

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade



Tese

***Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em
genótipos de cana-de-açúcar no Rio Grande do Sul:
resistência varietal e genética de populações**

Vinícius Soares Sturza

Pelotas, 2019

VINÍCIUS SOARES STURZA

***Diatraea saccharalis* (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) EM GENÓTIPOS DE CANA-
DE-AÇÚCAR NO RIO GRANDE DO SUL: RESISTÊNCIA VARIETAL E GENÉTICA
DE POPULAÇÕES**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (área do conhecimento: Entomologia).

Orientador: Dr. Dori Edson Nava

Coorientador: Dr. Uemerson Silva da Cunha

Pelotas, 2019

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

S111d Sturza, Vinícius Soares

Diatraea saccharalis (Lepidoptera: Crambidae) em genótipos de cana-de-açúcar no Rio Grande do Sul: resistência varietal e genética de populações / Vinícius Soares Sturza ; Dori Edson Nava, orientador ; Uemerson Silva Da Cunha , coorientador. — Pelotas, 2019.

120 f.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2019.

1. Resistência. 2. *Saccharum* spp.. 3. Controle cultural. 4. Índice final de infestação. I. Nava, Dori Edson, orient. II. , Uemerson Silva Da Cunha, coorient. III. Título.

CDD : 633.61

Banca examinadora:

Dr. Dori Edson Nava (Orientador)

Dr. Uemerson Silva da Cunha (Coorientador)

Dr. Fernando Felisberto da Silva

Dr. Jader Ribeiro Pinto

Dra. Ana Paula Schneid Afonso da Rosa

Agradecimentos

À minha família, especialmente meus pais, pela compreensão da distância e apoio durante todo o período de formação.

Ao Dr. Dori Edson Nava, pela disponibilidade em me orientar e toda a positividade, prestatividade, atenção e ensinamentos durante as etapas do trabalho.

Aos Professores Dr. Mauro Silva Garcia e Dr. Uemerson Silva da Cunha, pelos ensinamentos e auxílios prestados durante a coorientação.

Aos coordenadores e demais professores do Programa de Pós-graduação em Fitossanidade (PPGFs) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) pelos ensinamentos nas disciplinas e períodos de convivência.

Aos funcionários do Laboratório de Entomologia da Embrapa Clima Temperado, a pesquisadora Msc. Mirtes Melo e aos técnicos Gilmar Barros dos Santos e Angelo da Silva Lopes pelo auxílio nas atividades sempre que necessário.

A todos os colegas do laboratório de Entomologia da Embrapa Clima Temperado com quem convivi, particularmente, aos bolsistas e estagiários que auxiliaram diretamente na criação de insetos e contribuíram em alguma etapa das avaliações de experimentos para esse trabalho: Mayara Guelamann da Cunha Espinelli, Camila Gauger Neitzke, Leonardo Pinto Gonçalves, Camila Salgado Lemke, Diogo Canova e Cleiton Wille.

Aos colegas de pós-graduação pela convivência, e especialmente à Naymã Pinto Dias, Adriane da Fonseca Duarte, Simone Andzeiewski, Flávia do Sacramento, Cláudia Teresita Olmedo Trinidad, Cristiano Bellé, Renata Moccellin, Kassia Luiza Teixeira Cocco, Fernanda Appel Müller e Karina Pinto Jobim pela cumplicidade, incentivo e apoio nas atividades acadêmicas e de pesquisa.

Ao Dr. Sérgio Delmar dos Anjos e Silva e sua equipe do grupo de pesquisa em Agroenergia pela acolhida e auxílio nos trabalhos envolvendo cana-de-açúcar, em especial Adílson Härter, William Rodrigues Antunes, Francis Radael Tatto, Ester Eschiavon Matoso, Elis Daiani Timm Simon, Edenara de Marco, Cândida Raquel Scherrer Montero, Luize Silva Mascarenhas, Lucas Silva Lemões e William Osterkamp.

Ao Dr. Moisés João Zotti pelos ensinamentos e discussão sobre o trabalho de análises moleculares e a Dra. Leticia Rickes pelos ensinamentos com a técnica de extração de DNA.

A Dra. Carolina Marques Castro pela disponibilidade do laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Clima Temperado e especialmente a Msc. Natércia Lobato Pinheiro e a colega Naymã Pinto Dias pelos ensinamentos, prestatividade e colaboração nos trabalhos envolvendo análises moleculares.

Ao Dr. Jose Maria Fillippini Alba pelo auxílio na construção dos mapas.

Ao Dr. Ivan Ricardo Carvalho e Dr. Frederico Schmitt Kremer pelo auxílio com etapas das análises estatísticas.

Ao Dr. Marcelo de Moraes Weber pelo auxílio na revisão do inglês e a Márcia Della Flora Cortes com auxílio na revisão de referências bibliográficas.

Aos funcionários da Embrapa Clima Temperado pelo apoio e suporte nas atividades, em especial Carlos Rogero G. de Souza, Luciano da Rosa Ângelo, André Luis Plá Schaun, Alexandre Lulhier Franco, Francisco de Assis Gracia Parker, Ubirajara Ribeiro Saraiva, Rosa Adelino S. Borba, Eduardo Luiz Grala Pereira Alves, Cláudio Roger Loy, Fernando Nunes Maron, Edson Kaster, Leandro de Souza Boa Nova, Paulo Renato da Silva Ferreira, Breno Machado Gonçalves, Paulo Abreu Grala, Santo Denoir da Costa, Vilmar Gonçalves, Cláudio Diomar Nolasco da Luz e Valnei Domingues Fagundes.

À Embrapa Clima Temperado pela disponibilização da estrutura para desenvolvimento dos experimentos.

Ao Instituto Federal Farroupilha – Câmpus Jaguari, em especial a diretoria de pesquisa, extensão e produção pela disponibilização de área e auxílio em etapas da condução do experimento de campo em Jaguari.

Ao agricultor Marco André Gracioli Pinheiro pela disponibilização de área e auxílio na condução do experimento de campo em São Pedro do Sul.

Aos funcionários e extensionistas da EMATER do RS que auxiliaram na definição direcionamento dos locais de coleta de insetos para análise molecular.

As pessoas que compartilharam ótimos momentos de convivência durante o período em Pelotas, os quais serão recordações especiais desse tempo, particularmente Gustavo Hartmann, Guilherme Bayer Schneider, Bruno Osterkamp Bloemker, Gean Carlos Brandão, Daniel Bernardi, Simón Ezequiel Farah Asang, Mayara Guelamann da Cunha Espinelli, Dionatan Greco, Bruno Balbom, Luan Marques, Michel Ziebel, Rubens Fabricio Anzolin, Moyzes Sávio Gomes de Farias e Nicole Evelyn Kleindinst Schramm da Silva.

Ao Grêmio Foot-Ball Porto Alegrense pelos vários momentos de alegria no período do Doutorado.

Muito Obrigado!!!

Resumo

STURZA, Vinícius Soares. ***Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) em genótipos de cana-de-açúcar no Rio Grande do Sul: resistência varietal e genética de populações.** 2019. 120f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Diatraea saccharalis (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) é a principal praga da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) no Brasil, de modo que, ao se alimentar as larvas podem causar diversos danos a cultura. Apesar da importância, informações relativas a essa praga ainda são limitadas para as condições subtropicais do Brasil. Desta forma, objetivou-se com esse trabalho: (a) avaliar a preferência de oviposição de *D. saccharalis* em genótipos de cana-de-açúcar recomendados para o Rio Grande do Sul (RS); (b) verificar a resposta desses genótipos quanto aos danos da praga a campo, sob infestação natural; e, (c) verificar a dissimilaridade genética entre populações da espécie em áreas de cana-de-açúcar de diferentes locais do RS. Quatro experimentos foram conduzidos em casa de vegetação para avaliação da oviposição, sendo: (i) entre mudas de genótipos de ciclo precoce, (ii) entre mudas de genótipos de ciclo tardio, (iii) entre mistura de genótipos de ciclos precoces e tardios para mudas e (iv) para plantas adultas. Os genótipos utilizados foram RB965902, RB925345, RB855156, RB966928 (precoces) e RB867515, RB987935, RB935744 e RB992579 (tardios). O número de posturas e ovos foram avaliadas quanto a valores totais, distribuição na folha (expandidas abaxial, expandidas adaxial e não expandidas) e quanto a faixas de tamanho de postura (pequena, média e grande). Os mesmos genótipos foram avaliados a campo em dois experimentos, conduzidos em Jaguari e São Pedro do Sul, durante dois ciclos (cana planta e cana-soca), com avaliação de variáveis da planta e de danos, que foram submetidos a ANOVA e análise de componentes principais. Para a avaliação da dissimilaridade genética de populações de *D. saccharalis* no RS, as coletas foram realizadas em nove locais de cinco regiões do Estado. Os insetos foram usados para extração de DNA e a realização do sequenciamento do gene Citocromo C Oxidase (COI), com verificação dos resultados em BLASTn e através de árvore filogenética. Como resultados, foi verificada a não preferência para oviposição de *D. saccharalis* entre mudas de genótipos de ciclo precoce, para RB965902 e RB966928; entre mudas de genótipos de ciclo tardio, para RB987935; em mistura de genótipos de ciclos precoces e tardios foi RB965902, entre mudas, e RB925345, para plantas adultas. O maior número de posturas e ovos foram observados em folhas

expandidas na superfície abaxial e em folhas não expandidas, tanto para mudas quanto para plantas desenvolvidas e em relação ao tamanho de posturas, as classificadas como pequenas e médias ocorreram com maior frequência, enquanto que o maior número de ovos foi oriunda de posturas médias e grandes. Nos experimentos de campo os genótipos responderam de modo diferente aos danos da broca da cana-de-açúcar, particularmente RB867515 e RB935744, que apresentaram melhor rendimento de colmos mesmo quando estavam entre os mais atacados. Os genótipos RB965902 e RB966928 apresentaram menores valores de galerias, índice final de infestação e complexo broca-podridão, apesar de baixo rendimento. O impacto dos danos de *D. saccharalis* no rendimento de sólidos solúveis foi mais relacionado à diminuição do rendimento de colmos do que de sólidos solúveis totais. De acordo com a análise de componentes principais, as variáveis da planta de rendimento de colmos, sólidos solúveis totais, rendimento de sólidos solúveis, e as variáveis de dano, de índice final de infestação e complexo broca-podridão, são adequados para avaliações de campo de genótipos de cana-de-açúcar sob infestação da broca da cana-de-açúcar, em condições subtropicais. Com base nas análises moleculares foi possível verificar que *D. saccharalis* ocorre em todos os locais amostrados do RS, e que a dissimilaridade entre as populações apresenta a formação de três grupos principais.

Palavras-chave: Resistência. Não preferência. Controle cultural. Índice final de infestação. *Saccharum* spp. Citocromo C oxidase. Dissimilaridade genética.

Abstract

STURZA, Vinícius Soares. ***Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) on sugarcane genotypes in Rio Grande do Sul: varietal resistance and population genetics.** 2019. 120f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Diatraea saccharalis (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae) is the main pest of sugarcane (*Saccharum* spp.) in Brazil, and larvae feeding might result in many different damages to the crop. Despite the importance, information of this pest is still limited for the subtropical climate of Brazil. Thus this work aimed: (a) to assess the oviposition preference by *D. saccharalis* among the sugarcane genotypes recommended for the State of Rio Grande do Sul (RS) (b) to verify the response of these genotypes regarding damages of this pest in the field under natural infestation; and, (c) to verify the genetic dissimilarity among the sugarcane populations of this species from different locations of RS. Four experiments were conducted in greenhouse for assessing the oviposition: (i) among seedlings of early-ripening genotypes; (ii) among seedlings of late-ripening genotypes; (iii) among mixture of early and late ripening genotypes for seedlings and, (iv) for adult plants. The genotypes used were RB965902, RB925345, RB855156, RB966928 (early-ripening) and RB867515, RB987935, RB935744 e RB992579 (late-ripening). The number of egg masses and the eggs were evaluated. Also, the distribution of egg masses and eggs on leaves (expanded leaves on the lower surface, upper surface and non-expanded leaves), and according to the sizes of egg masses (large, medium and small). The same genotypes were evaluated in the field in two experiments, conducted in Jaguari and São Pedro do Sul, over two crop seasons (plant-cane and first-ratoon) with evaluation of plant and damage traits that were submitted to ANOVA and principal component analysis. For the evaluation of the genetic dissimilarity of *D. saccharalis* populations in the RS, the surveys were performed in nine locations from five regions of the State. The insects were used for DNA extraction and sequencing of gene cytochrome C Oxidase (COI), with results verified using BLASTn and by the phylogenetic tree. Results displayed that there was non-preference for oviposition by *D. saccharalis* for RB965902 and RB966928 among seedlings of early-ripening genotypes; among late-ripening genotypes seedlings it was for RB987935; in the mixture of early and late-ripening genotypes it was RB965902 for seedlings and, RB925345 for adult plants. The highest number of egg masses and eggs were observed for expanded leaves on the lower surface and for non-expanded leaves,

both for seedlings and for adult plants and regarding to the size of egg masses, small and medium ones were more frequent while the greatest number of eggs came from medium and large egg masses. In the field experiments genotypes respond to sugarcane borer damages differently, particularly RB867515 and RB935744 which showed high yield of culms even when they were among the significantly most injured. Genotypes RB965902 and RB966928 showed low rates of galleries (tunneling), final infestation index, and borer-rot complex, however, low yield of culms. The impact of *D. saccharalis* damages on yield of total soluble solids was more related to decrease of yield of culms than to total soluble solids. According to the principal component analysis, plant traits yield of culms, total soluble solids, yield of total soluble solids, and the damage traits of final infestation index, and borer-rot complex are appropriate for field evaluations of sugarcane genotypes under sugarcane borer infestations in subtropical conditions. Based on the molecular analysis it was possible to verify that *D. saccharalis* occurs in all sites sampled, and that the dissimilarity among the populations presents the formation of three main groups in RS.

Key words: Resistance. Non-preference. Cultural control. Final infestation index. *Saccharum* spp. Cytochrome C oxidase. Genetic dissimilarity.

Lista de Figuras

Artigo 1

- Figura 1 Número (Média \pm erro padrão) de posturas, ovos e ovos/postura de *Diatraea saccharalis* em diferentes genótipos de cana-de-açúcar. A - entre genótipos de ciclo precoce; B - entre genótipos de ciclo tardio; C – entre mistura de genótipos de ciclos precoces e tardios para mudas e D - plantas adultas. Colunas seguidas pela mesma letra maiúscula entre genótipos não diferem significativamente pelo teste GLM, seguido pelo teste post hoc de Tukey ($P > 0,05$). Barras indicam \pm erro padrão..... 44
- Figura 2 Número (Média \pm erro padrão) de posturas e ovos de *Diatraea saccharalis* quanto a distribuição nas folhas expandidas na superfície abaxial (EXP ABAX), adaxial (EXP ADAX) e folhas não expandidas (N EXP). A, B – entre genótipos de ciclo precoce; C, D – entre genótipos de ciclo tardio. Colunas seguidas pela mesma letra, maiúscula entre genótipos e minúscula para o mesmo genótipo, não diferem significativamente pelo teste GLM, seguido pelo teste post hoc de Tukey ($P > 0,05$). Barras indicam \pm erro padrão..... 46
- Figura 3 Número (Média \pm erro padrão) de posturas e ovos de *Diatraea saccharalis* quanto a distribuição nas folhas expandidas na 47

superfície abaxial (EXP ABAX), adaxial (EXP ADAX) e folhas não expandidas (N EXP). A, B – entre mistura de genótipos de ciclos precoces e tardios para mudas e C, D – para plantas adultas. Colunas seguidas pela mesma letra, maiúscula entre genótipos e minúscula para o mesmo genótipo, não diferem significativamente pelo teste GLM, seguido pelo teste post hoc de Tukey ($P > 0,05$). Barras indicam \pm erro padrão.....

Figura 4 Número (Média \pm erro padrão) de posturas e ovos de *Diatraea saccharalis* de acordo com o tamanho das posturas, P = pequena (1-15 ovos), M = média (16-50 ovos) e G = grande (> 50 ovos). A, B – entre genótipos de ciclo precoce; C, D – entre genótipos de ciclo tardio. Colunas seguidas pela mesma letra, maiúscula entre genótipos e minúscula para o mesmo genótipo, não diferem significativamente pelo teste GLM, seguido pelo teste post hoc de Tukey ($P > 0,05$). Barras indicam \pm erro padrão..... 51

Figura 5 Número (Média \pm erro padrão) de posturas e ovos de *Diatraea saccharalis* de acordo com o tamanho das posturas, P = pequena (1-15 ovos), M = média (16-50 ovos) e G = grande (> 50 ovos). A, B – entre mistura de genótipos de ciclos precoces e tardios para mudas e C, D – para plantas adultas. Colunas seguidas pela mesma letra, maiúscula entre genótipos e minúscula para o mesmo genótipo, não diferem significativamente pelo teste GLM, seguido pelo teste post hoc de Tukey ($P > 0,05$). Barras indicam \pm erro padrão..... 52

Artigo 2

Figura 1 Sites of field experiments and weather station in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. Source: IBGE cartographic 61

| | |
|--|----|
| basis..... | |
| Figura 2 (A) Average air temperature (°C) and relative humidity (%); (B) fortnightly accumulate rainfall (mm) and days with rainfall. Data from the weather station located in São Vicente do Sul, Rio Grande do Sul, Brazil..... | 65 |
| Figura 3 Scores (genotypes) and factorial loads (traits) of the principal component analysis of eight sugarcane genotypes under infestation of <i>Diatraea saccharalis</i> , according to sites and harvests. (A) Jaguari plant-cane harvest, (B) Jaguari first-ratoon harvest, (C) São Pedro do Sul plant-cane harvest and (D) São Pedro do Sul first-ratoon harvest. State of Rio Grande do Sul, Brazil..... | 74 |

Artigo 3

| | |
|--|-----|
| Figura 1 Árvore filogenética de citocromo C oxidase subunidade I (COI) de 64 indivíduos de <i>Diatraea saccharalis</i> oriundos de diferentes locais do Rio Grande do Sul..... | 112 |
| Figura 2 Abrangência geográfica das principais populações de <i>Diatraea saccharalis</i> , a partir das análises filogenéticas de insetos coletados em diferentes locais do Rio Grande do Sul..... | 113 |

Lista de Tabelas

Artigo 1

- Tabela 1 Valores de F, graus de liberdade e P pelo teste GLM, para valores totais de posturas, ovos e ovos/postura de *Diatraea saccharalis* e quanto a distribuição de posturas e ovos em folhas (expandida abaxial – Exp Abax, expandida adaxial – Exp Adax e não expandida – N Exp) entre genótipos de cana-de-açúcar. Pelotas, RS, Brasil..... 45
- Tabela 2 Valores de F, graus de liberdade e P pelo teste GLM, para comparação da distribuição de posturas de *Diatraea saccharalis* em folhas (expandida abaxial, expandida adaxial e não expandida) e de tamanho de posturas (pequena, média e grande) por genótipo, em experimentos entre genótipos de cana-de-açúcar de ciclo precoce e entre genótipos de cana-de-açúcar de ciclo tardio, avaliados separadamente. Pelotas, RS, Brasil..... 48
- Tabela 3 Valores de F, graus de liberdade e P pelo teste GLM, para comparação da distribuição de posturas de *Diatraea saccharalis* em folhas (expandida abaxial, expandida adaxial e não expandida) e de tamanho de posturas (pequena, média e grande) por genótipo, em experimentos com mistura de 49

genótipos de cana-de-açúcar de ciclos precoces e tardios, em mudas e plantas adultas. Pelotas, RS, Brasil.....

| | | |
|----------|--|----|
| Tabela 4 | Valores de F, graus de liberdade e P pelo teste GLM, para comparação de posturas e ovos de <i>Diatraea saccharalis</i> quanto ao tamanho de posturas (pequena - P, média – M e grande - G) entre genótipos de cana-de-açúcar. Pelotas, RS, Brasil..... | 50 |
|----------|--|----|

Artigo 2

| | | |
|----------|--|----|
| Tabela 1 | Means \pm standard error of yield of culms ($Mg \cdot ha^{-1}$) and culm weight (g) of sugarcane genotypes in plant-cane and first-ratoon harvests in two sites in the State of Rio Grande do Sul, Brazil..... | 67 |
| Tabela 2 | Means \pm standard error of bored culms (%) and galleries on sugarcane genotypes in plant-cane and first-ratoon harvests in two sites in the State of Rio Grande do Sul, Brazil..... | 68 |
| Tabela 3 | Means \pm standard error of final infestation index (%) of <i>Diatraea saccharalis</i> , and the borer-rot complex (%) on sugarcane genotypes in plant-cane and first-ratoon harvests in two sites in the State of Rio Grande do Sul, Brazil..... | 71 |
| Tabela 4 | Means \pm standard error of total soluble solid ($^{\circ}$ Brix), and yield of total soluble solid ($Mg \cdot ha^{-1}$) of sugarcane genotypes in plant-cane and first ratoon-harvests in two sites in the State of Rio Grande do Sul, Brazil..... | 72 |

Artigo 3

| | | |
|----------|---|-----|
| Tabela 1 | Locais de coleta de <i>Diatraea saccharalis</i> com as coordenadas geográficas e o número de indivíduos (n) utilizados para extração de DNA. Rio Grande do Sul, Brasil..... | 110 |
| Tabela 2 | Número de insetos de <i>Diatraea saccharalis</i> sequenciados (n), similaridade (%), identidade (%), tamanho dos fragmentos, de acordo com a plataforma BLASTn (Morgulis et al., 2008), e valores de Shannon (entropia) para diferentes locais de coletas no Rio Grande do Sul..... | 111 |

Sumário

| | |
|--|-----------|
| Introdução Geral | 18 |
| Artigo 1 - Preferência para oviposição de <i>Diatraea saccharalis</i> (Lepidoptera: Crambidae) em genótipos de cana-de-açúcar recomendados para o Rio Grande do Sul | 23 |
| Introdução..... | 26 |
| Material e Métodos | 28 |
| Resultados..... | 32 |
| Discussão | 35 |
| Referências citadas | 41 |
| Artigo 2 - Response and genetic dissimilarity of sugarcane genotypes under infestation of <i>Diatraea saccharalis</i> in subtropical conditions | 54 |
| Introduction..... | 57 |
| Material and Methods | 60 |
| Results..... | 64 |
| Discussion | 75 |
| Conclusion..... | 81 |
| References..... | 83 |
| Artigo 3 - Dissimilaridade genética de populações da broca da cana-de-açúcar no Estado do Rio Grande do Sul | 93 |
| Introdução..... | 96 |
| Material e Métodos | 97 |
| Resultados..... | 100 |
| Discussão | 100 |

| | |
|---------------------------------|------------|
| Referências..... | 104 |
| Conclusões Gerais | 115 |
| Referências Gerais | 117 |

Introdução Geral

A cana-de-açúcar *Saccharum spp.* é originária de cruzamentos entre espécies poaceas nativas de regiões do sudeste da Ásia e da Oceania e ha centenas de anos seus subprodutos estão entre os mais comercializados no mundo (MUKHERJEE, 1957; GRIVET et al., 2016). No Brasil, esta cultura é importante desde as primeiras décadas após a chegada no país e atualmente possui área de produção próxima de 10,2 milhões de hectares, sendo utilizada para produção de bebidas, alimentos, alimentação animal, energia elétrica e etanol combustível, o qual é uma das alternativas menos poluentes em relação aos combustíveis fósseis (MACEDO et al., 2008; CHEAVEGATTI-GIANOTTO et al., 2011; DIAS; SENTELHAS, 2018). Dentre os produtos oriundos da cana-de-açúcar, o maior destaque é para a produção de açúcar e etanol, que faz do Brasil o maior produtor mundial, com 38,7 milhões de toneladas de açúcar e 27,2 bilhões de litros de álcool produzidos na safra 2017/2018 (CONAB, 2018).

Apesar da baixa representatividade do Estado do Rio Grande do Sul (RS) na produção nacional de álcool e açúcar, o cultivo de cana-de-açúcar é muito importante no contexto social, pois é fonte de matéria-prima de agroindústrias familiares envolvidas com a produção de açúcar mascavo, melado, cachaça e doces, além de ser utilizada como forragem suplementar para alimentação animal (SILVA et al., 2016). Nos últimos 10 anos ações no Estado visaram incentivar o investimento na cultura, por meio de pesquisas e políticas públicas. Dentre os principais resultados de pesquisa, citam-se a definição de zoneamento agroclimático e seleção de genótipos de alto rendimento para as condições edafoclimáticas subtropicais e em relação as políticas públicas, medidas para promover a

regularização de agroindústrias (ALBA; FLORES, 2013; ANTUNES et al., 2016, 2017; BRASIL, 2009, 2018; MORAIS et al., 2017; SILVA et al., 2016; VERISSIMO et al., 2012).

