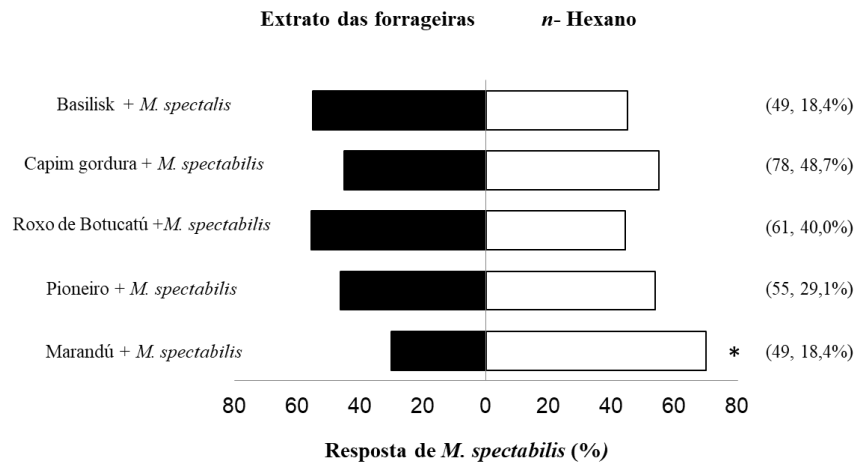


Fig. 4 Resposta comportamental de adultos de *M. spectabilis* para extratos de plantas com injúria de *M. spectabilis* e *n*-hexano em olfatômetro. Asterisco (*) denota diferença significativa ($P < 0,05$). Números entre parêntesis indicam o número de cigarrinhas testadas e a frequência (%) de insetos que não responderam, respectivamente

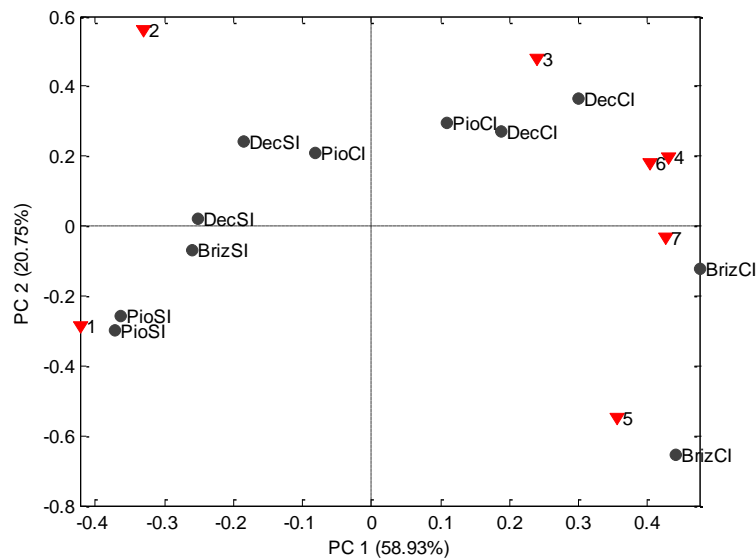


Fig. 5 Análise de Componentes Principal (PCA) do perfil volátil de Pioneiro (Pio), Basilisk (Dec) e Marandú (Briz), sem injúria (SI) e com injúria (CI) de *M. spectabilis*. Círculos (●) representam scores e triângulos invertidos (▼) representam loadings. O primeiro e segundo componente principal apresenta 58,93% e 20, 75% da variação total, respectivamente. Cada ponto no “score” representa uma réplica. Números no “loading” se referem aos compostos (1- limoneno, 2- β -pineno, 3- α - pineno, 4- mentona, 5- cânfora, 6- eucaliptol, 7- *o*- cimeno)