A ocorrência de pragas está entre os fatores limitantes da produção de cana-de-açúcar, particularmente com *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae), conhecida como a broca da cana-de-açúcar, principal praga da cultura no Brasil, de modo a alimentação das larvas desse lepidóptero nos colmos podem resultar em danos diretos e indiretos durante todo ciclo da cultura (FERREIRA et al., 2018). Os danos diretos estão relacionados às galerias realizadas durante a alimentação nos colmos que, em plantas jovens podem ocasionar a morte da gema apical, sintoma chamado de “coração morto”. Além disso, ainda que o ataque não resulte em morte da planta, os colmos tornam-se mais leves, finos, susceptíveis ao tombamento pela ação dos ventos e com brotações laterais desuniformes. Já os danos indiretos estão relacionados com a qualidade do caldo, em razão dos orifícios formados servirem como entrada para organismos oportunistas, como os fungos *Fusarium moniliforme* J.L. Sheldon e/ou *Colletotrichum falcatum* Went, que ocasionam a podridão-vermelha, doença que resulta na inversão da sacarose e diminuição da pureza do caldo (DINARDO-MIRANDA et al., 2012a; SATHYABHAMA et al., 2016).

Diversos fatores dificultam o controle da broca da cana-de-açúcar, a começar pelo monitoramento, o qual se baseia na coleta e abertura de colmos para contagem de entrenós atacados e não atacados, em diferentes pontos do local de produção, para estimativa da intensidade de infestação, o que envolve grande quantidade de mão-de-obra (MILLIGAN et al., 2003). Além disso, a densidade vegetal do cultivo, associado ao hábito de alimentação das larvas, em grande parte no interior do colmo, resultam em limitações no uso de inseticidas, pois torna o controle ineficiente ou com alto custo e ambientalmente inseguro, em razão da demanda específica de tecnologia de aplicação (aérea) para os estádios de desenvolvimento mais avançados (GITAHY et al., 2007).

A seleção de genótipos é uma prática essencial para auxiliar o controle de pragas, uma vez que seleções com algum tipo de resistência atuam continuamente sobre os insetos, reduzindo o potencial biótico ou sem perdas de produção

significativa, sem custo adicional e podem reduzir a necessidade de utilização de outros métodos de controle disponíveis, além da possibilidade de ser integrado a estes (LARA, 1991; PAINTER, 1951; POSEY et al., 2006). A avaliação da resposta dos genótipos pode ser relativa às respostas biológicas do inseto sobre a planta, como o comportamento de oviposição e como respostas das plantas aos danos da praga. No Brasil, estudos sobre as respostas das plantas quanto ao ataque de *D. saccharalis*, particularmente em condições de campo e da preferência de oviposição da praga são escassos e não foram realizados nas condições subtropicais (PORTELA et al., 2011; DINARDO-MIRANDA et al., 2012a, 2012b; LIMA et al., 2013; PIMENTEL et al., 2017; SOUZA et al., 2017; FERREIRA et al., 2018).

Além da resposta das plantas ao ataque do inseto, o conhecimento da diversidade genética da praga nas regiões de cultivo do hospedeiro também pode auxiliar no controle de pragas. A análise da diversidade genética possibilita inferir sua origem e abrangência das populações que ocorrem em uma determinada área geográfica, o que permite associar a ocorrência a processos migratórios, associação hospedeira com plantas cultivadas ou existência prévia em hospedeiros naturais (JOYCE et al., 2014). As implicações da variabilidade genética de populações de insetos-praga também podem estar associadas a respostas nas medidas de controle, tais como: a preferência/não preferência hospedeira, susceptibilidade a inimigos naturais associados e a inseticidas e prover populações suscetíveis a toxinas utilizadas em plantas com tecnologias Bt (HUFBAUER; VIA, 2006; JOYCE et al., 2014; SILVA-BRANDÃO et al., 2015; JOYCE et al., 2016).

Apesar da preferência por cana-de-açúcar *D. saccharalis* pode explorar diversos hospedeiros, dentre os quais outras poaceas de interesse comercial, como o arroz (*Oryza sativa* L.), milho (*Zea mays* L.), sorgo e sorgo sacarino (*Sorghum bicolor* (L.) Moench.) (SOSA, 1990; WAQUIL et al., 2001; BORTOLI et al., 2005; MICHELLE et al., 2017; BARCELOS et al., 2018; CORREA et al., 2018). Em trabalho com a análise da diversidade genética de populações da broca da cana-de-açúcar no Brasil Silva-Brandão et al. (2015) não encontraram associação da variabilidade genética das populações com os hospedeiros estudados (milho e cana-de-açúcar), o que pode significar alta variabilidade dentro de um mesmo território, em razão da troca de material genético entre insetos oriundos de diferentes hospedeiros.

Baseado no exposto, esse trabalho teve por objetivo avaliar, entre genótipos de cana-de-açúcar recomendados para o RS, a preferência de oviposição de *D. saccharalis* em ambiente protegido e a resposta ao ataque da praga a campo, sob infestação natural. Além disso, foi avaliada a dissimilaridade genética de populações da praga oriundas de diferentes áreas de produção de cana-de-açúcar do Estado.

ARTIGO 1 – Journal of Pest Science

1 **Preferência para oviposição de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)**
2 **em genótipos de cana-de-açúcar recomendados para o Rio Grande do**
3 **Sul**

4
5 **Vinícius Soares Sturza^{1*} Uemerson da Silva Cunha¹, Daniel Bernardi¹, Mayara**
6 **Guelamann da Cunha Espinelli², Dori Edson Nava³**

7
8 **Vinícius Soares Sturza^{1*} Uemerson Silva da Cunha¹, Daniel Bernardi¹, Mayara**
9 **Guelamann da Cunha Espinelli Greco², Dori Edson Nava³**

10
11 ¹Universidade Federal de Pelotas, Programa de Pós-graduação em Fitossanidade, Capão do
12 Leão, Rio Grande do Sul, 96160-000, Brasil. *vsturza27@yahoo.com.br, phone number (+55
13 55 999554084)

14 ² Universidade Federal de Pelotas, Curso de Biologia, Capão do Leão, Rio Grande do Sul,
15 96160-000, Brasil.

16 ³ Embrapa Clima Temperado, Pelotas, Rio Grande do Sul, 96010-971, Brasil. dori.edson-
17 nava@embrapa.br

18
19 **RESUMO**

20 A broca da cana-de-açúcar *Diatraea saccharalis* é considerada a principal praga da cana-de-
21 açúcar no Brasil. Dentre as alternativas para o seu controle está a utilização de genótipos que
22 apresentam alguma forma de resistência ao inseto, que podem ser explorados isoladamente ou
23 em conjunto com outros métodos de controle nos programas de Manejo Integrado de Pragas
24 (MIP). Sendo assim, objetivou-se avaliar a preferência de oviposição de *D. saccharalis* em
25 genótipos de cana-de-açúcar. Para tanto, foram realizados quatro experimentos: (i) avaliação

26 em mudas de genótipos de ciclo precoce, (ii) em mudas de genótipos de ciclo tardio, (iii)
27 mistura de genótipos de ciclos precoces e tardios e em mudas e (iv) plantas grandes. Para cada
28 experimento, foram avaliados: a) o número total de posturas, ovos e média de ovos/postura; b)
29 a distribuição de posturas e ovos nas folhas (expandidas abaxial, expandidas adaxial e não
30 expandidas); e, c) a número de posturas e ovos, de acordo com faixas de tamanho das posturas
31 (pequena, média e grande). Mediante as avaliações realizadas foi verificado que as mudas dos
32 genótipos de ciclo precoce RB965902 e RB966928 foram as menos preferidas para
33 oviposição de *D. saccharalis*, assim como RB987935, entre os genótipos de ciclo tardio. Em
34 mistura de genótipos de ciclos precoces e tardios, o menos preferidos foi RB965902, para
35 mudas. Já para plantas adultas foi RB925345. Para a maioria dos genótipos, o maior número
36 de posturas e ovos foram observados em folhas expandidas na superfície abaxial e em folhas
37 não expandidas, tanto para mudas quanto para plantas desenvolvidas. As posturas
38 classificadas como pequenas e médias ocorreram com maior frequência, enquanto que o
39 maior número de ovos foi oriunda de posturas médias e grandes. Em conclusão, *D.*
40 *saccharalis* apresenta não preferência de para oviposição entre genótipos precoces e entre
41 genótipos tardios. Em mistura de genótipos precoces e tardios a não preferência varia entre
42 mudas e plantas adultas.

43

44 **Palavras-chave:** Broca da cana-de-açúcar, Crambidae, *Saccharum* spp., resistência.

45

46 **ABSTRACT**

47 The sugarcane borer *Diatraea saccharalis* is considered the main pest of sugarcane in Brazil.

48 Among the alternatives to control this species is the use of genotypes less preferred by insects,

49 which can be used alone or associated with other control tactics as biological control in

50 Integrated Pest Management (IPM) programs. The objective of this study was to evaluate the
51 preference of *D. saccharalis* in sugarcane genotypes. For this purpose four experiments were
52 performed: (i) evaluation among seedlings of early-ripening genotypes, (ii) among late-
53 ripening genotype seedlings, (iii) among seedlings of mixture of early and late-ripening
54 genotypes, and (iv) among large plants of early-ripening genotypes. For each experiment,
55 parameters were evaluated for total numbers of egg masses, eggs and average egg / egg mass;
56 the distribution of egg masses and eggs on the leaves (expanded leaves on the lower surface,
57 expanded leaves on the upper surface and non-expanded); and the number of egg masses and
58 eggs, according to the size ranges of the egg masses (small, medium and large). It was
59 verified that the seedlings of the early-ripening genotypes RB965902 and RB966928 were the
60 least preferred for oviposition by *D. saccharalis*, as well as RB987935 among the late-
61 ripening genotypes. In the mixture of early and late-ripening genotypes, the least preferred
62 was RB965902 for seedlings. However among adult plants it was RB925345. For most
63 genotypes, the highest number of egg masses and eggs were observed in expanded leaves on
64 the lower surface and on non-expanded leaves, for both seedlings and for adult plants. Egg
65 masses classified as small and medium occurred more frequently, while the highest number of
66 eggs came from medium and large egg masses. In conclusion, *D. saccharalis* presents non-
67 preference for oviposition among early-ripening genotypes and among late-ripening
68 genotypes. In the mixture of early and late-ripening genotypes the non-preference varies
69 among seedlings and adult plants.

70

71 **Key-words:** Sugarcane borer, Crambidae, *Saccharum* spp., resistance.

72

73

74 **Key Message**

- 75 • A não preferência de oviposição de *D. saccharalis* em genótipos de cana-de-açúcar é
76 diferente de acordo com a maturação e idade da planta.
- 77 • A comparação da distribuição de ovos nas folhas indica a posição das folhas com
78 menor oviposição entre os genótipos, o que pode ser útil para identificação das causas
79 de resistência envolvidas.

80

81 **Conflict of Interest:** Os autores declaram não haver conflito de interesse.

82

83 **Introdução**

84 A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) é uma das principais culturas produzidas no Brasil
85 e utilizada na produção de alimentos, bebidas, etanol, energia elétrica e alimentação animal
86 (Cheavegatti-Gianotto et al. 2011, Dias and Sentelhas 2018). Dentre os fatores limitantes para
87 a cultura está a ocorrência de pragas, com destaque para a broca da cana-de-açúcar, *Diatraea*
88 *saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). A alimentação deste inseto durante a
89 fase larval resulta em diversos danos às plantas, como a morte da gema apical (coração
90 morto), alterações nas propriedades do caldo, redução da resistência mecânica dos colmos ao
91 vento, brotações laterais no colmo em crescimento, morte de perfilhos e diminuição direta na
92 produção de colmos (Dinardo-Miranda et al. 2012a, Dinardo-Miranda et al. 2012b, Ferreira et
93 al. 2018).

94 No Brasil, o controle de *D. saccharalis* é realizado com o uso de inseticidas sintéticos
95 e dos agentes de controle biológico *Trichogramma galloi* (Zucchi) (Hymenoptera:
96 Trichogrammatidae) e *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) (Broglio-

97 Micheletti et al. 2007, Gitahy et al. 2007, Dinardo-Miranda et al. 2014). O uso de parasitoides
98 é considerado um dos maiores programas de controle biológico do mundo (Parra 2014).

99 Contudo, estudos demonstram que genótipos de cana-de-açúcar podem manifestar
100 efeitos de antixenose (menos preferidos pelos insetos) ou antibiose (que atuam negativamente
101 sobre a biologia da praga) (Bernal and Sétamou 2009, White et al. 2011, Tomaz et al. 2018) e
102 auxiliam o manejo de *D. sacharalis*. A resistência de plantas (RP) pode ser uma alternativa
103 para o Manejo Integrado de Pragas (MIP) e auxiliar na redução das perdas, uma vez que as
104 causas envolvidas são de caráter constitutivo da planta, que podem ser explorados para novos
105 estudos de melhoramento genético da cultura (Posey et al. 2006, White et al. 2011).

106 No Rio Grande do Sul (RS) existe um grande potencial de elevação da produção de
107 cana-de-açúcar através do uso de genótipos que apresentam elevada produtividade nas
108 condições do Estado e de novas técnicas, como a implantação da cultura a partir de mudas
109 (Antunes et al. 2016, 2017, Silva et al. 2016, Moraes et al. 2017). Além do ganho produtivo, o
110 uso de genótipos com maturação diferente é usual em condições subtropicais. Os genótipos
111 precoces são indicados para áreas com maiores riscos de geada, visando a antecipação da
112 colheita para escape dos períodos de menores temperatura, e os genótipos de maturação tardia
113 são utilizados para aumentar o período de oferta de matéria-prima para indústria e distribuir o
114 trabalho envolvido período de colheita, de maneira que a existência de áreas somente com
115 genótipos precoces, ou somente com genótipos tardios ou ainda com mistura de genótipos em
116 determinados locais é provável, de acordo com o ambiente (Silva et al. 2016). Apesar da
117 importância, informações sobre pragas para os genótipos de cana-de-açúcar que apresentam
118 potencial de cultivo no sul do Brasil são limitadas, particularmente no que se refere a *D.*
119 *sacharalis*, de ocorrência frequente da cultura no RS (Borges Filho et al. 2016). Baseado no

120 exposto, o presente estudo teve por objetivo avaliar a preferência de oviposição de *D.*
121 *saccharalis* em diferentes genótipos de cana-de-açúcar, recomendando para o RS.

122

123 **Material e Métodos**

124 **Obtenção de insetos e produção de mudas**

125 Os insetos utilizados no experimento foram oriundos da criação de *D. saccharalis* em
126 dieta artificial, do Laboratório de Entomologia da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS,
127 Brasil, conforme descrito por Borges Filho et al. (2018). As mudas foram obtidas a partir de
128 fragmentos de colmo (minitoletes) contendo uma gema, em tubetes plásticos de 175 cm³
129 preenchidos com substrato comercial (Florestal SA, Balneário Arroio do Silva, SC, Brasil), e
130 os genótipos classificados quanto a maturação (precoce ou tardia), conforme as
131 recomendações para o RS (Silva et al. 2016).

132 **Preferência de oviposição entre mudas de cana-de-açúcar de ciclo precoce e entre mudas** 133 **de ciclo tardio**

134 Para avaliar o experimento de preferência de oviposição entre mudas de cana-de-
135 açúcar de ciclo precoce foram utilizados os genótipos: RB965902, RB925345, RB855156 e
136 RB966928 sendo esse último considerado testemunha, em função da maior representatividade
137 em termos de área plantada no Brasil (Gazaffi et al. 2016). As mudas foram utilizadas quando
138 apresentavam três folhas expandidas (entre 35-40 dias após o plantio).

139 Para avaliar o experimento de preferência de oviposição entre mudas de cana-de-
140 açúcar de ciclo tardio foram utilizados os genótipos: RB987935, RB935744, RB992579 e
141 RB867515, sendo esse último considerado como testemunha, em função da maior
142 representatividade em termos de área plantada no Brasil (Gazaffi et al. 2016). Foram
143 utilizadas mudas que apresentavam cinco folhas expandidas (entre 45-50 dias após o plantio).

144 Em casa de vegetação, os genótipos foram expostos aos insetos no interior de gaiolas
145 com dimensões de 30 × 30 × 40 cm (comprimento x largura x altura), confeccionadas com
146 base de madeira e laterais e parte superior de vidro. As mudas foram colocadas de forma
147 equidistante entre si sem que ocorresse o contato entre plantas e folhas. Posteriormente, foram
148 liberados adultos de *D. saccharallis* não acasalados na proporção de três casais/planta,
149 provenientes da criação de manutenção com 24-48 horas após a emergência. Para tanto,
150 fêmeas e machos de *D. saccharalis* foram acondicionados separadamente no interior de
151 recipientes plásticos (100 mL) sem tampa (5 cm de diâmetro x 10 cm de altura), e
152 posicionados no centro da gaiola. A contagem de posturas e ovos ocorreu 48 e 96 horas após a
153 liberação dos adultos. O delineamento experimental utilizado para cada experimento (entre
154 genótipos de ciclo precoce e entre genótipos de ciclo tardio) foi em blocos ao acaso, com 4
155 tratamentos (genótipos) e seis repetições.

156 **Preferência de oviposição em mistura de mudas de cana-de-açúcar de ciclos precoces e** 157 **tardios**

158 Para a avaliação do experimento com mistura de mudas de cana-de-açúcar de ciclos
159 precoces e tardios foram utilizados os genótipos RB965902, RB925345, RB855156,
160 RB966928 (precoces) e, RB987935, RB935744, RB992579, e RB867515 (tardios). Como
161 tratamento testemunha foi utilizado o genótipo RB867515. As mudas utilizadas para este
162 experimento apresentavam três folhas expandidas (aproximadamente 35-40 dias após o
163 plantio) e foram colocadas no interior de gaiolas de madeira com dimensões de 50 × 40 × 40
164 cm (comprimento x largura x altura), com base formada de madeira e laterais revestidas com
165 tecido *voile* com a parte superior e frontal fechada com vidro. As mudas foram posicionadas
166 em duas fileiras de quatro plantas por gaiola, mantidas sem contato entre as plantas e folhas.
167 A liberação dos adultos, com a mesma proporção de casais por planta, e a contagem de

168 posturas e ovos foram realizadas conforme mencionado anteriormente. O delineamento
169 experimental foi em blocos ao acaso, com oito tratamentos (genótipos) e seis repetições.

170 **Preferência de oviposição em plantas adultas de cana-de-açúcar de ciclos precoces e**
171 **tardios**

172 Para a obtenção de plantas adultas, mudas com três folhas expandidas (35-40 dias após
173 o plantio) foram transplantadas individualmente em vasos plásticos com capacidade de 20
174 litros, preenchidos com 3/4 de solo, proveniente da área experimental da Embrapa Clima
175 Temperado. O solo foi classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo distrófico típico
176 (Cunha et al. 2006) e foi retirado da área após fertilização de base para plantio de cana-de-
177 açúcar, 10 kg ha⁻¹ de N, 120 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e 120 kg ha⁻¹ de K₂O, com base na análise de
178 solo para o local e conforme recomendações para cultura (Silva et al. 2016). Para verificar a
179 preferência de oviposição de *D. saccharalis*, 40 dias após o transplante das mudas, plantas
180 que apresentavam 8 a 9 folhas expandidas foram acondicionadas no interior de gaiolas
181 confeccionadas (6,0 comprimento × 3,0 largura × 1,80 m e altura) por uma estrutura de ferro e
182 revestida (lateral e parte superior) por tecido *voile* onde foram disponibilizadas as plantas de
183 cana-da-açúcar. Os genótipos de cana-de-açúcar utilizados foram RB965902, RB925345,
184 RB855156, RB966928 (precoces) e, RB987935, RB935744, RB992579, e RB867515
185 (tardios), sendo esse último utilizado como testemunha. As plantas foram distribuídas em oito
186 fileiras de quatro plantas, sem contato entre si, e de modo que cada duas fileiras formassem
187 um bloco com os oito genótipos. A liberação dos adultos foi na proporção de três casais por
188 planta, com idade de 24-48 horas de idade provenientes da criação de manutenção. Placas tipo
189 gerbox com doze insetos (machos ou fêmeas) foram distribuídas de forma alternada no centro
190 de cada bloco. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com oito tratamentos

191 (genótipos) e quatro repetições. A contagem de posturas e ovos foi realizada conforme
192 mencionado anteriormente.

193 **Variáveis analisadas e análise estatística**

194 Os parâmetros avaliados foram os mesmos em todos os experimentos. Quanto aos
195 totais foram analisados: i) o número de posturas, ii) número de ovos e iii) média de
196 ovos/postura totais. Quanto a distribuição da oviposição nas folhas, foram analisados entre
197 genótipos: i) número de posturas nas folhas expandidas na parte abaxial (EXP ABAX); ii)
198 número de posturas nas folhas expandidas na parte adaxial (EXP ADAX); iii) número de
199 posturas nas folhas não expandidas (N EXP); iv) número de ovos em EXP ABAX; v) número
200 de ovos em EXP ADAX e vi) número de ovos N EXP. Os referidos parâmetros de
201 distribuição nas folhas também foram avaliados comparando os valores entre as posições da
202 folha, dentro de cada genótipo. Nesse caso, os tratamentos foram: EXP ABAX, EXP ADAX e
203 N EXP, com seis repetições cada, para mudas e quatro, em plantas adultas.

204 Além disso, também foram realizadas avaliações de acordo com diferentes faixas de
205 tamanho de posturas. Para a classificação foi elaborada a seguinte metodologia: posturas
206 oriundas da criação de laboratório, visualmente classificadas como pequenas médias e
207 grandes, foram contabilizadas quanto ao número de ovos (30 posturas por classe). A partir da
208 amplitude em cada classe foram estipulados os tamanhos para as posturas, com base no
209 número de ovos: pequenas (1-15 ovos), médias (16-50 ovos) e grandes (> 50 ovos). Quanto
210 ao tamanho das posturas, as variáveis analisadas entre genótipos foram: i) número de posturas
211 pequenas (P); ii) número de posturas médias (M); iii) número de posturas grandes (G); iv)
212 número de ovos de posturas P; v) número de ovos de posturas M e vi) número de ovos de
213 posturas. Os referidos parâmetros também foram avaliados comparando os valores entre os

214 tamanhos de posturas dentro de cada genótipo. Nesse caso, os tratamentos foram as diferentes
215 classes, (P, M e G) com seis repetições cada, para mudas, e quatro em plantas adultas.

216 Os dados de todas as variáveis analisadas foram submetidos a modelos lineares
217 generalizados (GLM) da família exponencial de distribuições, com a verificação do ajuste de
218 qualidade realizado através das probabilidades do gráfico semi-regular com envelope de
219 simulação (Hinde and Demétrio 1998). Quando foram detectadas diferenças significativas
220 entre os tratamentos, comparações múltiplas (teste de Tukey, $P < 0,05$) foram realizadas
221 utilizando a função glht do pacote Multicomp (Hothorn et al. 2008), com ajuste dos valores de
222 P. Todas as análises foram realizadas com software SAS (SAS Institute 2002).

223

224 **Resultados**

225 Ao total, considerando todos os experimentos foram verificadas 2.836 posturas e
226 67.235 ovos foram contabilizados, com mais de 99% das posturas e ovos localizados nas
227 folhas. Em razão das variáveis avaliadas serem comuns a todos os experimentos, os resultados
228 serão apresentados de acordo com os seguintes tópicos: i) totais de posturas, ovos e ovos por
229 postura, ii) distribuição de posturas e ovos nas folhas e iii) posturas e ovos quanto aos
230 tamanhos de postura.

231 **Totais de posturas, ovos e ovos por postura**

232 Os resultados de totais de posturas, ovos e ovos/postura foram significativos para os
233 experimentos realizados (Tabela 1), exceto para mudas entre genótipos tardios, para posturas
234 ($F_{3,20} = 8,11$; $P = 0,4532$) e para ovos por postura entre mistura de genótipos precoces e
235 tardios, para mudas ($F_{3,20} = 18,11$; $P = 0,6789$) e plantas adultas ($F_{3,20} = 18,11$; $P = 0,6789$).

236 Em experimento com mudas entre genótipos de ciclo precoce as fêmeas de *D.*
237 *sacchralis* realizaram menor número de posturas em RB966928, com 17,8 posturas, que não

238 diferiu do genótipo RB965902, com 25,2 posturas. Já em RB925345 foi verificado a maior
239 média de ovos, sem diferir de RB855156, com 625,8 e 562,3 ovos, respectivamente. As
240 menores médias de ovos por postura foram verificadas nos genótipos RB965902 e RB966928,
241 com 19,3 ovos por postura cada (Fig. 1A). Já entre genótipos tardios, RB987935 apresentou
242 as menores médias de ovos (696,5) e ovos por postura (26) (Fig. 1B).

243 Para os experimentos com mistura de genótipos de ciclos precoces e tardios foi
244 observado, para mudas, que o genótipo precoce RB965902 foi o menos preferido pelas
245 fêmeas para oviposição, com menor número de posturas (22,5) e ovos (524), não diferindo do
246 genótipo RB966928 (26 posturas e 568,8 ovos) (Fig. 1C). Entre plantas adultas, o menor
247 número de posturas foram verificadas para os genótipos RB987935 (tardio), RB925345
248 (tardio), RB92579 (tardio) e RB966928 (precoce), com médias de 0,75, 0,75, 0,48 e 1,71
249 posturas, respectivamente e, o menor resultado de média de ovos foi para o genótipo precoce
250 RB925345, com 5,55 ovos (Fig. 1D).

251 **Distribuição de posturas e ovos nas folhas**

252 Foram verificadas diferenças significativas entre tratamentos, para posturas e ovos,
253 independentemente das posições na folha avaliadas, EXP ABAX, EXP ADAX e N EXP
254 (Tabela1), exceto em mudas entre genótipos tardios, para posturas ($F_{3,20} = 7,24$; $P = 0,6078$).
255 Foi possível observar uma tendência de que os genótipos que apresentaram menores médias
256 totais de posturas e ovos, também foram os de menores médias nas diferentes posições da
257 folha (Figs. 1, 2 e 3).

258 A comparação da distribuição de posturas e ovos na folha por genótipo (entre as
259 posições) foi significativa para todos os experimentos com mudas (Tabelas 2 e 3), exceto
260 quanto a distribuição de posturas entre genótipos tardios, para RB867515 que não diferiu

261 ($F_{2,11} = 5,43$; $P > 0,05$). Verificou-se para esses experimentos uma tendência de posturas e
262 ovos concentraram-se principalmente em EXP ABAX e N EXP (Figs. 2 e 3A,B).

263 Para o experimento com mistura de genótipos de ciclos precoces e tardios em plantas
264 adultas, a comparação da distribuição de posturas foi significativa apenas para RB867515
265 ($F_{2,11} = 8,76$; $P < 0,0001$), RB965902 ($F_{2,11} = 9,16$; $P < 0,0001$) e RB935744 ($F_{2,11} = 6,89$; P
266 $< 0,0001$). RB867515 apresentou maior número de posturas em N EXP (3,0) e RB935744 em
267 EXP INF (4,3). RB965902 diferiu porque não foi verificada posturas em N EXP (Fig. 3C).
268 Nesse experimento, a distribuição de ovos nas folhas também foi maior em EXP ABAX os
269 genótipos RB935744 (128,3), RB92579 (23,8) e RB966928 (26,3) (Fig. 3D).

270 **Posturas e ovos quanto ao tamanho de posturas**

271 De acordo com as faixas de tamanho de posturas avaliadas, foi verificado que o
272 número de posturas e ovos diferiram entre os tratamentos em todos os experimentos (Tabela
273 4), com exceção do número de posturas pequenas - P ($F_{3,20} = 11,42$; $P = 0,7613$) e médias -M
274 ($F_{3,20} = 18,12$; $P = 0,3411$), entre genótipos de ciclo precoce, e de posturas P e grande -G ($F_{8,72}$
275 $= 14,10$; $P = 0,1720$ e $F_{8,72} = 18,78$; $P = 0,3456$) em mistura de genótipos de ciclos precoces e
276 tardios, em mudas. A resposta entre os genótipos para cada faixa de tamanho foi variável, no
277 entanto, houve uma tendência dos genótipos com menor número de ovos em cada
278 experimento apresentarem menor número de ovos em posturas M e/ou G (Figs. 4 e 5). Isso foi
279 observado para RB965902 e RB966928, entre genótipos de ciclo precoce, com menores
280 médias de ovos em posturas M (176,7 e 225,5 ovos, respectivamente) e G (158,7 e 175,3
281 ovos, respectivamente). Entre genótipos de ciclo tardio, RB987935 apresentou a menor média
282 de ovos em posturas G, com 198,7 ovos. No experimento com mistura de genótipos de ciclos
283 precoces e tardios, foi observado a menor média de ovos oriundos de posturas M (283,7 ovos)
284 e a segunda menor média de posturas G (161,3 ovos) para RB965902. Em plantas grandes, foi

285 verificado a menor média de ovos em posturas M (5,5 ovos) e a ausência de posturas G para
286 RB925345 (Fig. 5).

287 A comparação do número de posturas e ovos, entre as faixas de tamanho, para cada
288 genótipo, foi significativa em todos os experimentos com mudas (Tabelas 3 e 4). Houve uma
289 clara tendência de maior frequência de posturas P e M, e o maior número de ovos oriundos de
290 posturas M e G (Figs. 4 e 5 A,B). Isso também foi verificado em plantas grandes, para os
291 genótipos em que houve diferença significativa relativo ao número de ovos (Fig. 5D),
292 RB965902 ($F_{2,11} = 9,76$; $P < 0,0001$, 45 e 18,5 ovos de posturas M e G, respectivamente),
293 RB935744 ($F_{2,11} = 11,04$; $P < 0,0001$, 33,5 e 81,3 ovos de posturas M e G, respectivamente) e
294 RB855156 ($F_{2,11} = 10,70$; $P < 0,0001$, 11 e 18,8 ovos de posturas M e G, respectivamente). Já
295 entre o número de posturas, os genótipos que diferiram apresentaram maior frequência de P,
296 exclusivamente, RB935744 ($F_{2,11} = 5,10$; $P < 0,0001$) 4,5 posturas P e RB966928 ($F_{2,11} = 5,16$;
297 $P < 0,0001$) 2,3 posturas P (Fig. 5C).

298

299 **Discussão**

300 Através da análise dos resultados foi possível verificar que existe não preferência para
301 oviposição para mudas de cana-de-açúcar entre genótipos de ciclo precoce e entre genótipos
302 de ciclo tardio. O mesmo foi verificado quando ocorre mistura de genótipos de ciclos
303 precoces e tardios, tanto em mudas quanto para plantas adultas, com resultados distintos. Em
304 termos de valores, os resultados foram compatíveis aos valores verificados por Dinardo-
305 Miranda et al. (2012a), por liberação de adultos, para posturas e de ovos para mistura de
306 genótipos precoces e tardios, em mudas.

307 Entre mudas de genótipos de ciclos precoces e tardios avaliados conjuntamente ficou
308 evidente a menor preferência de oviposição para RB965902 (precoce) em relação a

309 testemunha (Fig. 1C). O interessante na observação conjunta é que aparentemente a(s)
310 causa(s) de resistência nesse genótipo, superaram a(s) existente(s) de RB987935, que entre
311 genótipos tardios foi o menos preferido para oviposição (Figs. 1 e 2). Já em plantas grandes,
312 os genótipos apresentaram respostas distintas das mudas, com menor preferência das fêmeas
313 para realização posturas e deposição de ovos para RB987935, RB925345, RB92579 e
314 RB966928 (Fig. 1D). A razão dessa divergência provavelmente é ligada a mudanças
315 morfofisiológicas das plantas durante do desenvolvimento (Taiz and Zieger 2004), alterando
316 a(s) possível(eis) causa(s) de resistência envolvida(s), ou a magnitude, o que é
317 particularmente evidenciado para os genótipos RB965902 e RB925345, que entre mudas de
318 ciclo precoce foram os de menor e maior preferência para oviposição, respectivamente, e
319 apresentaram o comportamento inverso quando plantas adultas. A variação significativa do
320 número de posturas e ovos, entre estádios de desenvolvimento, já foi relatado para *D.*
321 *saccharalis* em plantas de milho (Moré et al. 2003). Isso reforça que, para os genótipos de
322 cana-de-açúcar, deve-se considerar a idade da planta (fenologia) como fator na avaliação da
323 preferência de oviposição (Lara 1991).

324 Em estudos conduzidos em outras regiões do país também foram verificadas não
325 preferência de oviposição de *D. saccharalis*, embora o único genótipo em comum com o
326 presente trabalho tenha sido RB867515 (Dinardo-Miranda et al. 2012a, Pimentel et al. 2017,
327 Souza et al. 2017). Desta forma, para os demais genótipos recomendados para cultivo nas
328 condições do RS os resultados de não preferência para oviposição aqui apresentados, são
329 inéditos.

330 Os resultados também reforçam que para fins de amostragem e monitoramento com
331 base na oviposição há necessidade de priorizar as folhas, o que corrobora com outros
332 resultados para essa praga em cana-de-açúcar (Lima Filho and Lima 2001, Lima and Gomes

333 2003). Mediante a análise de distribuição de posturas nas plantas o maior número de posturas
334 verificadas ocorre na parte abaxial (Tucker and Bed 1933) e adaxial (Lima and Gomes 2003),
335 sem mostrar diferença entre folhas expandidas ou não expadidas. No entanto, nenhum dos
336 resultados envolve os genótipos avaliados nesse estudo.

337 A escolha de distribuição de posturas e ovos pelas fêmeas em cana-de-açúcar
338 possivelmente seja um reflexo dos aspectos estruturais da folha, quanto a superfície abaxial e
339 adaxial, e nutricionais, entre folhas expandidas e em crescimento. Quanto a superfície das
340 folhas, é conhecido que os genótipos de cana-de-açúcar possuem em ambas as faces da folha
341 diferenças na proporção de células buliformes, densidade de estômatos, tricomas e
342 comprimento de ostíolos nos estômatos, e na face adaxial, epiderme menos espessa (Ferreira
343 et al. 2007). Tais diferenças além de regular a perda de água e evitar danos (físicos ou
344 mecânicos) podem influenciar a escolha do inseto para deposição dos ovos, tornando-se uma
345 causa de resistência, o que pode ser evidenciado com estudos complementares relativos a
346 mensuração desses caracteres, e associações com a não preferência para oviposição. Isso foi
347 verificado em um genótipo de cana-de-açúcar cultivado nos EUA, quanto a presença de
348 pilosidade, que reduziu a deposição de ovos de *D. saccharalis* (Sosa 1988). Entretanto, a
349 presença de tricomas nos genótipos de cana-de-açúcar IAC91-1099 e IACSP96-2042 no
350 Estado de São Paulo, não resultaram em redução do número de posturas e ovos de *D.*
351 *saccharalis* e os autores atribuíram que substâncias atractantes ou arrestantes teriam maior
352 importância para não preferência de oviposição (Dinardo-Miranda et al. 2012a).

353 Em folhas não expandidas, encontram-se tecidos em formação, mais tenros, com alta
354 atividade metabólica e concentração de fotoassimilados para construção de novos tecidos
355 (Taiz and Zeiger 2004), o que pode interferir na escolha das fêmeas de *D. saccharalis*. Este
356 fato pode estar relacionando a qualidade nutricional e facilidade de alimentação das larvas

357 após a eclosão. Além disso, barreiras físicas podem não estar completamente estruturadas,
358 facilitando a oviposição, conforme foi verificado quanto a pilosidade em plantas de milho
359 para *D. saccharalis* (Moré et al. 2003). Os mesmos autores ainda apontam que divergência da
360 distribuição de posturas e ovos entre mudas e plantas grandes para alguns genótipos sugere
361 que as mudanças morfofisiológicas vinculadas ao desenvolvimento e inerentes a cada
362 genótipo, alteram de forma significativa compostos e/ou estruturas da folha de acordo com o
363 envelhecimento da planta, a ponto de alterar o comportamento de oviposição. Em termos
364 aplicados quanto a avaliação e amostragem relativos a oviposição, esses resultados
365 apresentam uma maior especificidade e agilidade das atividades para os diferentes genótipos
366 (Lima and Gomes 2003). Além disso, indicam onde possivelmente encontram-se algum fator
367 de resistência envolvido nas folhas, seja ele morfológico ou químico, entre os genótipos de
368 menor preferência de oviposição, de acordo com a idade da planta (Moré et al. 2003). Esta
369 investigação pode elucidar caracteres morfológicos nos genótipos avaliados, e possivelmente
370 em seus genitores, como novos marcadores (indicadores) de genes de resistência para *D.*
371 *saccharalis* em cana-de-açúcar, servindo de subsídios a programas de melhoramento da
372 cultura (Pimentel et al. 2017).

373 Em todos os experimentos a oviposição quanto ao tamanho das posturas apresentou
374 uma tendência de maior número de posturas pequenas e médias, porém com maioria dos ovos
375 oriundos de posturas médias e grandes, o que demonstra que na avaliação da oviposição tanto
376 da frequência quanto o tamanho de posturas (ainda que em faixas de tamanho) devem ser
377 considerados. Trabalhos realizados em condições de campo relatam posturas de *D.*
378 *saccharalis* com 2 a 37 ovos, com média de 11 ovos/postura, e maior frequência de posturas
379 com 9 ovos (Lima Filho and Lima 2001), o que corrobora com os resultados verificados,
380 segundo a classificação utilizada para posturas médias e pequenas, respectivamente. Em

381 trabalho realizado em casa de vegetação foi verificado que não houveram diferenças de
382 tamanho entre posturas, em três liberações consecutivas de adultos de *D. sacharallis*, no
383 entanto, foi verificado um número médio de ovos fixo para classificação de cada faixa de
384 tamanho, com 13, 27 e 60 ovos para pequena, intermediário e grande, respectivamente
385 (Dinardo-Miranda et al. 2012a). Independente disso, ao considerar que as posturas contribuem
386 de forma significativamente diferente para o número de ovos total, de acordo com o tamanho,
387 esses resultados podem ser aferidos em comparações com dados de campo, visando aprimorar
388 metodologias de levantamento da praga e até de eficácia do uso de parasitoides de ovos. Desta
389 forma, uma postura G, em termos de levantamento, pode ser contabilizada proporcionalmente
390 ao número de ovos em relação a uma postura pequena, o que pode ser viabilizado através da
391 atribuição de escalas de notas, por exemplo.

392 Os resultados obtidos fornecem uma ampla caracterização da oviposição para os
393 genótipos avaliados, porém, estudos futuros complementares com o objetivo de determinar as
394 causas de resistência são necessários para refinamento das informações, como verificação de
395 voláteis, composição química e buscas por diferenças morfológicas estruturais em estudos de
396 microscopia. Além disso, a avaliação dos genótipos de forma isolada (sem escolha) é
397 importante para registrar se o comportamento de oviposição segue inalterado em relação ao
398 observado em testes com escolha, o que em outros estudos não foi observado (Pimentel et al.
399 2017). A partir disso, será possível obter indicações consistentes de genótipos para áreas mais
400 infestadas com a praga e de caracteres marcadores de não preferência para oviposição de *D.*
401 *saccharalis* em cana-de-açúcar.

402 Além das questões relacionadas a resistência de plantas de cana-de-açúcar, os
403 resultados encontrados podem fornecer subsídios para ajustes de monitoramento e uso de
404 métodos de controle de acordo com os genótipos, como a utilização de parasitoides de ovos,

405 que é recomendado para *D. saccharalis* em cana-de-açúcar. Por exemplo, o número de
406 parasitoides, seja em densidade por liberação ou o número de liberações, pode ser maior para
407 RB925345, comparativamente a RB966928, em áreas com coexistência desses genótipos
408 precoces, ou em áreas plantadas com os genótipos tardios avaliados, de maneira geral, pois o
409 número de ovos está diretamente relacionada ao número de parasitoides necessária por área
410 (Broglia-Micheletti et al. 2007). Em termos práticos, de acordo com as recomendações para a
411 cultura da cana-de-açúcar, com o espaçamento recomendado (0,5 m x 1,4 m) a densidade de
412 plantas é de 14.286 plantas.ha⁻¹ (Silva et al. 2016). Ao considerar as médias de ovos
413 observadas em plantas adultas, para cada 1% de plantas infestadas o número de ovos por ha
414 pode variar de 829 a 25.597 ovos.ha⁻¹, para RB925345 e RB855156, respectivamente. Ou
415 seja, sem o ajuste da densidade de parasitoides, a escolha entre um genótipo ou outro pode
416 interferir significativamente no sucesso do controle da praga em maiores infestações, ainda
417 que existam outros fatores de mortalidade da praga a campo, como parasitismo natural e
418 predação (Bessin and Reagan 1993, Lima Filho and Lima 2001).

419

420 **Referências citadas**

- 421 Antunes WR, Schöffel ER, Silva SDA, Härter A, Campos ADS, Montero CRS (2017) Productive performance
422 of early sugarcane genotypes in Rio Grande do Sul state, Brazil. *Scientia Agrária* 18:136–142. doi:
423 10.5380/rsa.v18i2.50533
- 424 Antunes WR, Schöffel ER, Silva SDA, Eicholz E, Härter A, Antunes WR, Schöffel ER, Silva SDA, Eicholz E,
425 Härter A. (2016) Adaptabilidade e estabilidade fenotípica de clones de cana-de-açúcar. *Pesq Agropec Bras*
426 51:142–148. doi: 10.1590/S0100-204X2016000200006
- 427 Bernal JS, Sétamou M (2009) Fortuitous antixenosis in transgenic sugarcane: antibiosis-expressing cultivar is
428 refractory to ovipositing herbivore pests. *Environ Entomol* 32:886–894. doi: 10.1603/0046-225x-32.4.886
- 429 Bessin RT, Reagan TE (1993) Cultivar resistance and arthropod predation of sugarcane borer (Lepidoptera:
430 Pyralidae) affects incidence of deadhearts in Louisiana sugarcane. *J Econ Entomol* 86:929–932. doi:
431 <https://doi.org/10.1093/jee/86.3.929>
- 432 Borges Filho RDC, Bernardi D, Sturza VS, Cunha US, Diez-Rodríguez GI, Pinto AS, Nava DE (2018).
433 Importance of sugar for the development of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) on artificial
434 diet. *J Econ Entomol* 111: 2693–2698. doi: 10.1093/jee/toy286
- 435 Borges Filho RDC, Sturza VS, Nava DE, Guedes JVC (2016). Bioecologia e manejo de pragas. In: Silva SDA,
436 Montero CRS, Santos RC, Nava DE, Gomes CB, Almeida IR (eds.). *Sistema de produção da cana-de-*
437 *açúcar para o Rio Grande do Sul*, 1st edn. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, pp 75-97
- 438 Broglio-Micheletti SMF, Pereira-Barros JL, Santos AJN, Carvalho LWT, Carvalho LHT, Oliveira CJT (2007)
439 Effect of the number of *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) grown
440 released by successive weeks, to control *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae).
441 *Cienc & Agrotec* 31:53–58. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542007000100008>
- 442 Cheavegatti-Gianotto A, Abreu HMC, Arruda P, Bepalhok Filho JC, Burnquist WL, Creste S, Ciero L, Ferro
443 JA, Figueira AVO, Filgueiras TS, Grossi-de-Sá MF, Guzzo EC, Hoffmann HP, Landell MGA, Macedo N,
444 Matsuoka S, Reinach FC, Romano E, Silva WJ, Silva Filho MC, Ulian EC (2011) Sugarcane (*Saccharum*
445 *X officinarum*): A reference study for the regulation of genetically modified cultivars in Brazil. *Trop Plant*
446 *Biol* 4:62–89. doi: 10.1007/s12042-011-9068-3
- 447 Cunha NG, Silveira RJC, Severo CRS (2006) Solos e terras do planalto sul-rio-grandense e planícies costeiras.
448 Embrapa Clima Temperado, Pelotas

- 449 Dias HB, Sentelhas PC (2018) Sugarcane yield gap analysis in Brazil – A multi-model approach for determining
450 magnitudes and causes. *Sci Total Environ* 637–638:1127–1136. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.05.017
- 451 Dinardo-Miranda LL, Anjos IA, Costa VP, Fracasso JV (2012a) Resistance of sugarcane cultivars to *Diatraea*
452 *saccharalis*. *Pesq Agropec Bras* 47:1–7. doi: 10.1590/S0100-204X2012000100001
- 453 Dinardo-Miranda LL, Fracasso JV, dos Anjos IA, Garcia J, Costa VP (2012b) Influência da infestação de
454 *Diatraea saccharalis* (Fabr.) sobre parâmetros tecnológicos da cana-de-açúcar. *Bragantia* 71:342–345. doi:
455 10.1590/S0006-87052012005000030
- 456 Dinardo-Miranda LL, Fracasso JV, Costa VP, Lopes DOT (2014) Dispersal of *Cotesia flavipes* in sugarcane
457 field and implications for parasitoid releases. *Bragantia* 73:163–170. doi: 10.1590/brag.2014.023
- 458 Ferreira CAS, Santana MV, Santos JB, Santos TTM, Lôbo LM, Fernandes PM (2018) Yield and technological
459 quality of sugarcane cultivars under infestation of *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794). *Arq Inst Biol (São*
460 *Paulo)* 85:1–7. doi: 10.1590/1808-1657000042017
- 461 Ferreira EA, Ventrella MC, Santos JB, Barbosa MHP, Silva AA, Procópio SO, Silva EAM (2007) Leaf blade
462 quantitative anatomy of sugarcane cultivars and clones. *Planta Daninha* 25:25–34. doi:
463 <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-83582007000100003>
- 464 Gazaffi R, Cursi D, Chapola R, Santos J, Fernandes-Jr A, Carneiro M, Barbosa G, Hoffmann H (2016) RB
465 varieties: a major contribution to the sugarcane industry in Brazil. *Proc Int Soc Sugar Cane Technol*
466 29:1677–1682
- 467 Gitahy PDM, Souza MT, Monnerat RG, Arrigoni EDB, Baldani JI (2007) A Brazilian *Bacillus thuringiensis*
468 strain highly active to sugarcane borer *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). *Brazilian J*
469 *Microbiol* 38:531–537. doi: 10.1590/S1517-83822007000300028
- 470 Hinde J, Demétrio CGB (1998). Overdispersion: Models and estimation. *Comput. Stat. Data Anal.* 27: 151–170.
- 471 Hothorn T, Bretz F, Westfall P (2008). Simultaneous inference in general parametric Models. *Biometrical*
472 *Journal* 50: 346–363.
- 473 Lima Filho M, Lima JOG (2001) Massas de ovos de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Pyralidae) em
474 cana-de-açúcar : número de ovos e porcentagem de parasitismo por *Trichogramma* spp . (Hymenoptera:
475 *Trichogrammatidae*) em condições naturais. *Neotrop Entomol* 30:483–488
- 476 Lima M, Gomes J (2003) *Diatraea saccharalis* (Fabr.) em cana-de-açúcar na região norte do estado do Rio de
477 Janeiro: flutuação populacional e parasitismo de ovos por *Trichogramma* ssp. *Rev Univ Rural Série*

- 478 Ciências da Vida 22:33–44
- 479 Morais KP, Medeiros SLP, Silva SDA, Biondo JC, Boelter JH, Dias FS (2017) Produtividade de colmos em
480 clones de cana-de-açúcar. *Rev Ceres* 64:291–297. doi: 10.1590/0034-737X201764030010
- 481 Moré M, Trumper EV, Prola MJ (2003) Influence of corn, *Zea mays*, phenological stages in *Diatraea*
482 *saccharalis* F. (Lep.: Crambidae) oviposition. *J Appl Entomol* 127:512–515
- 483 Parra JRP (2014) Biological control in Brazil: an overview. *Sci Agric* 71:345–355. doi: 10.1590/0103-9016-
484 2014-0167
- 485 Pimentel GV, Brasileiro BP, Barbosa MHP, Tomaz AC, Peternelli LA (2017) Oviposition preference and larval
486 performance of sugarcane borer in eight sugarcane genotypes. *Ciênc & Agrotec* 41:439–446. doi:
487 10.1590/1413-70542017414004317
- 488 Posey FR, White WH, Reay-Jones FPF, Gravois K, Salassi ME, Leonard BR, Reagan TE (2006) Sugarcane
489 borer (Lepidoptera: Crambidae) management threshold assessment on four sugarcane cultivars. *J Econ*
490 *Entomol* 99:966–971. doi: 10.1603/0022-0493-99.3.966
- 491 Silva SDA, Montero CRS, Santos RC, Nava DE, Gomes CB, Almeida IR (Eds.) (2016) Sistema de produção da
492 cana-de-açúcar para o Rio Grande do Sul. Embrapa Clima Temperado, Pelotas
- 493 Sosa O (1988) Pubescence in sugarcane as a plant resistance character affecting oviposition and mobility by the
494 sugarcane borer (Lepidoptera: Pyralidae). *J Econ Entomol* 81:663–667. doi: 10.1093/jee/81.2.663
- 495 Souza JR, Boiça Júnior AL, Percin D, Costa JT, Ribeiro ZA (2017) Não preferência para oviposição e
496 alimentação da broca-da-cana por cultivares de cana-de-açúcar. *Revista de Ciências Agrárias* 60:291–295.
497 doi: <http://dx.doi.org/10.4322/rca.2763>
- 498 Tomaz AC, Coutinho AE, Soares BO, Peternelli LA, Pereira EJG, Barbosa MHP (2018) Assessing resistance of
499 sugarcane varieties to sugarcane borer *Diatraea saccharalis* Fab. (Lepidoptera: Crambidae). *Bull Entomol*
500 *Res* 108:547–555. doi: 10.1017/S0007485317001183
- 501 White WH, Hale AL, Veremis JC, Tew TL, Richard EP (2011) Registration of two sugarcane germplasm clones
502 with antibiosis to the sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae). *J Plant Regist* 5:248. doi:
503 10.3198/jpr2010.07.0429crg

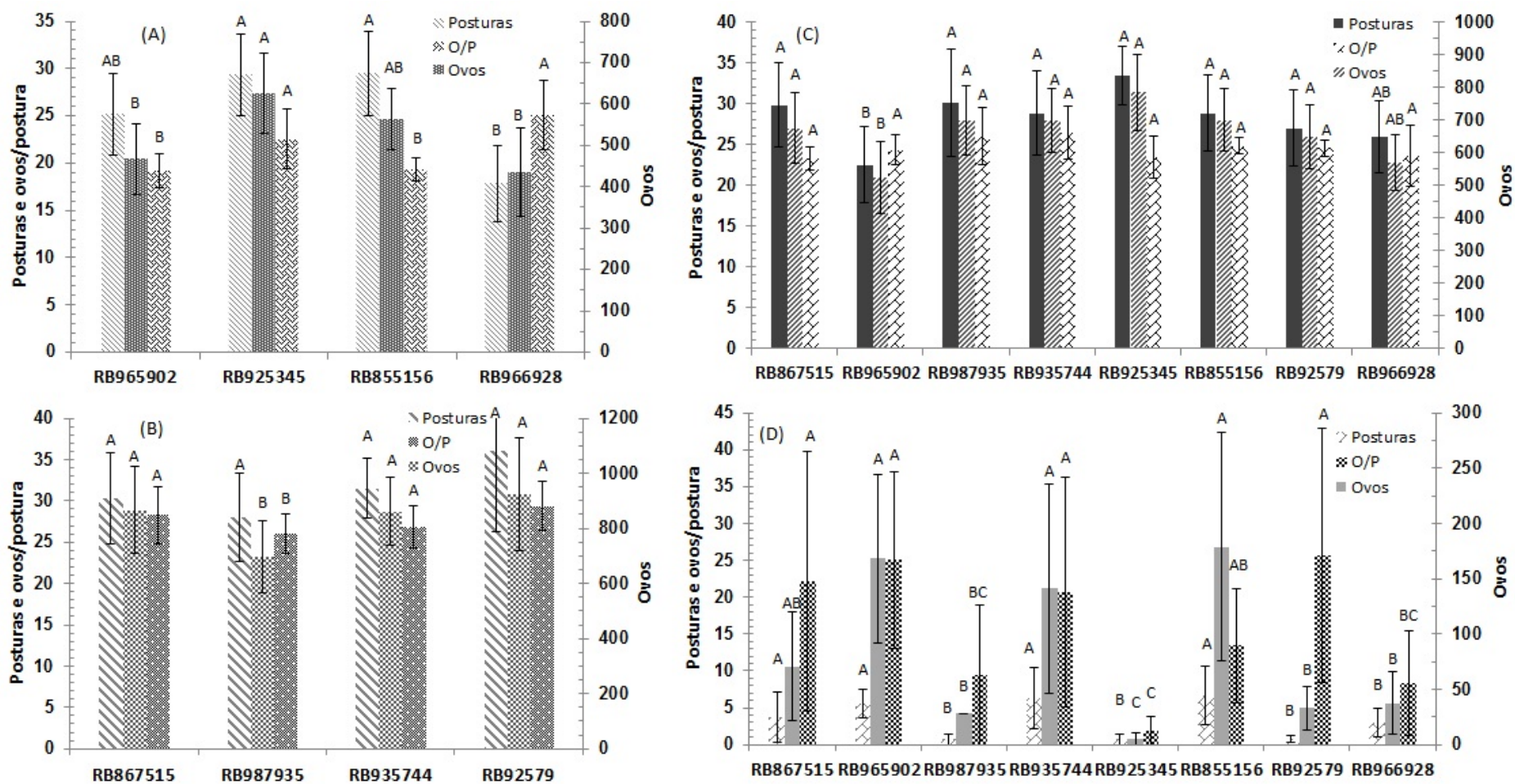


Fig. 1. Número (Média ± erro padrão) de posturas, ovos e ovos/postura de *Diatraea saccharalis* em diferentes genótipos de cana-de-açú A - entre genótipos de ciclo precoce; B - entre genótipos de ciclo tardio; C – entre mistura de genótipos de ciclos precoces e tardios 1 mudas e D - plantas adultas. Colunas seguidas pela mesma letra maiúscula entre genótipos não diferem significativamente pelo teste GLM, seguido pelo teste post hoc de Tukey ($P > 0,05$). Barras indicam ± erro padrão.

Tabela 1. Valores de F, graus de liberdade e P pelo teste GLM, para valores totais de posturas, ovos e ovos/postura de *Diatraea saccharalis* e quanto a distribuição de posturas e ovos em folhas (expandida abaxial – Exp Abax, expandida adaxial – Exp Adax e não expandida – N Exp) entre genótipos de cana-de-açúcar. Pelotas, RS, Brasil.

| Variáveis | Totais | | | Distribuição nas Folhas | | | | | |
|--|----------|---------|--------------|-------------------------|----------|---------|----------|----------|---------|
| | Posturas | Ovos | Ovos/postura | Posturas | | | Ovos | | |
| | | | | EXP ABAX | EXP ADAX | N EXP | EXP ABAX | EXP ADAX | N EXP |
| Genótipos de ciclo precoce | | | | | | | | | |
| F | 7,45 | 18,67 | 7,14 | 11,24 | 16,78 | 3,45 | 7,12 | 14,3 | 2,17 |
| GL _{T,e} | 3, 20 | 3, 20 | 3, 20 | 3, 20 | 3, 20 | 3, 20 | 3, 20 | 3, 20 | 3, 20 |
| P | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 |
| Genótipos de ciclo tardio | | | | | | | | | |
| F | 8,11 | 5,78 | 8,56 | 7,24 | 5,21 | 10,87 | 11,05 | 13,26 | 7,45 |
| GL _{T,e} | 3, 20 | 3, 20 | 3, 20 | 3, 20 | 3, 20 | 3, 20 | 3, 20 | 3, 20 | 3, 20 |
| P | 0,4532 | <0,0001 | <0,0001 | =0,6078 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 |
| Genótipos de ciclos precoces e tardios (mudas) | | | | | | | | | |
| F | 17,54 | 22,25 | 18,11 | 15,67 | 18,76 | 22,45 | 17,68 | 21,34 | 11,57 |
| GL _{T,e} | 7, 25 | 7, 25 | 7, 25 | 7,72 | 7,72 | 7,72 | 7,72 | 7,72 | 7,72 |
| P | <0,0001 | <0,0001 | 0,6789 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 |
| Genótipos de ciclos precoces e tardios (plantas grandes) | | | | | | | | | |
| F | 17,54 | 22,25 | 18,11 | 10,14 | 9,21 | 14,57 | 8,12 | 1,18 | 4,15 |
| GL _{T,e} | 7, 25 | 7, 25 | 7, 25 | 7, 25 | 7,25 | 7, 25 | 7, 25 | 7, 25 | 7, 25 |
| P | <0,0001 | <0,0001 | 0,6789 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 |

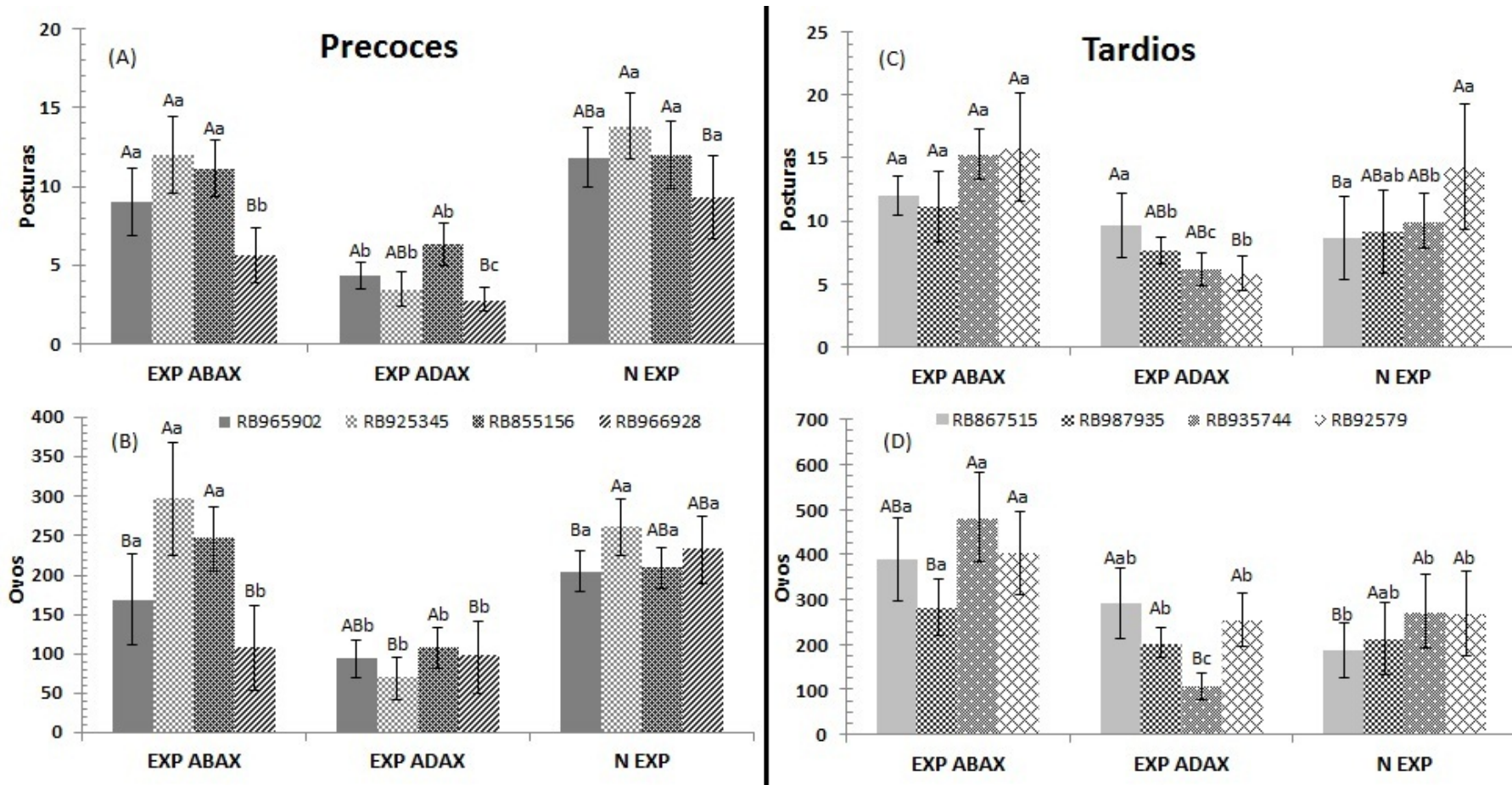


Fig. 2. Número (Média ± erro padrão) de posturas e ovos de *Diatraea saccharalis* quanto a distribuição nas folhas expandidas na superfície abaxial (EXP ABAX), adaxial (EXP ADAX) e folhas não expandidas (N EXP). A, B – entre genótipos de ciclo precoce; C, D – entre genótipos de ciclo tardio. Colunas da seguidas pela mesma letra, maiúscula entre genótipos e minúscula para o mesmo genótipo, não diferem significativamente pelo teste GLM, seguido pelo teste post hoc de Tukey ($P > 0,05$). Barras indicam ± erro padrão.

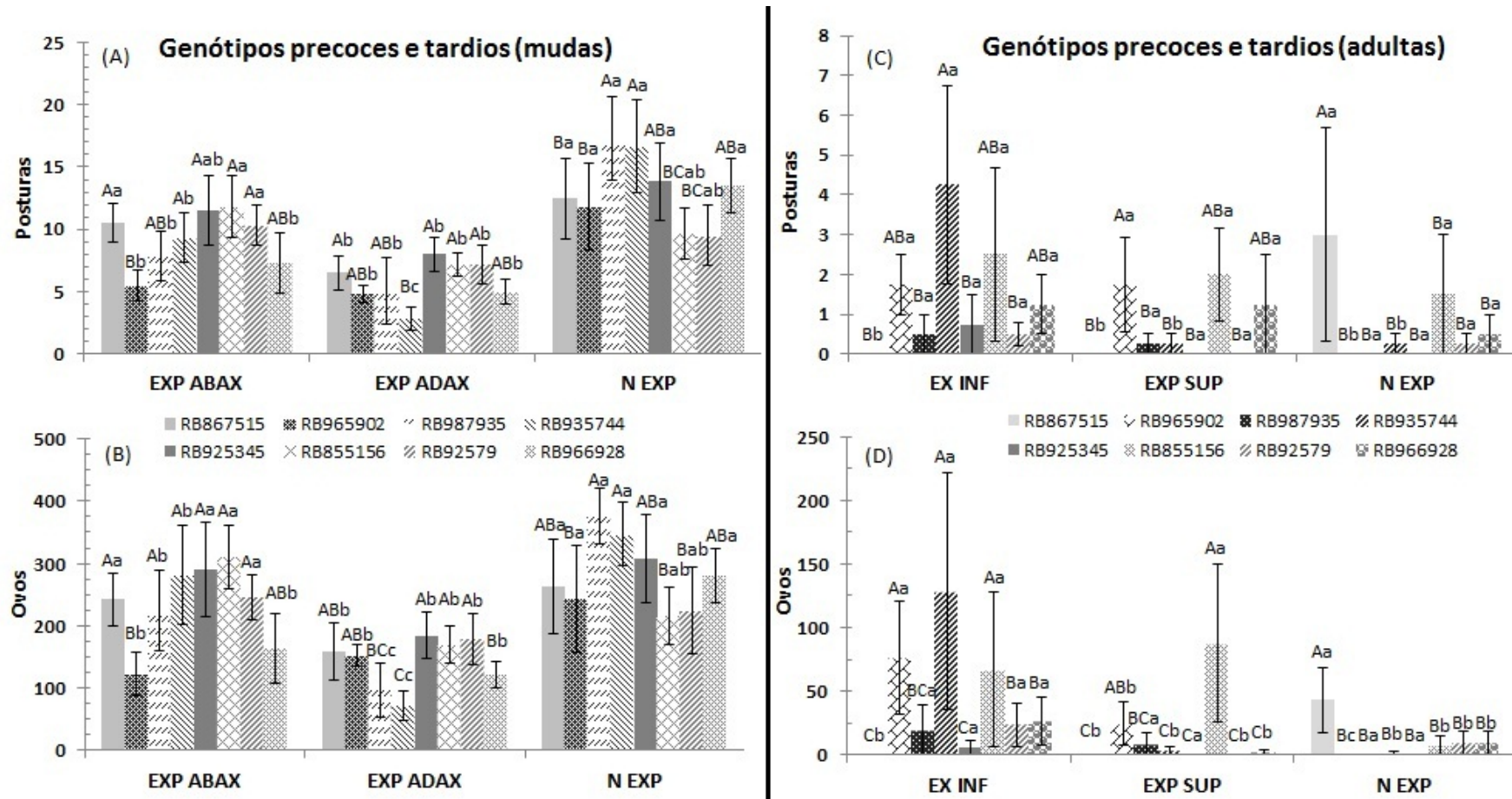


Fig. 3. Número (Média \pm erro padrão) de posturas e ovos de *Diatraea saccharalis* quanto a distribuição nas folhas expandidas na superfície abaxial (EXP ABAX), adaxial (EXP ADAX) e folhas não expandidas (N EXP). A, B – entre mistura de genótipos de ciclos precoces e tardios para mudas e C, D – para plantas adultas. Colunas seguidas pela mesma letra, maiúscula entre genótipos e minúscula para o mesmo genótipo, não diferem significativamente pelo teste GLM, seguido pelo teste post hoc de Tukey ($P > 0,05$). Barras indicam \pm erro padrão.

Tabela 2. Valores de F, graus de liberdade e P pelo teste GLM, para comparação da distribuição de posturas de *Diatraea saccharalis* em folhas (expandida abaxial, expandida adaxial e não expandida) e de tamanho de posturas (pequena, média e grande) por genótipo, em experimentos entre genótipos de cana-de-açúcar de ciclo precoce e entre genótipos de cana-de-açúcar de ciclo tardio, avaliados separadamente. Pelotas, RS, Brasil.

| Genótipos ⁽¹⁾ | GL _{T,e} | Distribuição de posturas | | Tamanho de posturas | |
|---------------------------|-------------------|--------------------------|---------|---------------------|---------|
| | | Posturas | Ovos | Posturas | Ovos |
| | | F | F | F | F |
| Genótipos precoces | | | | | |
| RB965902 | 2,11 | 5,18** | 26,11** | 3,21** | 22,7** |
| RB925345 | 2,11 | 10,12** | 19,23** | 6,45** | 16,40** |
| RB855156 | 2,11 | 8,14** | 18,14** | 2,13** | 32,10** |
| RB966928 (T) | 2,11 | 9,19** | 21,14** | 7,11** | 37,18** |
| Genótipos tardios | | | | | |
| RB867515(T) | 2,11 | 5,43 ^{ns} | 17,14** | 11,43** | 33,14** |
| RB987935 | 2,11 | 8,11** | 15,10** | 8,11** | 38,10** |
| RB935744 | 2,11 | 8,17** | 21,10** | 19,10** | 29,11** |
| RB966928 | 2,11 | 11,92** | 14,12** | 15,01** | 15,67** |

**P<0,0001, ns = P> 0,05.

Tabela 3. Valores de F, graus de liberdade e P pelo teste GLM, para comparação da distribuição de posturas de *Diatraea saccharalis* em folhas (expandida abaxial, expandida adaxial e não expandida) e de tamanho de posturas (pequena, média e grande) por genótipo, em experimentos com mistura de genótipos de cana-de-açúcar de ciclos precoces e tardios, em mudas e plantas adultas. Pelotas, RS, Brasil.

| Genótipos ⁽¹⁾ | GL _{T,e} | Distribuição de posturas | | Tamanho de posturas | |
|--|-------------------|--------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | | Posturas | Ovos | Posturas | Ovos |
| | | F | F | F | F |
| Genótipos precoces e tardios (mudas) | | | | | |
| RB867515(T) | 2,11 | 19,76** | 23,45** | 13,12** | 28,14** |
| RB965902 | 2,11 | 9,75** | 19,75** | 9,11** | 19,12** |
| RB987935 | 2,11 | 13,12** | 25,44** | 15,16** | 25,10** |
| RB935744 | 2,11 | 8,87** | 18,87** | 8,75** | 18,75** |
| RB925345 | 2,11 | 7,14** | 19,78** | 9,78** | 19,00** |
| RB855156 | 2,11 | 9,15** | 24,59** | 17,16** | 27,18** |
| RB92579 | 2,11 | 8,15** | 18,15** | 16,17** | 25,17** |
| RB966928 | 2,11 | 9,16** | 25,4** | 14,12** | 24,15** |
| Genótipos precoces e tardios (plantas grandes) | | | | | |
| RB867515(T) | 2,11 | 8,76** | 11,34** | 4,51 ^{ns} | 10,12 ^{ns} |
| RB965902 | 2,11 | 9,16** | 9,76** | 7,23 ^{ns} | 9,76** |
| RB987935 | 2,11 | 10,34 ^{ns} | 11,43 ^{ns} | 6,14 ^{ns} | 12,76 ^{ns} |
| RB935744 | 2,11 | 6,89** | 9,76** | 5,10** | 11,04** |
| RB925345 | 2,11 | 8,65 ^{ns} | 11,10 ^{ns} | 5,17 ^{ns} | 15,06 ^{ns} |
| RB855156 | 2,11 | 7,16 ^{ns} | 10,35** | 5,22 ^{ns} | 10,7** |
| RB92579 | 2,11 | 8,45 ^{ns} | 12,18** | 5,35 ^{ns} | 9,75 ^{ns} |
| RB966928 | 2,11 | 7,13 ^{ns} | 11,45** | 5,16** | 10,65 ^{ns} |

**P<0,0001, ns = P> 0,05.

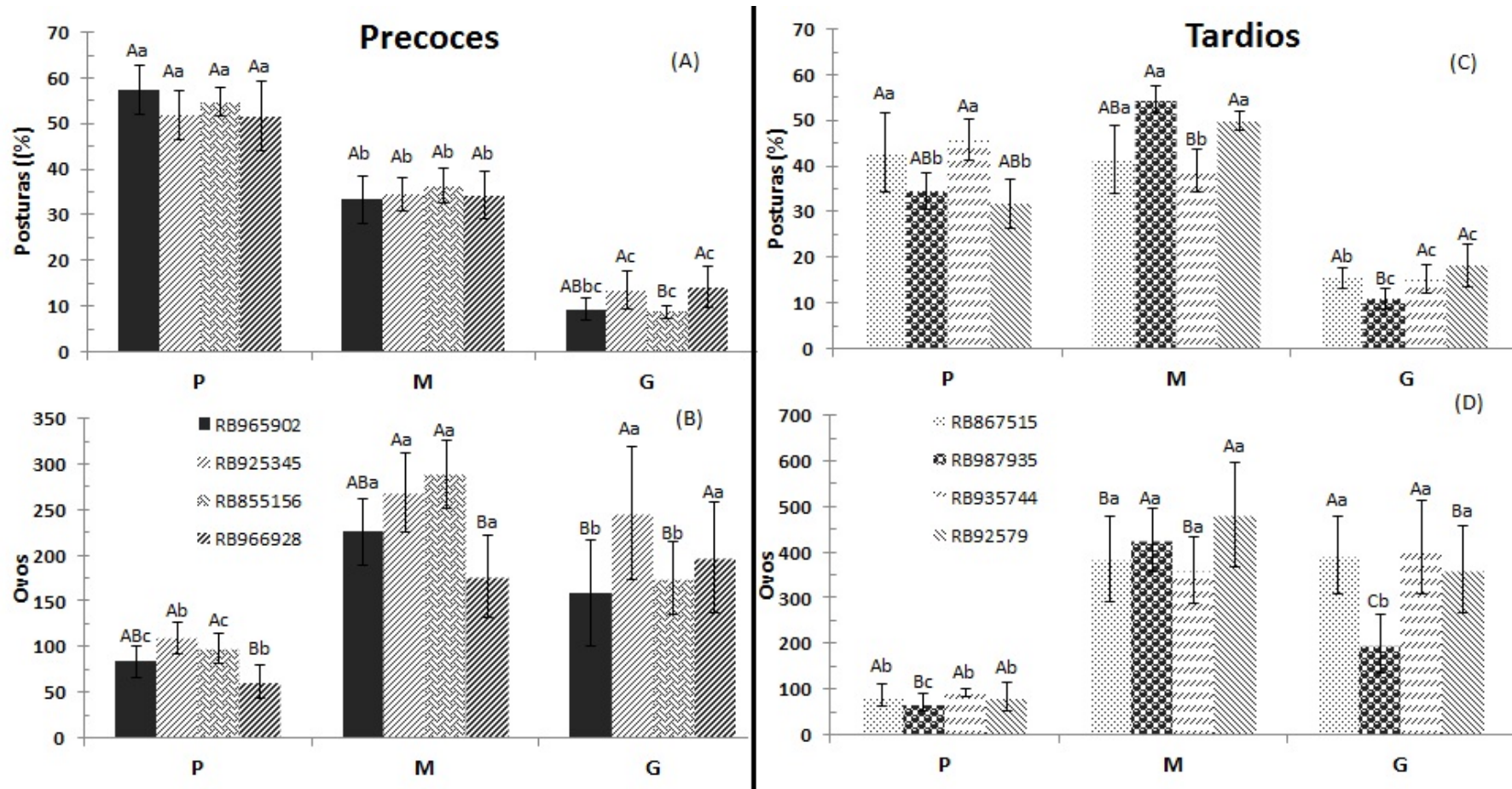


Fig. 4. Número (Média \pm erro padrão) de posturas e ovos de *Diatraea saccharalis* de acordo com o tamanho das posturas, P = pequena (1-15 ovos), M = média (16-50 ovos) e G = grande (> 50 ovos). A, B – entre genótipos de ciclo precoce; C, D – entre genótipos de ciclo tardio. Colunas seguidas pela mesma letra, maiúscula entre genótipos e minúscula para o mesmo genótipo, não diferem significativamente pelo teste GLM, seguido pelo teste post hoc de Tukey ($P > 0,05$). Barras indicam \pm erro padrão.

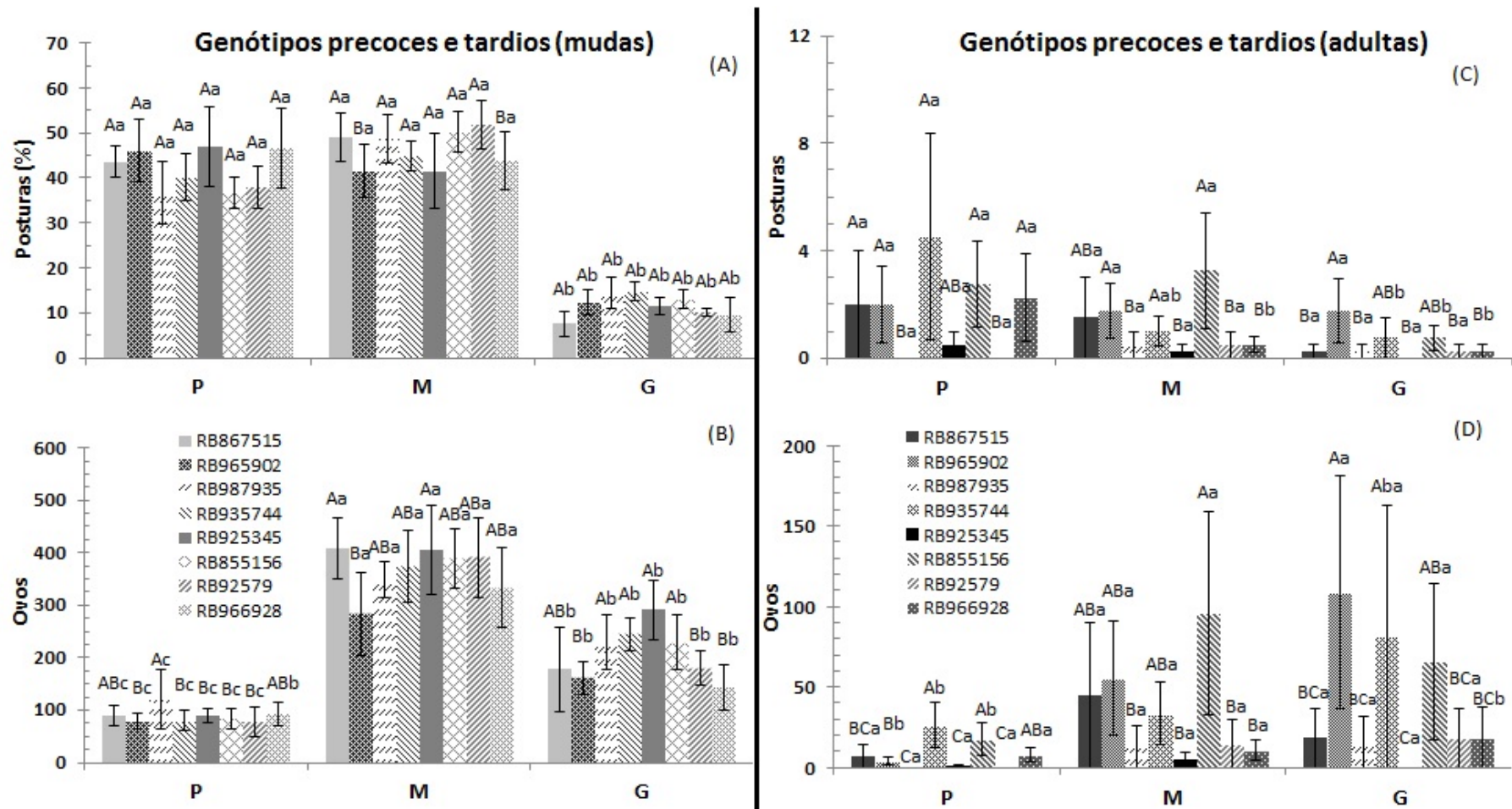


Fig. 5. Número (Média ± erro padrão) de posturas e ovos de *Diatraea saccharalis* de acordo com o tamanho das posturas, P = pequena (1-15 ovos), M = média (16-50 ovos) e G = grande (> 50 ovos). A, B – entre mistura de genótipos de ciclos precoces e tardios para mudas e C, D – para plantas adultas. Colunas seguidas pela mesma letra, maiúscula entre genótipos e minúscula para o mesmo genótipo, não diferem significativamente pelo teste GLM, seguido pelo teste post hoc de Tukey ($P > 0,05$). Barras indicam ± erro padrão.

ARTIGO 2 – European Journal of Agronomy

1 **Response and genetic dissimilarity of sugarcane genotypes under infestation**
2 **of *Diatraea saccharalis* in subtropical conditions**

3
4 Vinícius Soares Sturza^{1*}, Uemerson Silva da Cunha¹, Ivan Ricardo Carvalho²,
5 Adilson Härter³, Sérgio Delmar dos Anjos e Silva⁴ and Dori Edson Nava⁴

6
7 ¹Universidade Federal de Pelotas, Programa de Pós-graduação em
8 Fitossanidade, Capão do Leão, Rio Grande do Sul, 96010-610, Brasil

9 ²Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul,
10 Departamento de Estudos Agrários, Ijuí, RS, Brasil

11 ³Universidade Federal do Paraná, Programa de Pós-graduação em Produção
12 Vegetal, Curitiba, Paraná, 80035-050, Brasil

13 ⁴Embrapa Clima Temperado, Pelotas, Rio Grande do Sul, 96010-971, Brasil

14 Declarations of interest: none.

15 *Corresponding author: E-mail: vsturza27@yahoo.com.br

16
17
18 **Highlights**

19
20 • Genotypes withstand *D. saccharalis* damages differently regarding loss of
21 yield.

22 • Genotypes respond differently to injury traits regarding final infestation index.

23 • Under infestation, yield of total soluble solids is more related to yield losses
24 than TSS.

25 • According to principal component analysis, plant traits of yield of culms, total
26 soluble solids, yield of total soluble solids, and the injury traits of final infestation

27 index and borer-rot complex are appropriate for field evaluations of genotypes under
28 sugarcane borer infestations in subtropical conditions.

29

30

31 **ABSTRACT**

32 Brazil is the world's major sugarcane (*Saccharum* spp.) producer; however, for
33 subtropical conditions, there is lack of information on pests, particularly the response
34 of genotypes to damages caused by sugarcane borer *Diatraea saccharalis*
35 (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae). In this study, we assessed the response and
36 genetic dissimilarity of sugarcane genotypes under infestation of *D. saccharalis* in
37 subtropical conditions. Two field experiments were set in a complete randomized
38 block design with four replicates in two sites and were evaluated for two seasons
39 (plant-cane and first-ratoon harvests). Plant and damage traits were also submitted
40 to a principal component analysis (PCA). Genotypes respond to sugarcane borer
41 damages differently, particularly RB867515 and RB935744, which were among the
42 highest yield of culms (YC) even when they were among the significantly most
43 injured. Genotypes RB965902 and RB966928 showed significant low rates of
44 galleries (tunneling), final infestation index (FII), and Borer-rot complex (BRC),
45 however, low YC. The impact of *D. saccharalis* damages on yield of total soluble
46 solids (YS) was more related to decrease of YC than to total soluble solids (TSS).
47 According to the PCA, plant traits YC, YS, TSS and the damage traits of FII, BRC are
48 appropriate for field evaluations of genotypes under sugarcane borer infestations in
49 subtropical conditions.

50

51 Keywords: Poaceae, Crambidae, sugarcane borer, resistance, multi-trait analysis,
52 principal component analysis.

53

54 Abbreviations: RS, State of Rio Grande do Sul; IC, industrial culms; YC, yield of
55 culms; BC, bored culms; GL, galleries (number of tunnels made by larvae feeding);
56 FII, Final Infestation Index; BRC, Borer-rot complex; TSS, total soluble solids; YS,
57 Yield of TSS; CL, Culm length; CD, Culm diameter; SPP, number of sprouts per
58 plant; LAR, number of Larvae; N, Nitrogen.

59

60 1. Introduction

61 Sugarcane (*Saccharum* spp.) has been a major crop grown in Brazil since the
62 early 16th century when sugar was already traded worldwide. Many regions in the
63 country have increased their production and planted areas, with an output of nearly
64 758 million Mg, harvested in approximately 10.2 million ha in 2017 (IBGE, 2018).
65 However, in the subtropical conditions of southern states, sugarcane has not
66 followed the advances in agronomic traits and technologies as much as other states
67 in Brazil.

68 Sugarcane production involves different patterns throughout the country;
69 however, two basic systems are observed: (1) extensive areas, hired workforce,
70 heavy machinery during all cultivation steps, and allocation of production to sugar
71 and/or ethanol mills; and (2) small areas, smallholder families workforce, steps of
72 manual labor, and allocation of production almost exclusively to food/beverage
73 production or complementary diet source for animals. In southern Brazil, most
74 sugarcane producers grow crops in small areas, particularly in the state of Rio
75 Grande do Sul (RS) (Soares, 2013). Besides, environmental conditions also
76 influence subtropical climates, especially air temperature, as it becomes a limiting
77 factor for the crop during colder seasons because low temperatures (particularly
78 frosts) affect ripening (harvesting) and/or planting/sprouting (Alvares et al., 2013;
79 Cardozo and Sentelhas, 2014; Silva et al., 2016).

80 Nevertheless, in RS, sugarcane has been grown since the early 18th century
81 and, despite low representation in terms of area and production for the country
82 (0.19%, and 0.1%, respectively), sugarcane is highly profitable and one of the most
83 important income sources for small producers (IBGE, 2018; Silva et al., 2016). Over
84 the past 10 years, public policies have stimulated and improved production of

85 smallholder families through regulation and standardization of small businesses by
86 extension services, which benefited sugarcane producers (Rio Grande do Sul, 2012).
87 Furthermore, laws were established to regulate and facilitate resource funding, such
88 as the identification of appropriate climate zones with lower risks for production (Alba
89 and Flores, 2013; Brasil, 2018). Currently, sugarcane production focuses on
90 selecting genotypes among those developed in the central and northeastern regions
91 of Brazil, based primarily on agronomic traits of yield and broth quality (Antunes et
92 al., 2017, 2016; Morais et al., 2017; Nogueira et al., 2016; Verissimo et al., 2012).

93 *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae), the sugarcane
94 borer, is the main pest in sugarcane crops in Brazil (Dinardo-Miranda et al., 2014). Its
95 larvae feeding injures plants leading to losses of yield, culms and quality of broth
96 components, particularly when associated to red rot, caused by *Colletotrichum* spp.
97 and *Fusarium* spp. (Dinardo-Miranda et al., 2012a, 2012b; Ferreira et al., 2018;
98 Pannuti et al., 2013; Yasem de Romero et al., 2008). Still, genotypes with sugarcane
99 borer incidence and damage are poorly investigated under subtropical conditions,
100 particularly because investigations are laborious (Milligan et al., 2003).

101 Data on genotype assessments for resistance to *D. saccharalis* are available
102 for genotypes no longer grown commercially (Link et al., 1981) or from studies in the
103 Southeast, Central-west and Northeast of Brazil (Boiça Jr. et al., 1997; Dinardo-
104 Miranda et al., 2012a; Ferreira et al., 2018; Lima et al., 2013; Lourenção et al., 1982;
105 Souza et al., 2017) and other crops, such as rice, *Oryza sativa* L. (Martins et al.,
106 1989, 1981), and sorghum, *Sorghum bicolor* (L.) Moench (Barcelos et al., 2018;
107 Bortoli et al., 2005; Waquil et al., 2001). Regarding genetic dissimilarity of sugarcane
108 genotypes involving *D. saccharalis* infestation results are described for the state of
109 Goiás, Brazilian Midwest (Ferreira et al., 2018), or not under field conditions (Souza

110 et al., 2013; Tomaz et al., 2018). In this study, we assessed the response and
111 genetic dissimilarity of sugarcane genotypes in subtropical conditions, under natural
112 infestation of *D. saccharalis*.

113 **2. Material and Methods**

114 *2.1 Seedlings*

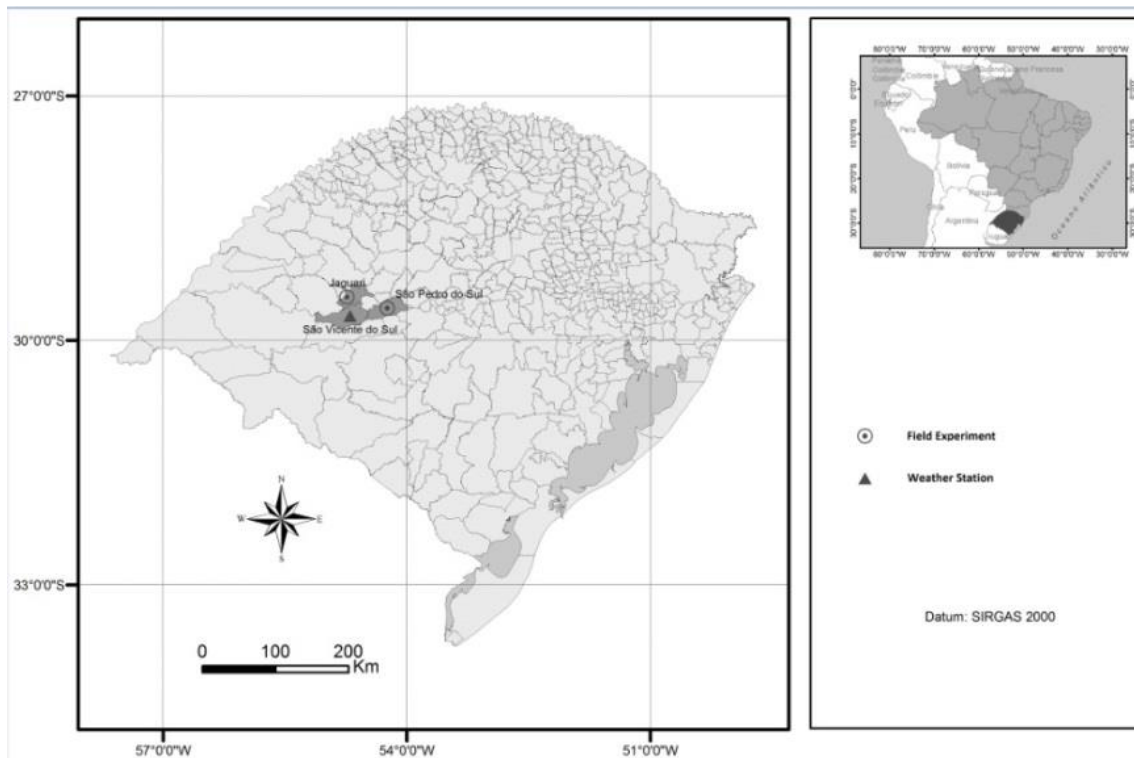
115 The genotypes used were developed by the Brazilian Inter-University Network
116 for the Development of Sugarcane Industry (RIDESA, Brazil), available from the
117 Sugarcane Breeding Program of Universidade Federal do Paraná (UFPR) and
118 obtained at Embrapa Clima Temperado, a partner unit located in Pelotas, in the state
119 of Rio Grande do Sul (31°41'S 52°26'W).

120 Genotypes (treatments) were selected according to field results of adaptability
121 and stability of traits (agronomic and industrial) in RS. Four genotypes are early-
122 ripening (RB965902, RB925345, RB855156, RB966928) and the others late-ripening
123 (RB867515, RB987935, RB935744, RB 92579), all recommended for cultivation in
124 subtropical conditions (Antunes et al., 2017, 2016; Morais et al., 2017; Silva et al.,
125 2016; Verissimo et al., 2012). Sugarcane plants were produced with single-node
126 culm cuttings, with one lateral bud, which were placed in plastic tubes of 175 cm³
127 filled with commercial substrate (Florestal SA, Balneário Arroio do Silva, SC, Brazil)
128 composed by N (%): 0.04, P₂O₅ (%): 0.04, K₂O (%): 0.05, pH: 5.8 ± 0.2, electric
129 conductivity (mS/cm): 0.7 ± 0.2, maximum moisture (weight/weight, %): 55, density
130 on dry basis (kg/m³): 280, water retention (%): 80. Seedlings were irrigated manually
131 twice a day using a hose and kept for 50–60 days in a greenhouse [26 ± 10 °C; 75 ±
132 20% relative humidity (RH) and natural light] until plants reached 3-4 expanded
133 leaves. For acclimatization and reduction of water losses by transpiration, one-third
134 of the length of leaves was cut off two days before transportation to the field and
135 plants were kept out of the greenhouse.

136

137 *2.2 Field experiments*

138 Two field experiments were conducted over two years (plant-cane and first-
 139 ratoon) in two sites: 1) Jaguari (JG), 29°28'S 54°44'W, and São Pedro do Sul (SPS),
 140 29°36'S 54°14'W, both in the Midwest of the state of Rio Grande do Sul (Fig. 1).
 141



142
 143 **Fig. 1** Sites of field experiments and weather station in the state of Rio Grande do
 144 Sul, Brazil. Source: IBGE cartographic basis.

145
 146 The soil in the region is Rhodic Paleudalf (Dalmolin et al., 2004) and the
 147 climate is Cfa, subtropical with warm summers and without a defined dry season
 148 (Köppen classification) (Alvares et al., 2013).

149 The experiments were conducted in a complete randomized block design with
 150 four replicates in each site. Each plot consisted of four five-meter rows. Soil
 151 preparation was on conventional tillage with one plow and two disc-harrows in each
 152 site. Plants were transferred to the soil using manual seedling transplanter on Nov 10
 153 and 11, 2016, in JG and SPS, respectively. Plants were spaced 1.40 m (furrows) x

154 0.5 m (plants). Fertilization was performed four days before transplantation based on
155 the soil chemical analysis: 10 kg ha⁻¹ of N, 120 kg ha⁻¹ of P₂O₅ and 120 kg ha⁻¹ of
156 K₂O. Top dressing fertilization was applied 45 days after transplantation with 55 kg of
157 N ha⁻¹ and 18 kg of K₂O ha⁻¹. In the first ratoon, initial fertilization (20 kg ha⁻¹ of N, 60
158 kg ha⁻¹ of P₂O₅ and 40 kg ha⁻¹ of K₂O) was applied at sprouting, in Nov in JG and in
159 Dec in SPS. Afterward, top dressing fertilization (80 kg ha⁻¹ of N and 90 kg ha⁻¹ of
160 K₂O) was applied in January 2018. Weed was controlled mechanically in the first
161 year by a mini tractor cultivator and hoeing. In the first ratoon, 1L of ametrine +
162 clomazone (300 + 200 g/L a.i.) was sprayed in Dec 2017. Additional spraying was
163 necessary for SPS in Feb 2018. Insecticides were not used. In SPS, the plant-cane
164 harvest of early and late-ripening genotypes were in July and Sept, respectively
165 when the maturation index was from 0.85 to 1.0. In JG, early and late-ripening
166 genotypes were harvested in July 2017, one week after severe frosts, which forced
167 late genotypes to be harvested at the same time of early ones. First ratoon
168 sugarcane early and late-ripening genotypes were harvested in July and Sept 2018,
169 respectively. Remaining plants were also harvested until two weeks after harvesting
170 the samples.

171 Weather data of air temperature, rain, and relative humidity (Fig. 2) were
172 obtained from a station of Meteorology National Institute (INMET), located in São
173 Vicente do Sul (29°70'S 54°69'W), approximately 30 and 35 Km from the
174 experimental sites of Jaguari and São Pedro do Sul, respectively. Average daily air
175 temperature (°C) was calculated [(maximum air temperature – minimum air
176 temperature)/2] and used to calculate fortnightly average air temperature (°C). The
177 average daily relative humidity (%) was the average of 24-hour records. The average
178 daily relative humidity values were used to calculate fortnightly relative humidity (%).

179 Accumulated rainfall was the sum of daily precipitation in the period and number of
 180 days with rainfall is the number of days with precipitation.

181

182 *2.3 Plant sampling and evaluation*

183 All industrial culms "IC" (culms with more than seven internodes) were
 184 harvested from six plants of the center in each plot. The traits evaluated were: yield
 185 of culms ($\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$) "YC", estimated by total mass of IC ha^{-1} ; culm weight (g) "CW":
 186 [total weight of IC/ number of IC]; bored culms (%) "BC" = [(bored industrial culms/
 187 total industrial culms)*100]; galleries "GL", number of tunnels on bored culms made
 188 by larvae feeding; final Infestation Index (%) "FII": [(bored internodes/total
 189 internodes)*100]; borer-rot complex (%) "BRC": [((bored internodes + internodes
 190 infected with red rot)/ total internodes) *100]; total soluble solids "TSS", which was
 191 obtained from samples of the third internode below the breaking point of the apical
 192 shoot and third internode above the soil, measured with a portable digital
 193 refractometer, (ATAGO®, model Pal-1), comprising the average of two different
 194 culms per plot chosen among the sampled plants; and Yield of TSS ($\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$) "YS",
 195 estimation of raw sugar obtained from [(YC*TSS)/100] (Verissimo et al., 2012).

196

197 *2.4 Data analysis and ANOVA*

198 Data were tested for normality (the Lilliefors test) and equality of variances
 199 (the Bartlett's test). Afterward, a two-way ANOVA was performed for each
 200 experimental site. Genotypes x harvests (years) combinations were treatments.
 201 Parameters were estimated by the following model: $[Y_{ijk} = m + G_i + B_k + A_j + GA_{ij} +$
 202 $E_{ijk}]$. Means were grouped using the Scott-Knott test when applicable. ANOVA and

203 comparison of means were performed using the software GENES v.2013.5.1(Cruz,
204 2013).

205

206 *2.5 Multi-trait analyses*

207 The multi-trait analyses were performed using the principal component
208 analysis (PCA). Besides variables described in section 2.3, we used the following:
209 Culm length (m) “CL”, measured from the culm basis to the breaking point (first
210 dewlap); Culm diameter (mm) “CD”, measured on the third internode above the soil;
211 Sprouts per plant “SPP”, mean number of sprouts; Industrial culms per plant “ICP”,
212 mean number of IC, and number of larvae “NL”, mean number of larvae found
213 (pupae were counted as larvae). Biplots were used to display scores (genotypes) and
214 factorial loads (traits) for each site-harvest combinations, according to ANOVA
215 results. The multi-trait analyses were performed using software GENES v.2013.5.1
216 (Cruz, 2013).

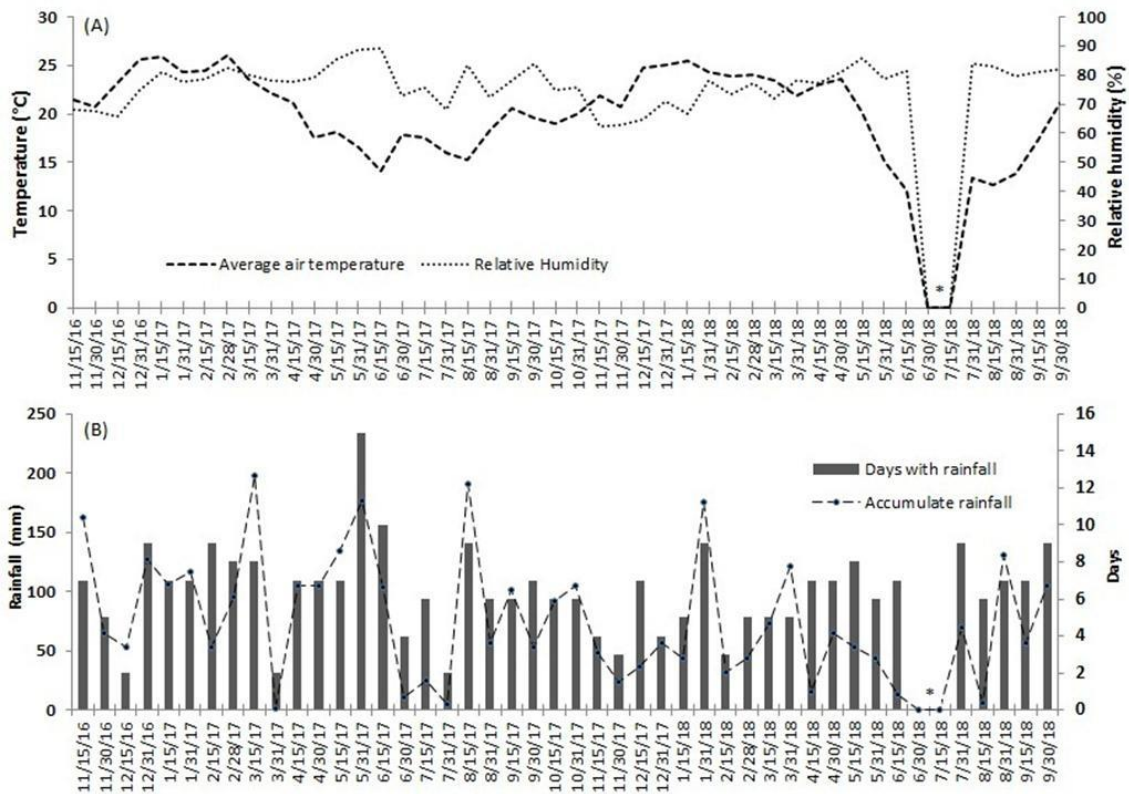
217

218 **3. Results**

219 We evaluated 3,316 culms over two years, 35.6% in 2017 and 64.4% in 2018.
220 Most parameters evaluated showed interaction between genotype and harvests
221 (years) for at least one site, except BC (statistical results available in Appendix A).
222 There was interaction of genotypes and harvests for YC in JG ($F_{7,45} = 6.02$, $P < 0.01$)
223 and, in SPS, interaction was not significant ($F_{7,45} = 0.87$, $P > 0.05$) but there were
224 differences between genotypes ($F_{7,45} = 5.68$, $P < 0.01$) and harvests ($F_{1,45} = 47.63$, $P <$
225 0.01). In the plant-cane, all genotypes were below the average yield of RS in 2017
226 (43.63 Mg ha^{-1}) (IBGE, 2017). The first-ratoon had the best results for harvests for

227 both places, and late-ripening genotypes RB867515 and RB935744 were
 228 distinguished by the highest yields for both JG and SPS (Table 1).

229



230

231 **Fig. 2** (A) Average air temperature (°C) and relative humidity (%); (B) fortnightly
 232 accumulate rainfall (mm) and days with rainfall. Data from the weather station located
 233 in São Vicente do Sul, Rio Grande do Sul, Brazil.

234 *Data not available.

235

236 For the CW, there was interaction of genotype and harvests for JG ($F_{7,45} =$
 237 3.77, $P < 0.01$), but not for SPS ($F_{7,45} = 2.13$, $P > 0.05$). However, genotypes
 238 displayed significant difference ($F_{7,45} = 26.79$, $P < 0.01$) as well as harvests ($F_{1,45} =$
 239 9.46, $P < 0.01$). The highest values of CW in JG were observed in the first-ratoon and
 240 RB867515 showed the highest average (1244.9 g). In SPS, the highest results were

241 obtained in plant-cane harvest and genotypes RB935744 (900.6g) and RB867515
242 (822.3g) had the highest means.

243 For the BC, there was no significant interaction for genotypes and harvests in
244 JG ($F_{7,45} = 1.23$, $P = 0.30$) nor in SPS ($F_{7,45} = 1.42$, $P > 0.05$); however, there was
245 significant difference between genotypes (JG: $F_{7,45} = 2.34$, $P = 0.04$ and SPS: $F_{7,45} =$
246 3.76 , $P < 0.01$) and harvests in JG ($F_{1,45} = 301.05$, $P < 0.01$). In JG, plant-cane had
247 the highest infestation with an average of 65.5% of culms with at least one bored
248 internode. In addition, values reached 76% (RB935345) and for most genotypes,
249 values of IC in JG were the double in SPS (Table 2). In the first-ratoon, IC values
250 decreased significantly in JG and averages of genotypes were lower than 13%.
251 However, in SPS, variation was slighter and genotypes RB935744 (40.1%),
252 RB855156 (38.5%) and RB925345 (37.5%) had the highest averages for BC (Table
253 2).

254
255
256
257
258

Table 1. Means \pm standard error of yield of culms ($\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$) and culm weight of sugarcane genotypes in plant-cane and first-ratoon harvests in two sites in the State of Rio Grande do Sul, Brazil.

| Genotype | Jaguari | | | São Pedro do Sul | | |
|-------------------|--------------------|---------------------|---------|-------------------|------------------|---------|
| | Yield of culms | | | Culm Weight | | |
| | 2017 | 2018 | Average | 2017 | 2018 | Average |
| RB867515 | 39.5 \pm 1.5Ba | 101.7 \pm 6.2Aa | 70.6 | 32.1 \pm 5.4 | 49.0 \pm 4.4 | 40.5a |
| RB965902 | 22.8 \pm 1.6Ba | 67.9 \pm 5.2Ab | 45.4 | 20.1 \pm 1.9 | 31.2 \pm 2.4 | 24.6b |
| RB987935 | 30.9 \pm 2.8Ba | 93.0 \pm 1.1Aa | 62.0 | 27.6 \pm 0.6 | 40.1 \pm 7.1 | 33.9b |
| RB935744 | 37.3 \pm 3.9Ba | 94.3 \pm 4.2Aa | 65.8 | 33.7 \pm 1.7 | 51.4 \pm 3.4 | 42.6a |
| RB925345 | 36.3 \pm 3.5Ba | 65.6 \pm 1.7Ab | 51.0 | 26.4 \pm 3.9 | 40.4 \pm 3.9 | 33.4b |
| RB855156 | 29.4 \pm 4.3Ba | 71.9 \pm 5.5Ab | 50.7 | 23.1 \pm 3.4 | 28.3 \pm 4.9 | 25.7b |
| RB92579 | 34.1 \pm 1.6Ba | 98.3 \pm 7.7Aa | 66.2 | 27.9 \pm 3.0 | 32.4 \pm 1.5 | 30.2b |
| RB966928 | 33.4 \pm 1.1Ba | 70.9 \pm 2.6Ab | 52.2 | 23.2 \pm 2.5 | 36.7 \pm 3.8 | 29.9b |
| Average (harvest) | 33.0 | 82.9 | - | 26.8B | 38.7A | - |
| | Yield of culms | | | Culm Weight | | |
| | 2017 | 2018 | Average | 2017 | 2018 | Average |
| RB867515 | 706.0 \pm 17.7Ba | 1244.9 \pm 42.8Aa | 975.5 | 961.9 \pm 57.9 | 682.7 \pm 78.2 | 822.3a |
| RB965902 | 516.4 \pm 12.4Ba | 730.0 \pm 62.8Ac | 623.2 | 588.3 \pm 46.9 | 543.1 \pm 22.7 | 565.7b |
| RB987935 | 685.2 \pm 62.7Ba | 979.6 \pm 38.7Ab | 832.4 | 680.4 \pm 48.8 | 536.0 \pm 32.3 | 608.2b |
| RB935744 | 672.1 \pm 8.2 Ba | 1045.7 \pm 38.0Ab | 858.9 | 1095.8 \pm 61.2 | 705.5 \pm 33.7 | 900.6a |
| RB925345 | 578.9 \pm 28.9Ba | 751.3 \pm 17.6Ac | 665.1 | 715.4 \pm 57.2 | 579.8 \pm 30.0 | 647.6b |
| RB855156 | 567.8 \pm 18.9Ba | 817.3 \pm 112.6Ac | 692.6 | 676.5 \pm 75.5 | 484.1 \pm 33.2 | 580.3b |
| RB92579 | 620.5 \pm 28.1Ba | 1049.4 \pm 56.8Ab | 835.0 | 793.0 \pm 48.1 | 455.0 \pm 16.3 | 624.0b |
| RB966928 | 595.0 \pm 37.2Ba | 801.4 \pm 34.9Ac | 698.2 | 711.6 \pm 75.8 | 548.1 \pm 98.7 | 629.9b |
| Average (harvest) | 617.7 | 927.5 | - | 777.8A | 566.8B | - |

259
260
261
262
263
264

Means followed by the same capital letters in rows are not significantly different by the F test. Means followed by the same lower case letters in columns belong to the same group according to the Scott-Knott test ($P > 0.05$).

265 **Table 2.** Means \pm standard error of bored culms (%) and galleries on sugarcane genotypes
 266 in plant-cane and first-ratoon harvests in two sites in the State of Rio Grande do Sul, Brazil.
 267

| Genotype | Jaguari | | | São Pedro do Sul | | |
|-------------------|------------------|------------------|---------|--------------------|-----------------|-------------------|
| | Bored culms | | | | | |
| | 2017 | 2018 | Average | 2017 | 2018 | Average |
| RB867515 | 71.3 \pm 9.77 | 6.7 \pm 3.15 | 39.0a | 33.2 \pm 13.63 | 10.8 \pm 4.59 | 30.5 \pm 14.79b |
| RB965902 | 57.0 \pm 14.49 | 1.9 \pm 1.20 | 29.5a | 21.8 \pm 7.16 | 22.4 \pm 5.07 | 25.8 \pm 11.45b |
| RB987935 | 62.2 \pm 8.15 | 4.3 \pm 1.74 | 33.3a | 11.3 \pm 7.49 | 25.4 \pm 4.62 | 25.8 \pm 12.90b |
| RB935744 | 63.2 \pm 4.86 | 11.1 \pm 2.58 | 37.2a | 44.1 \pm 14.18 | 42.0 \pm 3.71 | 40.1 \pm 10.78a |
| RB925345 | 76.0 \pm 6.25 | 9.5 \pm 2.67 | 42.8a | 37.1 \pm 3.45 | 37.8 \pm 1.48 | 37.5 \pm 13.66a |
| RB855156 | 62.7 \pm 9.30 | 12.5 \pm 3.31 | 37.6a | 46.3 \pm 12.79 | 32.5 \pm 4.32 | 38.5 \pm 10.64a |
| RB92579 | 74.5 \pm 10.82 | 8.2 \pm 2.06 | 41.4a | 11.6 \pm 5.43 | 24.9 \pm 4.48 | 29.8 \pm 15.33b |
| RB966928 | 56.8 \pm 7.80 | 7.2 \pm 3.62 | 32.0a | 28.7 \pm 8.60 | 26.4 \pm 4.84 | 29.8 \pm 10.22b |
| Average (harvest) | 65.5A | 7.7B | - | 29.3 ^{ns} | 27.8 | - |
| Galleries | | | | | | |
| | 2017 | 2018 | Average | 2017 | 2018 | Average |
| RB867515 | 28.5 \pm 5.3Ac | 2.8 \pm 1.1Ba | 15.7 | 6.3 \pm 2.7 | 3.8 \pm 1.5 | 5.0b |
| RB965902 | 15.5 \pm 5.2Ac | 1.0 \pm 0.7Ba | 8.3 | 4.8 \pm 1.4 | 6.5 \pm 1.2 | 5.7b |
| RB987935 | 21.3 \pm 3.5Ac | 2.0 \pm 1.0Ba | 11.7 | 2.3 \pm 1.6 | 12.5 \pm 3.9 | 7.4b |
| RB935744 | 48.5 \pm 6.9Aa | 6.0 \pm 1.8Ba | 27.3 | 10.3 \pm 3.5 | 20.8 \pm 0.9 | 15.6a |
| RB925345 | 33.0 \pm 9.4Ab | 4.0 \pm 1.3Ba | 18.5 | 10.0 \pm 0.7 | 14.0 \pm 2.1 | 12.0a |
| RB855156 | 24.3 \pm 5.9Ac | 4.8 \pm 1.11Ba | 14.6 | 9.5 \pm 1.2 | 14.0 \pm 4.7 | 11.8a |
| RB92579 | 34.0 \pm 4.6Ab | 4.8 \pm 1.5Ba | 19.4 | 2.3 \pm 1.1 | 11.5 \pm 2.5 | 6.9b |
| RB966928 | 21.5 \pm 1.6Ac | 3.8 \pm 2.1Ba | 12.7 | 7.0 \pm 3.8 | 11.0 \pm 3.2 | 9.0b |
| Average (harvest) | 28.3 | 3.7 | - | 6.6B | 11.8A | - |

268

269

270

271

Means followed by the same capital letters in rows are not significantly different by the F test. Means followed by the same low case letters in columns belong to the same group according to the Scott-Knott test ($P > 0.05$). ^{ns} Not significant.

272 The traits GAL, FII, and BRC follow the BC results; however, with different
273 response between genotypes, particularly in JG, which showed higher infestation.
274 This indicates that infestations were uniform, despite the different levels they
275 displayed according to site and year. The injury traits displayed significant interaction
276 of genotypes and harvests in JG, GL ($F_{7,45} = 2.57$, $P = 0.02$), FII ($F_{7,45} = 3.97$, $P <$
277 0.01) and BRC ($F_{7,45} = 3.93$, $P < 0.01$). In SPS, no interactions were verified; still, for
278 GL, there were significant differences between genotypes ($F_{7,45} = 4.18$, $P < 0.01$) and
279 harvests ($F_{1,45} = 10.55$, $P = 0.01$). Moreover, there were significant differences
280 between genotypes for FII ($F_{7,45} = 5.17$, $P < 0.01$) and BRC ($F_{7,45} = 4.82$, $P < 0.01$) in
281 SPS.

282 Results of GL showed that plant-cane harvest had higher tunneling in JG and
283 RB935744 (48.5) was the most injured genotype. In SPS, no differences were
284 observed between harvests and the genotypes with the highest means were
285 RB935744 (15.6), RB925345 (12.0), and RB855156 (3.5) (Table 2). Sites displayed a
286 different range for FII and BRC, from 2017 to 2018, and FII was significantly higher in
287 JG in plant-cane. Between genotypes, the highest FII mean was 35.5% (RB935744).
288 However, a second group of genotypes also displayed high values of 24.1, 21.6,
289 22.5, and 20.3% for RB92579, RB867515, RB987935, and RB925345 respectively.
290 In first-ratoon, FII values dropped to less than 3% for all genotypes. In SPS, FII
291 values increased from plant-cane to first-ratoon for most genotypes, and the highest
292 FII average was observed for RB935744 (10.5%). Results of BRC showed low
293 additions over FII values (less than 4%) and RB935744 displayed the highest mean
294 in plant-cane in JG (39.3%) and the highest average (10.5%) in SPS (Table 3).

295 TSS showed significant interaction between genotype and harvests in JG
296 ($F_{7,45} = 5.44$, $P < 0.01$) and SPS ($F_{7,45} = 6.23$, $P < 0.01$). In JG, the highest TSS values

297 were obtained in plant-cane for most genotypes with higher results for RB966928
298 (20.8) and RB925345 (20.6). In first-ratoon, the best TSS results in JG were
299 observed for RB987935 (19.8), RB966928 (19.3), RB855156 (19.1) and RB965902
300 (18.8). In SPS, the highest TSS values were reported for plant-cane and the early-
301 ripening genotypes RB925345 (22.5), RB965902 (21.6), RB966928 (21.6) and
302 RB855156 (21.3) showed the highest results. In the first-ratoon, the highest TSS
303 values were observed for RB966928 (19.4), RB855156 (18.9), RB987935 (18.4), and
304 RB92579 (18.4) (Table 5).

305 YS also displayed significant interaction of genotypes and harvests in JG
306 ($F_{7,45} = 5.83$, $P < 0.01$) and it was not verified ($F_{7,45} = 0.58$, $P > 0.05$) in SPS. However,
307 there were significant differences for genotypes ($F_{7,45} = 4.45$, $P < 0.01$) and harvests
308 ($F_{1,45} = 27.22$, $P < 0.01$). In JG, the best results were observed for the first-ratoon for
309 late-ripening genotypes, 18.5, 18.4, 17.2 and 16.9 Mg.ha⁻¹ for RB867515, RB987935,
310 RB935744, and RB92579, respectively. In SPS, the highest averages were also in
311 the first-ratoon, but no average was distinguished between genotypes (Table 4).

312 **Table 3.** Means \pm standard error of final infestation index (%), and the borer-rot complex (%)
 313 on sugarcane genotypes in plant-cane and first-ratoon harvests in two sites in the State of
 314 Rio Grande do Sul, Brazil.
 315

| Genotype | Jaguari | | | São Pedro do Sul | | |
|-------------------|-------------------------|-----------------|---------|-------------------|----------------|---------|
| | Final infestation index | | | | | |
| | 2017 | 2018 | Average | 2017 | 2018 | Average |
| RB867515 | 21.6 \pm 4.2Ab | 1.4 \pm 0.7Ba | 11.5 | 7.5 \pm 3.5 | 1.6 \pm 0.7 | 4.6b |
| RB965902 | 11.5 \pm 5.1Ac | 0.4 \pm 0.2Ba | 5.9 | 3.0 \pm 0.9 | 4.8 \pm 1.4 | 3.9b |
| RB987935 | 20.3 \pm 3.0Ab | 0.5 \pm 0.2Ba | 10.4 | 1.1 \pm 0.8 | 5.6 \pm 0.9 | 3.4b |
| RB935744 | 35.5 \pm 3.5Aa | 2.1 \pm 0.5Ba | 18.8 | 10.3 \pm 3.3 | 10.5 \pm 1.2 | 10.4a |
| RB925345 | 18.0 \pm 3.8Ab | 1.3 \pm 0.6Ba | 9.7 | 5.1 \pm 0.2 | 6.4 \pm 0.9 | 5.8b |
| RB855156 | 15.9 \pm 4.1Ac | 1.2 \pm 0.2Ba | 8.6 | 6.0 \pm 1.5 | 6.5 \pm 1.3 | 6.3b |
| RB92579 | 24.1 \pm 4.8Ab | 1.2 \pm 0.4Ba | 12.7 | 1.9 \pm 0.8 | 5.1 \pm 1.3 | 3.5b |
| RB966928 | 13.5 \pm 2.1Ac | 1.0 \pm 0.6Ba | 7.3 | 3.5 \pm 1.4 | 4.7 \pm 1.0 | 4.1b |
| Average (harvest) | 20.0 | 1.1 | - | 4.8 ^{ns} | 5.7 | - |
| | Borer-rot complex | | | | | |
| | 2017 | 2018 | Average | 2017 | 2018 | Average |
| RB867515 | 22.7 \pm 4.6Ab | 1.4 \pm 0.7Ba | 12.0 | 7.7 \pm 3.6 | 1.6 \pm 0.7 | 4.7b |
| RB965902 | 12.6 \pm 6.0Ac | 0.4 \pm 0.2Ba | 6.5 | 3.2 \pm 1.1 | 4.8 \pm 1.4 | 4.0b |
| RB987935 | 20.7 \pm 3.2Ab | 0.5 \pm 0.2Ba | 10.6 | 1.3 \pm 0.9 | 5.6 \pm 0.9 | 3.5b |
| RB935744 | 39.3 \pm 4.5Aa | 2.2 \pm 0.5Ba | 20.8 | 10.5 \pm 3.3 | 10.5 \pm 1.2 | 10.5a |
| RB925345 | 19.4 \pm 4.5Ab | 1.4 \pm 0.6Ba | 10.4 | 5.9 \pm 0.4 | 6.9 \pm 1.2 | 6.4b |
| RB855156 | 17.0 \pm 4.5Ac | 1.2 \pm 0.2Ba | 9.1 | 6.8 \pm 1.5 | 6.8 \pm 1.1 | 6.8b |
| RB92579 | 24.7 \pm 4.8Ab | 1.2 \pm 0.4Ba | 13.0 | 1.9 \pm 0.8 | 5.1 \pm 1.3 | 3.5b |
| RB966928 | 14.0 \pm 2.3Ac | 1.0 \pm 0.6Ba | 7.5 | 4.4 \pm 1.6 | 4.8 \pm 1.1 | 4.6b |
| Average (harvest) | 21.3 | 1.2 | - | 5.2 ^{ns} | 5.8 | - |

316

317 Means followed by the same capital letters in rows are not significantly different by the F test.

318 Means followed by the same lower case letters in columns belong to the same group

319 according to the Scott-Knott test ($P > 0.05$). ^{ns} Not significant.

320

321 **Table 4.** Means \pm standard error of total soluble solids ($^{\circ}$ Brix), and yield of total soluble
 322 solids ($\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$) of sugarcane genotypes in plant-cane and first-ratoon harvests in two sites in
 323 the State of Rio Grande do Sul, Brazil.
 324

| Genotype | Jaguari | | | São Pedro do Sul | | |
|----------------------|-------------------------------|------------------|---------|------------------|------------------|---------|
| | Total soluble solids | | | | | |
| | 2017 | 2018 | Average | 2017 | 2018 | Average |
| RB867515 | 20.0 \pm 0.3Ab | 18.2 \pm 0.5Bb | 19.1 | 20.0 \pm 0.3Ab | 17.7 \pm 0.3Bb | 18.9 |
| RB965902 | 20.2 \pm 0.4Ab | 18.8 \pm 0.3Ba | 19.5 | 21.6 \pm 0.2Aa | 17.3 \pm 0.3Bb | 19.5 |
| RB987935 | 19.5 \pm 0.4Ab | 19.8 \pm 0.4Aa | 19.7 | 20.3 \pm 0.5Ab | 18.4 \pm 0.5Ba | 19.4 |
| RB935744 | 19.4 \pm 0.1Ab | 18.1 \pm 0.6Bb | 18.8 | 19.9 \pm 0.3Ab | 17.3 \pm 0.2Bb | 18.6 |
| RB925345 | 20.6 \pm 0.2Aa | 17.6 \pm 0.4Bb | 19.1 | 22.5 \pm 0.5Aa | 17.1 \pm 0.3Bb | 19.8 |
| RB855156 | 19.7 \pm 0.3Ab | 19.1 \pm 0.3Aa | 19.4 | 21.3 \pm 0.3Aa | 18.9 \pm 0.3Ba | 20.1 |
| RB92579 | 19.8 \pm 0.2Ab | 17.3 \pm 0.6Bb | 18.6 | 19.7 \pm 0.8Ab | 18.4 \pm 0.3Ba | 19.0 |
| RB966928 | 20.8 \pm 0.2Aa | 19.3 \pm 0.2Ba | 20.5 | 21.6 \pm 0.1Aa | 19.4 \pm 0.4Ba | 20.5 |
| Average (harvest) | 20.0 | 18.5 | - | 20.9 | 18.1 | - |
| | Yield of total soluble solids | | | | | |
| | 2017 | 2018 | Average | 2017 | 2018 | Average |
| RB867515 | 7.9 \pm 0.2Ba | 18.5 \pm 1.3Aa | 13.2 | 6.5 \pm 1.1 | 8.6 \pm 0.6 | 7.6a |
| RB965902 | 4.6 \pm 0.3Ba | 12.7 \pm 0.8Ab | 8.7 | 4.3 \pm 0.4 | 5.4 \pm 0.5 | 4.9a |
| RB987935 | 6.0 \pm 0.6Ba | 18.4 \pm 0.6Aa | 12.2 | 5.6 \pm 0.3 | 7.4 \pm 1.2 | 6.5a |
| RB935744 | 7.2 \pm 0.8Ba | 17.2 \pm 1.3Aa | 12.2 | 6.7 \pm 0.3 | 8.9 \pm 0.6 | 7.8a |
| RB925345 | 7.5 \pm 0.7Ba | 11.6 \pm 0.6Ab | 9.6 | 6.0 \pm 0.9 | 6.9 \pm 0.7 | 6.5a |
| RB855156 | 5.8 \pm 0.9Ba | 13.7 \pm 1.1Ab | 9.8 | 4.9 \pm 0.8 | 5.3 \pm 0.9 | 5.1a |
| RB92579 | 6.7 \pm 0.3Ba | 16.9 \pm 1.1Aa | 11.8 | 5.4 \pm 0.4 | 6.0 \pm 0.3 | 5.7a |
| RB966928 | 6.9 \pm 0.2Ba | 13.7 \pm 0.5Ab | 10.3 | 5.0 \pm 0.6 | 7.1 \pm 0.7 | 6.0a |
| Average (harvest) | 6.6 | 15.3 | - | 5.6B | 6.9A | - |

325

326 Means followed by the same capital letters in rows are not significantly different by the F test.

327 Means followed by the same low case letters in columns belong to the same group according

328 to the Scott-Knott test ($P > 0.05$).

329 3.1 Multi-trait analyses

330

331

332

333

334

335

336

More than 77% of total variance was displayed by two main principal components (PC1 + PC2) for both sites, with 77.8 and 77.1 % for JG in plant-cane and first-ratoon harvests, respectively, and 84.8% and 78.1 % for SPS in plant-cane and first-ratoon harvests, respectively. Plant traits YC, TSS and YS and damage traits FII and BRC showed greater contribution to discriminate genotypes, based on the dispersion of vectors from the origin (Fig. 3).

337

338

339

340

341

342

343

344

345

The dispersion of genotypes displayed in biplot inferred the distinction between them and the vectors, toward or close to genotypes, are the traits better related to them, which may be of inverse response, when the genotype is in the opposite side of vectors. Genotype RB935744 is clearly related to damage traits FII and BRC, for both sites and harvests, regardless of *D. saccharalis* infestation. Genotype RB92579 also showed a closer position to damage traits in JG, and RB925345 in SPS (Fig. 3). RB867515 was more related to traits YC and YS, except in the first-ratoon harvest in SPS, probably due to an inverse influence of low damage traits results in this season.

346

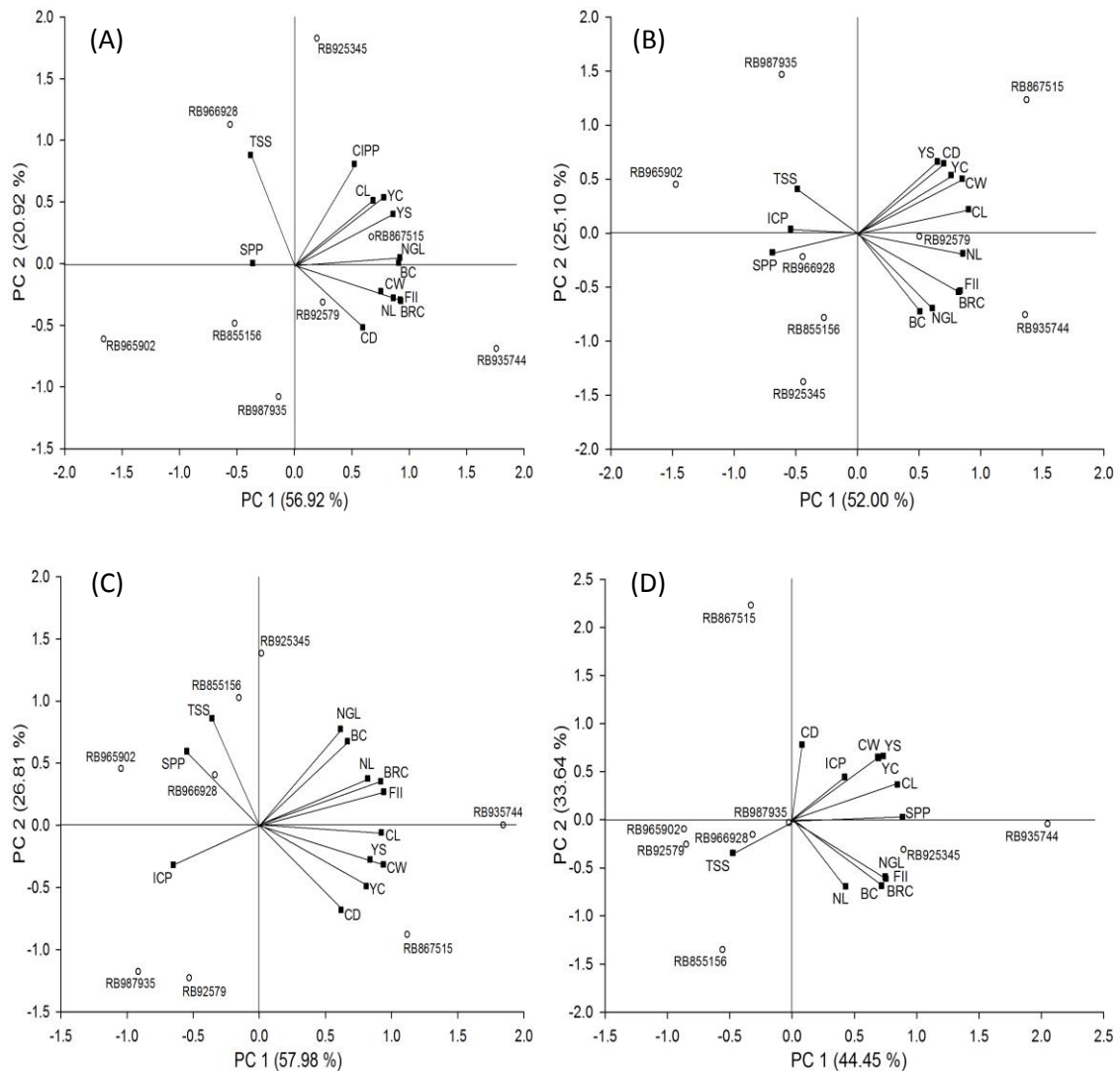
347

348

Among the other genotypes, TSS was the discriminant trait for RB966928 in the left side of biplots. Furthermore, RB965902 was on the opposite side of YC, YS and damage traits vectors for all sites and harvests (Fig. 3).

349

350

351
352

353

354

355

356

357

358

359

360

361

Fig. 3 Scores (genotypes) and factorial loads (traits) of the principal component analysis of eight sugarcane genotypes under infestation of *Diatraea saccharalis*, according to sites and harvests. (A) Jaguarí plant-cane harvest, (B) Jaguarí first-ratoon harvest, (C) São Pedro do Sul plant-cane harvest and (D) São Pedro do Sul first-ratoon harvest. State of Rio Grande do Sul, Brazil.

ICP - industrial culm per plant, SPP - sprouts per plant, CL - culm length, CD - culm diameter, YC - yield of industrial culms, CW - culm weight, BC - bored culms, GL - galleries, FII - final infestation index, BRC - borer-rot complex, LAR - number of larvae, TSS - total soluble solids, YS - Yield of TSS.

362 4. Discussion

363 The results showed variability on response of genotypes in terms of *D.*
364 *saccharalis* damages, in three ways. Firstly, some genotypes displayed better
365 production when damage traits were not significantly different and similar yields when
366 traits were significantly different between the most injured genotypes, particularly
367 RB867515 and RB935744, which was confirmed by the multi-trait analysis. Secondly,
368 RB925345 and RB855156 were the genotypes with significantly higher BC and GAL
369 in SPS, but they displayed significant difference of FII and BRC in RB935744, which
370 was the most injured. Thirdly, YS results on genotypes under infestation were more
371 related to the decrease of yield than to TSS.

372 Results of yield displayed the direct response of genotypes under favorable
373 and unfavorable conditions. A series of abiotic and biotic factors contributed to low
374 YC in plant-cane for both sites. (1) Planting occurred out of the optimum period, from
375 Aug to Sept. It was necessary due to risks of late frosts, but early planting resulted in
376 a mismatch between the maximum leaf area index with longer days (photoperiod)
377 and direct radiation (Silva et al., 2016). (2) Many days with rainfall were verified from
378 April 2017 to mid-June 2017, when in 46, out of 76 days, recorded precipitation,
379 which resulted in an accumulated volume of 624.6 mm (Fig. 2). This combination
380 represented for this period a reduction of direct radiation for photosynthesis and
381 water stagnancy on soil, which is negative due to deleterious effects of anaerobiosis
382 to sugarcane roots in terms of gas exchanges and nutrient uptake (Singh, 1990;
383 Hasan et al., 2003). Furthermore, (3) 2017 had highest BC by *D. saccharalis*,
384 particularly in JG and resulted in the highest values for damage traits (Tables 2 and
385 3). Herbivore infestation consistently interferes on plant physiology, and for
386 sugarcane, it increases respiration rates, reducing yield (Rossato Jr et al., 2019). In

387 Brazil, it is estimated a loss of 1.5% of yield per each 1% of FII (Arrigoni, 2002); thus,
388 genotypes were severely affected. Despite all factors it was observed that in JG,
389 yield values of early-ripening genotypes were two-fold in the first-ratoon (except for
390 RB 925345) and late-ripening genotypes displayed higher yields than national
391 average of 74.5 Mg.ha⁻¹ (IBGE, 2017) and reached values similar to results reported
392 in other studies in RS (Antunes et al., 2017, 2016; Morais et al., 2017).

393 Among the genotypes, RB867515 and RB935744 stood out for the highest YC
394 in first-ratoon harvests for both sites. Moreover, RB867515 also showed significant
395 higher values of CW in both sites. RB867515 is considered the most planted
396 genotype in Brazil due to its adaptation capacity and is frequently used as a control in
397 field experiments (Antunes et al., 2016; Gazaffi et al., 2016). RB935744 also showed
398 high yields in similar studies, but not under infestation of *D. saccharalis* (Morais et al.,
399 2017).

400 Damage traits revealed that infestation varied according to site and year
401 (harvest). In JG, there was high infestation in plant-cane (BC over 56% and FII over
402 11%) and a lower level in first-ratoon (BC up to 12.5% and FII up to 2.1%). In SPS,
403 both harvests showed intermediate infestation (BC from 10 to 46% and FII from 1 to
404 10.5%). These variations might be linked to local outbreaks of *D. saccharalis*, which
405 might involve many reasons. This species is hosted by a wide range of commercial
406 crops cultivated in the surrounding areas, such as maize, rice and sorghum (Barcelos
407 et al., 2018; Cruz, 2007; Martins et al., 1989; Waquil et al., 2001). Moreover, in small
408 sugarcane areas insecticide spraying is frequently arbitrary (not based on monitoring
409 criteria), which might contribute to the unbalance in the population of natural
410 enemies. Additionally, sometimes infestation is not even noticed and control methods
411 are not applied, contributing to high densities. Considering that the experimental sites

412 are relatively near (60 km approximately), this variation of infestation emphasizes the
413 importance of monitoring throughout crop development until harvesting for the
414 decision-making process of integrated pest management (IPM) of the sugarcane
415 borer. In Brazil, 3% of infestation index is the threshold for monitoring *D. saccharalis*
416 (Macedo and Macedo, 2004). Therefore, arbitrary uses of control measures in JG
417 would have lead to unsuccessful results in 2017 and loss of resources in 2018, when
418 the measures were not necessary (Table 3).

419 Regarding the impact of *D. saccharalis* injuries on yield, under high infestation
420 (JG plant-cane), the most significantly injured genotypes displayed no significant
421 difference of yield. However, when infestations were low (JG first-ratoon) and
422 intermediate (SPS), RB867515 and RB935744 displayed the highest yields even
423 among the most injured genotypes, implying that even among few genotypes there is
424 variation on response to *D. saccharalis* injuries. These findings lead to the
425 assumption that genotypes, such as RB867515 and RB935744, withstand higher
426 percentages of bored internodes to reach an injury of economic level, in terms of YC.
427 In the state of Alagoas, northeastern Brazil, RB867515 was the most damaged in the
428 first year and displayed no significant difference between genotypes in the second
429 and third ratoons, under irrigated conditions (Lima et al., 2013). Under field
430 conditions of the state of Goiás, midwestern Brazil, this genotype also displays high
431 resistance degrees (Ferreira et al., 2018) and in a greenhouse, plants of RB867515
432 caused high mortality of early-stage larvae, likely due to resistance factors in their
433 leaves (Tomaz et al., 2018). Considering that the infestation index is an undoubted
434 measure of *D. saccharalis* damage (Milligan et al., 2003), the adoption of genotype-
435 specific thresholds (Posey et al., 2006) might be suitable for subtropical conditions,
436 rather than the use of generalist value for different genotypes.

437 Another interesting response was verified in SPS, where the number of
438 genotypes with the highest FII percentages was lower than genotypes with higher
439 values of BC and GAL. This means that genotypes with significantly higher BC and
440 GAL displayed lower FII and BRC rates, particularly RB925345 and RB855156.
441 Assuming that infestation was equal for genotypes and that FII is directly dependent
442 on tunneling and larvae occurrence, the difference might be related to the response
443 of genotypes to *D. saccharalis* feeding, in terms of the size of galleries (tunneling)
444 individually until some point. This is likely associated to the chemical and/or physical
445 properties of the culms that influence insect development (Lara, 1991; Painter, 1951;
446 Souza et al., 2013).

447 Results also highlighted that genotypes RB965902 and RB966928 displayed
448 significant low rates of GAL, FII, and BRC. RB966928 is reported among genotypes
449 of highest FII levels under field conditions in Goianésia, in the state of Goiás,
450 midwestern Brazil (Ferreira et al., 2018). This underlines the importance of genotype
451 selection under subtropical conditions concerning *D. saccharalis* damage, which
452 seems to be highly affected by environment, and might present opposite results in
453 comparison to other climate conditions. However, concerning the red rot disease,
454 which accounted for an incidence lower than 4%, these genotypes seemed to be
455 more associated to *D. saccharalis* feeding than to differences on genotype
456 susceptibility to fungi, because holes and tunneling made by larvae are important
457 entrances for these microorganisms (Dinardo-Miranda et al., 2012b; Ferreira et al.,
458 2018).

459 Regarding TSS, a general decrease of rates was observed from plant-cane to
460 first-ratoon. Considering that air temperature is a primary variable for sugarcane
461 ripening, particularly low temperatures (Cardozo and Sentelhas, 2014), the

462 occurrence of frosts associated to smaller plants lead to a faster maturation of culms
463 in 2017. Furthermore, YS was more related to YC than to TSS, even under higher
464 infestation. In JG, when there was a significant difference for FII, BRC and TSS
465 between treatments on plant-cane, no significant difference of YS was verified
466 among genotypes, possibly because YC displayed no significant difference (Tables
467 1, 3 and 4). Likewise, results of first-ratoon showed that late-ripening genotypes had
468 higher YC and YS, even with significant differences of TSS. SPS showed this
469 tendency numerically. This analysis suggests that the impact of *D. saccharalis*
470 damages on YS was more related to the decrease of YC than impacts on TSS rates,
471 which was also verified under isolated or combined infestation of sugarcane borer
472 and spittlebugs, *Mahanarva fimbriolata* (Stål, 1854) (Hemiptera: Cercopidae), which
473 influenced primarily on yield than on TSS values (Rossato Jr et al., 2019). Naturally,
474 among genotypes of same level of resistance, the ones of higher TSS should be
475 prioritized because of the benefits of their properties to the industry. However, results
476 suggest that during the selection steps of sugarcane genotypes, regarding *D.*
477 *saccharalis* resistance, yield traits, such as YC are more responsiveness to display
478 damage than those related to the broth, such as TSS, probably because the
479 reduction of sucrose concentration (up to 50%) does not affect the biology of the pest
480 (Borges Filho et al., 2018).

481 When two or three main components of the PCA represent roughly (or over)
482 80% of the variance, it allows discriminating groups using the dispersion of
483 genotypes in biplots (Cruz and Regazzi 2001). Then, the multi-trait analyses
484 supported the main results found in the ANOVA and the traits of higher
485 responsiveness for genotypes, particularly for RB867515 (YC and YS), RB935744
486 (FII, BRC), RB965902 (inversely response to YC and damage traits), and RB966928

487 and RB855156 (TSS), which were according to ANOVA results. Based on the PCA
488 results, future studies may focus on these traits in order to discriminate genotypes
489 (Teixeira et al., 2012), with reduction of evaluations in order to determine effective
490 influence of *D. saccharalis* damages. However, as other plant traits (CD, CL, SPP,
491 ICP, CW) varied between sites and harvests, in breeding studies these variables
492 should be kept for more accuracy to discriminate new genotypes (clones).

493 These are the first field experimental data concerning genetic divergence of
494 sugarcane genotypes, under natural infestation of *D. saccharalis* for subtropical
495 conditions in Brazil. Our results may open new perspectives for breeding programs
496 for sugarcane borer in such environments. Further analyses might reveal the
497 existence of antibiosis factors on culms of less damaged genotypes, particularly
498 RB966928 and RB965902, which would contribute to breeding programs as genitors.
499 Moreover, genotypes RB935744 and RB867515, which withstand *D. saccharalis*
500 damages better, might be used in combination with other control methods as IPM
501 strategies, such as the augmentative release of natural enemies using egg and/or
502 larval parasitoids that are efficient for Brazil (Broglia-Micheletti et al., 2007; Dinardo-
503 Miranda et al., 2014).

504 **5. Conclusion**

505 There is variability on response of sugarcane genotypes to *D. saccharalis*
506 damages. Genotypes withstand damages differently in terms of yield and injury.
507 According to principal component analyses, plant traits of yield of culms, total soluble
508 solids, yield of total soluble solids and damage traits of final infestation index and
509 borer-rot complex are appropriate for field evaluations of genotypes, under
510 sugarcane borer infestations.

511

512 Acknowledgments

513 We thank the Agroenergia team (Embrapa Clima Temperado, Pelotas, Brasil)
514 for the support with seedlings, Francis Rafael Tatto, William Rodrigues Antunes,
515 Daniel Bernardi and Gilmar Barros for helping with transportation and transplantation
516 of seedlings. We are also grateful to farmer Marco André Gracioli Pinheiro for
517 allowing us to conduct the experiment on his property and for helping with traits in
518 São Pedro do Sul, and to Instituto Federal Farroupilha – Campus Jaguari for allowing
519 us to conduct the experiment and for assistance with traits in Jaguari.

520

521 **References**

- 522 Alba, J.M.F., Flores, C.A., 2013. Zoneamento edáfico da cana-de-açúcar para o
523 estado do Rio Grande Do Sul. Embrapa, Brasília, 80p.
- 524 Alvares, C.A., Stape, J.L., Sentelhas, P.C., Gonçalves, J.L.M., Sparovek, G., 2013.
525 Köppen's climate classification map for Brazil. Meteorol. Z. 22, 711–728.
526 <https://doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>
- 527 Antunes, W.R., Schöffel, E.R., Silva, S.D. A., Eicholz, E., Härter, A., 2016.
528 Adaptabilidade e estabilidade fenotípica de clones de cana-de-açúcar. Pesq.
529 Agropec. Bras. 51, 142–148. [https://doi.org/10.1590/S0100-](https://doi.org/10.1590/S0100-204X2016000200006)
530 [204X2016000200006](https://doi.org/10.1590/S0100-204X2016000200006)
- 531 Antunes, W.R., Schöffel, E.R., Silva, S.D.A., Härter, A., Campos, A.D.S., Montero,
532 C.R.S., 2017. Productive performance of early sugarcane genotypes in Rio
533 Grande do Sul State, Brazil. Revista Scientia Agraria 18, 136–142.
534 <https://doi.org/10.5380/rsa.v18i2.50533>
- 535 Arrigoni, E.B. 2002. Broca da cana-de-açúcar – importância econômica e situação
536 atual. In: Arrigoni, E. B.; Dinardo-Miranda, L.L.; Rosseto, R. Pragas da cana-de-
537 açúcar – Importância econômica e enfoques atuais. STAB, Piracicaba, p.1-4.
- 538 Barcelos, L.M., Rosa, A.P.A., Emygdio, B.M., Valgas, R.A., Faria, I.C., 2018.
539 Resistance of saccharine sorghum cultivars to sugarcane borer *Diatraea*
540 *saccharalis*. Journal of Agricultural Science 10, 364.
541 <https://doi.org/10.5539/jas.v10n9p364>
- 542 Boiça Jr., A.L., Lara, F.M., Bellodi, M.P., 1997. Influência de variedades de cana-de-
543 açúcar, incorporadas em dieta artificial, no desenvolvimento de *Diatraea*
544 *saccharalis* (Fabr.) e no seu parasitismo por *Cotesia flavipes* (Cam.). An. Soc.
545 Entomol. Bras. 26, 537–542. <https://doi.org/10.1186/1741-7007-3-24>

- 546 Borges Filho, R.D.C., Bernardi, D., Sturza, V.S., Cunha, U.S., Diez-Rodríguez, G.I.,
547 Sene Pinto, A., Nava, D.E., 2018. Importance of sugar for the development of
548 *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) on artificial diet. J. Econ.
549 Entomol. 111, 2693–2698. <https://doi.org/10.1093/jee/toy286>
- 550 Bortoli, S.A., Dória, H.O.S., Albergaria, N.M.M.S., Botti, M.V., 2005. Aspectos
551 biológicos e dano de *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera: Pyralidae)
552 em sorgo cultivado sob diferentes doses de nitrogênio e potássio. Ciênc.
553 Agrotec. 29, 267–373. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542005000200001>
- 554 Brasil, 2018. Zoneamento Agrícola de Risco Climático para a cultura de cana-de-
555 açúcar, em regime de sequeiro, no Estado do Rio Grande do Sul (PORTARIA
556 Nº 45, DE 30 DE ABRIL DE 2018). Diário Oficial de União 63, 104–110.
- 557 Broglio-Micheletti, S.M.F., Pereira-Barros, J.L., Santos, A.J.N., Carvalho, L.W.T.,
558 Carvalho, L.H.T., Oliveira, C.J.T., 2007. Effect of the number of *Trichogramma*
559 *galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) adults released by
560 successive weeks, to control *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794)
561 (Lepidoptera: Crambidae). Ciênc. Agrotec. 31, 53–58.
562 <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542007000100008>
- 563 Cardozo, N.P., Sentelhas, P.C., 2014. Climatic effects on sugarcane ripening under
564 the influence of cultivars and crop age. Sci. Agric. 70, 449–456.
565 <https://doi.org/10.1590/s0103-90162013000600011>
- 566 Carvalho, I.R., Nardino, M., Ferrari, M., Pelegrin, A.J., Demari, G.H., Szareski, V.J.,
567 Follmann, D.N., Bahry, C.A., Souza, V.Q., Oliveira, A.C., Maia, L.C., 2016.
568 Genetic variability among common black bean (*Phaseolus vulgaris* L.)
569 accessions in southern Brazil. Aust. J. Crop Sci. 10, 1474–1483.
570 <https://doi.org/10.21475/ajcs.2016.10.10.p7786>

- 571 Cruz, C.D., 2013. GENES - a software package for analysis in experimental statistics
572 and quantitative genetics. *Acta Sci. Agron.* 35, 271–276.
573 <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v35i3.21251>
- 574 Cruz, C.D.; Regazzi, A.J, 2001. Modelos biométricos aplicados ao melhoramento
575 genético. UFV, Viçosa, 390p.
- 576 Cruz, I., 2007. A Broca da Cana-de-Açúcar, *Diatraea saccharalis*, em Milho, no
577 Brasil. Circular Técnica 90, 12.
- 578 Dalmolin, R.S.D., Pedron, F. A., Azevedo, A.C., Miguel, P., Sana, R.S., 2004.
579 Correspondência entre o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos
580 (EMBRAPA, 1999), WRB (ISSSWB RB, 1998) e o Soil Taxonomy (USDA, 1999)
581 para as principais unidades de solos do Rio Grande do Sul. Informativo Técnico
582 do Centro de Ciências Rurais, p. 1–4.
- 583 Dinardo-Miranda, L.L., Anjos, I.A., Costa, V.P., Fracasso, J.V., 2012a. Resistance of
584 sugarcane cultivars to *Diatraea saccharalis*. *Pesq. Agropec. Bras.* 47, 1–7.
585 <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2012000100001>
- 586 Dinardo-Miranda, L.L., Fracasso, J.V., Costa, V.P., Lopes, D.O.T., 2014. Dispersal of
587 *Cotesia flavipes* in sugarcane field and implications for parasitoid releases.
588 *Bragantia* 73, 163–170. <https://doi.org/10.1590/brag.2014.023>
- 589 Dinardo-Miranda, L.L., Fracasso, J.V., Anjos, I.A., Garcia, J., Costa, V.P., 2012b.
590 Influência da infestação de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) sobre parâmetros
591 tecnológicos da cana-de-açúcar. *Bragantia* 71, 342–345.
592 <https://doi.org/10.1590/S0006-87052012005000030>
- 593 Ferreira, C.A.S., Santana, M.V., Santos, J.B., Santos, T.T.M., Lôbo, L.M., Fernandes,
594 P.M., 2018. Yield and technological quality of sugarcane cultivars under
595 infestation of *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794). *Arq. Inst. Biol.* 85, 1–7.

- 596 <https://doi.org/10.1590/1808-1657000042017>
- 597 Gazaffi, R., Cursi, D., Chapola, R., Santos, J., Fernandes-Jr, A., Carneiro, M.,
598 Barbosa, G., Hoffmann, H., 2016. RB varieties: a major contribution to the
599 sugarcane industry in Brazil. Proc. Int. Soc. Sugar Cane Technol. 29, 1677–
600 1682.
- 601 Hasan, M.F., Alam, M.R., Jabber, M.A., Begum, M.K., Miah, M.A.S., 2003. Effects of
602 water-logging on juice quality and yield of sugarcane. Pakistan J. Biol. Sci. 6,
603 1151–1115. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2003.1151.1155>
- 604 Lima, H.M.A., Rodrigues, V.M, Duarte, A.G., Araujo, J.V., Lopes, D.O.P., Lima, I.S.,
605 Duarte, A.G., Teodoro, I., 2013. Infestação de *Diatraea* spp. (LEPIDOPTERA:
606 CRAMBIDAE) em variedades RB (República do Brasil) de cana-de-açúcar.
607 Comunicata Scientiae 4, 407–413.
- 608 Link, D., Costa, E.C., Dariva, T., Silva, M.I., 1981. Infestação de *Diatraea saccharalis*
609 em cultivares de cana-de-açúcar. Revista do Centro de Ciências Rurais 11,
610 233–266.
- 611 Lourenção, L., Rossetto, C.J., Germek, E.B., Igue, T., Rezende, J.A.M., Pereira,
612 J.A.M., 1982. Comportamento d e clones d e cana-de-açúcar em relação a
613 *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794). Bragantia 41, 146–154.
- 614 Martins, J.F.S., Parra, J.R.P., Mihsfeldt, L.H., 1989. Resistência de arroz á broca-do-
615 colmo. Pesq. Agropec. Bras. 24, 367–373.
- 616 Martins, J.F.S., Tan, N. Van, Pinheiro, B.S., 1981. Resistencia de arroz de sequero á
617 broca-do-colmo e sua associaçao com características morfológicas das plantas.
618 Pesq. Agropec. Bras. 16, 187–192.
- 619 Milligan, S.B., Balzarini, M., White, W.H., 2003. Broad-sense heritabilities, genetic
620 correlations, and selection indices for sugarcane borer resistance and their

- 621 relation to yield loss. *Crop Sci.* 43, 1729–1735.
622 <https://doi.org/10.2135/cropsci2003.1729>
- 623 Morais, K.P., Medeiros, S.L.P., Silva, S.D.A., Biondo, J.C., Boelter, J.H., Dias, F.S.,
624 2017. Produtividade de colmos em clones de cana-de-açúcar. *Rev. Ceres* 64,
625 291–297. <https://doi.org/10.1590/0034-737X201764030010>
- 626 Nogueira, H.M.C.M., Nogueira, C.U., Fantinel, A.L., Muller, I., Hoffmann, R., 2016.
627 Potencial produtivo da cana-de-açúcar cultivada na Região Central do Rio
628 Grande do Sul. *Tecnol. & Ciên. Agropec.* 10, 33–39.
- 629 Pannuti, L.E.R., Baldin, E.L.L., Gava, G.J.C., Kölln, O.T., Cruz, J.C.S., 2013. Danos
630 do complexo broca-podridão à produtividade e à qualidade da cana-de-açúcar
631 fertirrigada com doses de nitrogênio. *Pesq. Agropecu. Bras.* 48, 381–387.
632 <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2013000400005>
- 633 Posey, F.R., White, W.H., Reay-Jones, F.P.F., Gravois, K., Salassi, M.E., Leonard,
634 B.R., Reagan, T.E., 2006. Sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae)
635 management threshold assessment on four sugarcane cultivars. *J. Econ.*
636 *Entomol.* 99, 966–971. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-99.3.966>
- 637 Rio Grande do Sul, 2012. LEI Nº 13.921, DE 17 DE JANEIRO DE 2012.
638 <https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=156474>.
- 639 Rohlf, F.J., 1970. Adaptive hierarchical clustering schemes. *Systematic Biology* 19,
640 58–82. <https://doi.org/10.1093/sysbio/19.1.58>
- 641 Rossato Jr, J.A.S., Madaleno, L.L., Mutton, M.J.R., Higley, L.G., Fernandes, O.A.,
642 2019. Photosynthesis, yield and raw material quality of sugarcane injured by
643 multiple pests. *PeerJ* 7, 1–15. <https://doi.org/10.7717/peerj.6166>
- 644 Silva, S.D.A., Montero, C.R.S., Santos, R.C., Nava, D.E., Gomes, C.B., Almeida, I.R.,
645 2016. Sistema de produção da cana-de-açúcar para o Rio Grande do Sul.

- 646 Embrapa Clima Temperado, Pelotas, 247p.
- 647 Souza, J.R., Boiça, A.L., Perecin, D., Filho, A.C., Costa, J.T., 2013. Divergência
648 genética de cultivares de cana-de-açúcar quanto à resistência a *Diatraea*
649 *saccharalis*. Semina: Ciências Agrárias 34, 3367–3376.
650 <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n6Supl1p3367>
- 651 Souza, J.R., Júnior, A.L.B., Perecin, D., Costa, J.T., Ribeiro, Z.A., 2017. Não
652 preferência para oviposição e alimentação da broca-da-cana por cultivares de
653 cana-de-açúcar. Rev. Cienc. Agrar. 60, 291–295.
654 <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.4322/rca.2763> Joseane
- 655 Teixeira, A.L., Gonçalves, F.M.A., de Rezende, J.C., Rocha, R.B., & Pereira, A.A,
656 2013. Principal component analysis on morphological traits in juvenile stage
657 arabica coffee. Coffee Science 8, 205–210.
658 <http://dx.doi.org/10.25186/cs.v8i2.411>
- 659 Tomaz, A.C., Coutinho, A.E., Soares, B.O., Peternelli, L.A., Pereira, E.J.G., Barbosa,
660 M.H.P., 2018. Assessing resistance of sugarcane varieties to sugarcane borer
661 *Diatraea saccharalis* Fab. (Lepidoptera: Crambidae). Bull. Entomol. Res. 108,
662 547–555. <https://doi.org/10.1017/S0007485317001183>
- 663 Verissimo, M.A.A., Silva, S.D.A., Aires, R.F., Daros, E., Panziera, W., 2012.
664 Adaptabilidade e estabilidade de genótipos precoces de cana-de-açúcar no Rio
665 Grande do Sul. Pesq. Agropec. Bras. 47, 561–568.
666 <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2012000400012>
- 667 Waquil, J.M., Rodrigues, J.A.S., Santos, F.G., Ferreira, A.S., Vilella, F.M.F., Foster,
668 J.E., 2001. Resistance of commercial hybrids and lines of sorghum, *Sorghum*
669 *bicolor* (L.) Moench., to *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Pyralidae).
670 Neotrop. Entomol. 30, 661–668. <https://doi.org/10.1590/S1519->

671 566X2001000400022

672 Yasem de Romero, M.G., Salvatore, A.R., López, G., Willink, E., 2008. Presencia
673 natural de hongos hyphomycetes en larvas invernantes de *Diatraea saccharalis*
674 F. en caña de azúcar en Tucumán , Argentina. Rev. Ind. y Agríc. de Tucumán
675 85, 39–42.

676

APPENDIX A

677 A.1 Values for block (B/E), genotype (G), environment (E) interaction (GxE), error (Er) and coefficient of variation (CV) of ANOVA results for
 678 yield of culms (YC), culm weight (CW), bored culms (BC), galleries (GL-number of tunnels made by larvae feeding), number of larvae (LA),
 679 Final Infestation Index (FII), borer-rot complex (BRC), total soluble solids (TSS), yield of sugar (YS), number of industrial culms (IC), Culm
 680 Diameter (CD), Culm length (CL) and number of sprouts per plant (SPP) in the city of Jaguari, state of Rio Grande do Sul, Brazil.

681

| Source of variation | Degree of freedom | Mean Square | | | | | | |
|---------------------|-------------------|-------------|--------------|----------------------|--------------------|------------------|--------------------|-----------|
| | | YC | CW | BC | GL | LAR ¹ | FII | BRC |
| B | 3 | 124.64 | 6953.68 | 602.85 | 155.13 | 13.85 | 117.88 | 160.74 |
| (G) | 7 | 685.19** | 116432.07** | 376.87* | 272.57** | 44.42** | 126.09** | 153.60** |
| (E) | 1 | 39955.01** | 1534811.27** | 59920.92** | 9801.00** | 506.25** | 5722.92** | 6478.24** |
| (GxE) | 7 | 346.20** | 32413.13** | 199.04 ^{ns} | 163.07* | 27.90** | 101.21** | 123.67** |
| Er | 45 | 57.51 | 8596.33 | 161.31 | 63.43 | 7.90 | 25.47 | 31.43 |
| CV(%) | | 13.08 | 12.00 | 33.21 | 49.70 | 81.07 | 47.76 | 50.04 |
| | | SST | YS | ICP ¹ | CD ¹ | CL ¹ | SPP ¹ | |
| B | 3 | 2.91 | 6.08 | 1.08 | 2.02 | 0.02 | 1.94 | |
| (G) | 7 | 1.89** | 20.45** | 0.23 | 17.75** | 0.07** | 9.55** | |
| (E) | 1 | 33.79** | 1223.25** | 106.35 | 16.67** | 2.01** | 17.96** | |
| (GxE) | 7 | 2.27** | 13.47** | 0.87 | 0.46 ^{ns} | 0.04** | 1.54 ^{ns} | |
| Er | 45 | 0.42 | 2.31 | 0.27 | 0.37 | 0.01 | 1.11 | |
| CV(%) | - | 3.35 | 13.87 | 10.34 | 2.42 | 5.43 | 12.06 | |

682

683 *Significant according to the F test (P < 0.05). **Significant according to the F test (P < 0.01).

684 ¹ Data used only for multi-trait and cluster analyses.

685

686

687 A.2 Values for block (B/E), genotype (G), environment (E) interaction (GxE), error (Er) and coefficient of variation (CV) of ANOVA results for
 688 yield of culms (YC), culm weight (CW), bored culms (BC), galleries (GL-number of tunnels made by larvae feeding), number of larvae (LA),
 689 Final Infestation Index (FII), borer-rot complex (BRC), total soluble solids (TSS), yield of sugar (YS), number of industrial culms (IC), Culm
 690 Diameter (CD), Culm length (CL) and number of sprouts per plant (SPP) in the city of São Pedro do Sul, state of Rio Grande do Sul, Brazil.
 691

| Source of variation | Degree of freedom | Mean Square | | | | | | |
|---------------------|-------------------|---------------------|------------------------|----------------------|---------------------|--------------------|---------------------|---------------------|
| | | YC | CW | BC | GL | LAR ¹ | FII | BRC |
| B | 3 | 57.57 | 10912.74 | 470.78 | 27.93 | 2.27 | 30.63 | 30.00 |
| (G) | 7 | 311.70** | 118074.87** | 804.33** | 106.52** | 1.53 ^{ns} | 43.61** | 44.60** |
| (E) | 1 | 2276.48** | 712948.03** | 35.85 ^{ns} | 435.77* | 0.40 ^{ns} | 11.23 ^{ns} | 4.84 ^{ns} |
| (GxE) | 7 | 47.80 ^{ns} | 26611.36 ^{ns} | 303.58 ^{ns} | 41.30 ^{ns} | 1.21 ^{ns} | 18.68 ^{ns} | 18.90 ^{ns} |
| Er | 45 | 54.84 | 12482.51 | 213.70 | 25.50 | 1.78 | 8.44 | 9.24 |
| CV(%) | | 22.63 | 16.62 | 51.29 | 55.24 | 110.7 | 55.59 | 55.56 |
| | | SST | YS | ICP ¹ | CD ¹ | CL ¹ | SPP ¹ | |
| B | 3 | 1.98 | 1.18 | 0.46 | 3.71 | 0.07 | 1.02 | |
| (G) | 7 | 3.18** | 8.74** | 0.61 ^{ns} | 19.29** | 0.18** | 9.07** | |
| (E) | 1 | 124.88** | 30.80** | 91.20** | 81.90** | 0.04 ^{ns} | 2589.53** | |
| (GxE) | 7 | 3.62** | 1.13 ^{ns} | 0.40 ^{ns} | 2.83 ^{ns} | 0.02 ^{ns} | 8.13** | |
| Er | 45 | 0.51 | 1.96 | 0.65 | 1.48 | 0.01 | 1.64 | |
| CV(%) | - | 3.67 | 22.42 | 22.23 | 5.09 | 8.45 | 12.47 | |

692
 693 *Significant according to the F test (P < 0.05). **Significant according to the F test (P < 0.01).
 694 ¹ Data used only for multi-trait and cluster analyses.

ARTIGO 3 – Revista Brasileira de Entomologia

1 **Dissimilaridade genética de populações da broca da cana-de-açúcar no Estado do Rio**
2 **Grande do Sul**

3
4 Vinícius Soares Sturza^{1*}, Naymã Pinto Dias¹, Moisés João Zotti¹, Frederico Schmitt
5 Kremer², Dori Edson Nava³
6

7 ¹Universidade Federal de Pelotas, Programa de Pós-graduação em Fitossanidade, Capão do
8 Leão, Rio Grande do Sul, 96010-610, Brasil. vsturza27@yahoo.com.br,
9 nayma.dias@gmail.com

10 ²Universidade Federal de Pelotas, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Capão do
11 Leão, Rio Grande do Sul, 96010-610, Brasil. fred.s.kremer@gmail.com

12 ³Embrapa Clima Temperado, Pelotas, Rio Grande do Sul, 96010-971, Brasil. dori-
13 edson.nava@embrapa.br
14

15 RESUMO: No Brasil, a broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* apresenta importância
16 econômica para várias culturas agrícolas, e apesar da importância, estudos com abordagem de
17 genética de populações da praga ainda são limitados, particularmente para o sul do país. Esse
18 trabalho teve por objetivo avaliar a dissimilaridade genética de populações da broca da cana-
19 de-açúcar no Estado do Rio Grande do Sul (RS). Larvas de *D. saccharalis* foram coletadas em
20 9 municípios de 5 regiões do Estado para extração e sequenciamento de DNA, utilizando
21 como marcador, fragmentos do gene citocromo C oxidase subunidade I (COI). As sequências
22 foram analisadas quanto a dissimilaridade, variabilidade intrapopulacional e filogenia. Os
23 dados obtidos confirmaram a ocorrência de *D. saccharalis* em todos os locais amostrados e a
24 formação de 3 grupos principais, de acordo com a dissimilaridade entre os locais do Estado.
25 Este trabalho reporta os primeiros resultados de dissimilaridade genética de populações de *D.*

26 *saccharalis* para o RS. As prováveis razões para a formação dos grupos e implicações dos
27 resultados no manejo de *D. saccharalis* para o Estado são discutidas.

28

29 PALAVRAS-CHAVE: Crambidae, Lepidoptera, *Oryza sativa*, *Saccharum*, *Zea mays*.

30

31

32 ABSTRACT: In Brazil, the sugarcane borer, *Diatraea saccharalis* presents economic
33 importance for several agricultural crops, and despite the importance studies with an approach
34 relative to the genetic dissimilarity of populations of the pest are still limited, particularly to
35 the Southern regions of the country. The objective of this work was to evaluate the genetic
36 dissimilarity of populations of the sugarcane borer in the State of Rio Grande do Sul (RS).
37 Larvae of *D. saccharalis* were collected in nine municipalities from five regions of the State
38 for extraction and sequencing of DNA using as marker, fragments of the gene cytochrome C
39 oxidase subunit I (COI). The sequences were analyzed for dissimilarity, intra-population
40 variability and phylogeny. The data obtained confirmed the occurrence of *D. saccharalis* in
41 all of the sampled sites and the formation of three main groups, according to the dissimilarity
42 between the sites of the State. This work reports for the first time results of genetic
43 dissimilarity of populations of *D. saccharalis* for RS. The likely reasons for the formation of
44 the groups and implications of the results in the management of *D. saccharalis* for the State
45 are discussed.

46

47 KEY-WORDS: Crambidae, Lepidoptera, *Oryza sativa*, *Saccharum*, *Zea mays*.

48

49 **Introdução**

50 A broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera:
51 Crambidae) é uma das principais pragas da cana-de-açúcar em vários países do continente
52 americano, e está distribuída desde o sul dos Estados Unidos até a Argentina (Fogliata et al.,
53 2016; Joyce et al., 2014; Vargas et al., 2015). No Brasil, *D. saccharalis* é relatada nas
54 principais regiões produtoras de cana-de-açúcar e também em outros cultivos como milho
55 (*Zea mays* L.), arroz (*Oryza sativa* L.) sorgo, e sorgo sacarino (*Sorghum bicolor* (L.) Moench)
56 (Correa et al., 2018; Ferreira et al., 2018; Francischini et al., 2017; Vilela et al., 2017; Waquil
57 et al., 2001).

58 Diferentes estudos tem abordado a genética de populações da broca da cana-de-açúcar
59 e de outras espécies do gênero *Diatraea* no país (Cortés et al., 2010; Francischini et al., 2017;
60 Lopes et al., 2014; Silva-Brandão et al., 2015a). A análise da diversidade genética permite
61 demonstrar a possível origem e abrangência das populações que ocorrem em uma área
62 geográfica, o que possibilita inferir se a ocorrência está vinculada a processos migratórios,
63 existência prévia em hospedeiros naturais ou ainda formação de complexos de espécies
64 crípticas (Joyce et al., 2014). Espécies crípticas podem apresentar diferenciação de base
65 fisiológica, como divergências e incompatibilidade reprodutiva, em razão de associação
66 hospedeira ou isolamento (Fogliata et al., 2016). Desta forma, a comparação de populações
67 usando marcadores moleculares possibilita identificar tais espécies (Barrera et al., 2017; Joyce
68 et al., 2014; Pashley et al., 2015; Solis et al., 2015).

69 O conhecimento da variabilidade genética de populações de insetos-praga pode ajudar
70 a entender fatores envolvidos no sucesso/insucesso de medidas de controle, tais como a
71 preferência/não preferência hospedeira, atratividade de feromônios, susceptibilidade a
72 inimigos naturais ou agentes de mortalidade, capacidade reprodutiva e manifestação de
73 períodos de dormência (Hufbauer; Via, 1999; Cortés et al., 2010; Joyce et al., 2016, 2014).

74 Apesar da importância desses fatores, nenhum estudo de genética de populações de *D.*
75 *saccharalis* desenvolvido no Brasil envolve mais de uma população do RS. Esse trabalho tem
76 por objetivo verificar a existência de dissimilaridade genética de *D. saccharalis* em
77 populações coletadas em cana-de-açúcar de diferentes locais do RS.

78

79 **Material e Métodos**

80 *Coleta de amostras e extração de DNA*

81 Os insetos foram coletados em 9 municípios de diferentes regiões do Estado do RS
82 entre abril de 2017 e maio de 2018 (Tabela 1). Plantas de cana-de-açúcar foram verificadas
83 quanto aos sintomas externos de ataque no colmo, como orifícios, presença de *frass* e
84 brotações de gemas laterais (Milligan et al., 2003). Os colmos atacados foram seccionados
85 longitudinalmente e as larvas coletadas acondicionadas em tubos plástico tipo Falcon (50 mL)
86 contendo dieta artificial (Parra & Mihsfeldt, 1992). No laboratório as larvas foram
87 transferidas para tubos Falcon (50 mL) e mantidas em álcool absoluto a 4°C até a extração de
88 DNA. Para extração do DNA, foi utilizado o protocolo adaptado de Doyle & Doyle (1990)
89 (Anexo I). As amostras de DNA foram verificadas por eletroforese em gel de agarose a 1% e
90 quantificadas por meio de espectrofotômetro Nanovue (GE Healthcare, Little Chalfont, UK).

91

92 *Amplificação por PCR*

93 As amostras de DNA foram diluídas em água nucleasse-free a concentração de 40
94 ng/μL. O fragmento de COI foi amplificado por PCR (Polymerase Chain Reaction)
95 utilizando os *primers*: 5_-ATTCAACCAATCATAAAGATATTGG- 3 (forward) e 5_-
96 TAAACTTCTGGATGTCCAAAAAATCA-3 (reverse) (Exxtend Biotecnologia, Paulínia, SP,
97 Brasil), indicados como DNA *bar code* para para *Diatraea saccharalis* e outros lepidópteros
98 (Hajibabaei et al., 2006; Joyce et al., 2014). As reações de PCR foram realizadas em volume

99 total de 25 μL , contendo 80 ng de DNA, 12,5 μL de GoTaq Green Master Mix (Promega®,
100 Fitchburg, USA), 5,5 μL de água nuclease-free, e 2,5 μL de cada *primer* (10 pmol. μL^{-1}). As
101 reações foram realizadas em termociclador modelo Veriti (Applied Biosystems, Foster City,
102 USA) consistindo de desnaturação inicial a 95 °C (2 minutos) seguido por 25 ciclos de
103 desnaturação a 95 °C (10 segundos), anelamento a 46 °C (10 segundos), extensão a 72 °C (1
104 minuto), e extensão final a 72 °C (10 minutos). Os produtos de PCR foram verificados por
105 eletroforese com gel de agarose a 1 %, por 1 h e 15 minutos a 80 V. Como referência foi
106 utilizado marcador de peso molecular 1Kb plus (8 μL) (Invitrogen, Carisbad, USA).
107 Posteriormente o gel foi visualizado em fotodocumentador UV Gel Logic 2200 (Carestream,
108 Rochester, USA), visualizado com o software Carestream Molecular Imaging (Carestream,
109 Rochester, USA).

110

111 *Purificação e sequenciamento*

112 Os produtos de PCR foram purificados utilizando o kit *ExoSAP IT PCR product clean*
113 *up* (Applied Biosystems), segundo as instruções do fabricante. O sequenciamento foi
114 realizado em sequenciador automático AB 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). Os
115 DNA-moldes foram marcados utilizando 2,5 pmol de cada primer e 0,5 μL do reagente
116 BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) em um volume final de
117 10 μL . As reações de marcação foram realizadas em termociclador LGC XP Cycler com uma
118 etapa de desnaturação inicial a 96 °C (3 minutos) seguida de 25 ciclos de 96 °C (10 segundos),
119 55 °C (5 segundos) e 60 °C (4 minutos). Uma vez marcadas, as amostras foram purificadas
120 pela precipitação com isopropanol a 75% e lavagem com etanol a 60%. Os produtos
121 precipitados foram diluídos em 10 μL de formamida Hi-Di™ (Applied Biosystems),
122 desnaturados a 95 °C (5 minutos), resfriados em gelo por 5 minutos e eletroinjetados no
123 sequenciador automático. Os dados de sequenciamento foram coletados utilizando- o

124 programa Data Collection 3 (Applied Biosystems) com os parâmetros Dye Set “Z”; Mobility
125 File “KB_3500_POP7_BDTv3.mob”; BioLIMS Project “3500_Project1”; Run Module 1
126 “FastSeq50_POP7_50cm_cfv_100”; e Analysis Module 1 “BC-3500SR_Seq_FASTA.saz”.
127 Os arquivos resultantes do Data Collection (.ab1; eletroferogramas) foram convertidos em
128 arquivos FASTA (.seq; texto) pelo Sequence Analysis Software v.6 (Applied Biosystems) sob
129 parâmetros padrões.

130

131 *Análise dos dados*

132 As sequências obtidas foram verificadas utilizando a ferramenta BLASTn do NCBI
133 quanto a similaridade, identidade e tamanho de fragmentos em comparação ao banco de dados
134 nr (nucleotide collection nr/nt). Foram consideradas para análise as amostras que obtiveram
135 amplificação usando ambos os primers forward (F) e reverse (R) e com Phred score (Q) \geq 20
136 para 80% dos nucleotídeos presentes no fragmento. As sequências F e R de cada amostra
137 analisada foram montadas usando a ferramenta merger do pacote EMBOSS (Rice et al.,
138 2000). A partir das sequências consenso produzidas, um alinhamento múltiplo foi realizado
139 usando a ferramenta MUSCLE (Edgar, 2004), e os resultados foram processados usando a
140 ferramenta TrimAl (Capella-Gutiérrez et al., 2009) para remover regiões com gaps e bases
141 com identificação ambígua. A partir do alinhamento múltiplo, uma árvore filogenética foi
142 produzida usando as ferramentas PhyML (Guindon et al., 2009) e iTOL (Letunic & Bork,
143 2016). Para cada população analisada, o alinhamento múltiplo foi utilizado como base para o
144 cálculo da entropia de Shannon de modo a se medir o grau de variabilidade de sequência
145 médio. Este cálculo foi realizado usando um script in house escrito em linguagem Python
146 (<https://www.python.org/>) com uso das bibliotecas Numpy (<http://www.numpy.org/>) e Scipy
147 (<https://www.scipy.org/>).

148

149 **Resultados**

150 Os resultados da análise no BLASTn apresentaram uma alta similaridade das
151 sequências obtidas com os registros do banco de dados (acima de 93%) para fragmentos com
152 mais de 200 nucleotídeos. Os resultados também indicaram mais de 94% de identidade para
153 *Diatraea saccharalis*, de acordo com os fragmentos de COI analisados (Tabela 2). Os
154 resultados da análise de Shannon apresentaram maior variabilidade no município de Jaguari
155 (0,096) e menores valores para Campina das Missões e Teutônia com 0,002 e 0,003,
156 respectivamente (Tabela 2).

157 As análises filogenéticas mostraram diferenciação de todos os indivíduos analisados
158 em relação ao exemplar utilizado como grupo externo, *Antheraea pernyi* (Guérin-Méneville,
159 1855) (Lepidoptera: Saturnidae) (Fig. 1). Além disso, foi possível a visualização de três
160 grandes grupos, com grande associação a distribuição espacial, de acordo com as áreas
161 amostradas. O primeiro grupo abrange as amostras de *D. saccharalis* coletadas nos
162 municípios da região centro-oeste do Estado (Jaguari e São Pedro do Sul). O segundo foi
163 formado por quase a totalidade dos insetos de Santo Antônio da Patrulha (indicados como
164 S.A. Patrulha), da região leste do Estado, e o terceiro, abrangendo os demais locais
165 amostrados, incluindo regiões norte e noroeste do RS. Ainda foram verificados dois
166 indivíduos que não apresentaram similaridade a nenhum dos maiores grupos formados, sendo
167 um proveniente dos municípios de Itatiba do Sul e outro de Aratiba, na região norte do RS.

168

169 **Discussão**

170 O gene COI citocromo C oxidase I é relativamente conservado, comumente haplóide,
171 com ausência de introns e de recombinação limitada de modo que seu poliformismo é
172 confiável como marcador genético para variabilidade e para taxonomia (Bermingham et al.,
173 2003; Francischini et al., 2017; Hebert et al., 2003; Lange et al., 2004). Desta forma, os

174 resultados obtidos no BLASTn e a visualização da árvore filogenética permitem assumir que a
175 espécie de broca da cana-de-açúcar no estado do RS é *Diatraea saccharalis*, para todos os
176 locais amostrados com elevada precisão em similaridade e identidade das sequências obtidas
177 (Tabela 2).

178 A variação nos valores de variabilidade intra-populacional (Shannon) reforçam a
179 dissimilaridade observada entre os grupos formados, a partir das análises filogenéticas, uma
180 vez que os indivíduos dos municípios de Jaguari e São Pedro do Sul apresentaram elevados
181 valores do índice de Shannon em relação aos demais locais (exceto Itatiba do Sul), o que é
182 relevante ao considerar a abrangência espacial que cada grupo representa (Fig. 2). Os
183 resultados vão de encontro ao verificado por Silva-Brandão et al. (2015a) que, em trabalho
184 com a análise da diversidade genética de populações de *D. saccharalis* no Brasil, ressaltaram
185 a indicação de variabilidade genética dentro da espécie para algumas regiões,
186 independentemente da baixa quantidade amostral do estudo, sugerindo investigação mais
187 detalhada. Isso foi verificado na dissimilaridade significativa de *D. saccharalis* em trabalho
188 envolvendo populações do estado do Paraná e um município de São Paulo (Lopes et al.,
189 2014).

190 As causas da dissimilaridade observada podem variar de acordo com as regiões do
191 Estado, com possível influência de outras culturas hospedeiras do inseto como “corredor”
192 para o fluxo gênico, uma vez que para *D. saccharalis* não existe associação da variabilidade
193 genética de populações com os hospedeiros, conforme verificado entre populações de milho e
194 cana-de-açúcar (Silva-Brandão et al., 2015a). Para o grupo 1 (Jaguari e São Pedro do Sul) a
195 dissimilaridade pode ter ocorrido ou ainda ocorrer a partir de introduções externas de
196 indivíduos oriundos de zonas de fronteira, uma vez que a região está entre as maiores áreas de
197 produção de arroz do Estado o qual é hospedeiro de *D. saccharalis* (Correa et al., 2018; Lv et
198 al., 2015). Além disso, a origem de *D. saccharallis* é atribuída a regiões de áreas alagadas da

199 Amazônia, entre Venezuela e Brasil, com associação a poaceas nativas (Myers, 1932; 1935),
200 o que também é verificado em áreas vizinhas de produção de arroz para regiões subtropicais
201 (Beuzelin et al., 2011). Esse fato permite inferir a existência de hospedeiros nativos na região,
202 apesar de não haverem estudos específicos em plantas não cultivadas para o sul do Brasil e de
203 genética de populações de *D. saccharalis* no Uruguai e Argentina (Fogliata et al., 2016).
204 Assim, para esses locais o cenário pode ser similar ao observado no sul dos Estados Unidos,
205 onde duas populações são vinculadas a introduções externas, além de um provável biótipo
206 local (Joyce et al., 2014).

207 Para o grupo 2, formado com insetos coletados em Santo Antônio da Patrulha, a
208 dissimilaridade pode estar associada a combinação da localização geográfica e aos ciclos
209 produtivos da cana-de-açúcar em nível local. Atribui-se a região desse município como um
210 dos primeiros locais do RS receber e produzir cana-de-açúcar em larga escala, com grande
211 representatividade no Estado em determinados períodos entre as décadas de 60 e 90 (Barroso,
212 2006). Porém a localização próxima a faixa litorânea e a proximidades com grandes faixas
213 urbanas e a regiões do Estado tradicionalmente vinculados a produção de frutíferas, pode ter
214 limitado a troca de material genético da população inicial. Tal processo pode ter direcionado a
215 dissimilaridade verificada, uma vez que o isolamento geográfico tem um grande impacto nas
216 populações de insetos, conforme evidenciado para outros lepidópteros no Brasil, como
217 *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae) (Silva-Brandão et al., 2015b).
218 Francischini *et al.* (2017) sugerem que um número reduzido de insetos de *D. saccharalis*
219 iniciaram o processo adaptativo a cana-de-açúcar, o que pode refletir na diversidade genética
220 envolvendo áreas isoladas com produção a vários anos.

221 O terceiro grupo formado pelos demais locais do Estado parece manter o fluxo gênico,
222 independentemente da distância, e provavelmente envolve populações da praga que ocorrem
223 em áreas de milho (*Zea mays* L.), para qual grande área de produção no Estado está na faixa

224 de abrangência dos municípios indicados, com população de *D. saccharalis* já foi registrada,
225 na região de Passo Fundo (Silva-Brandão et al., 2015). Estudos complementares podem
226 ajudar a explicar a dimensão do nível de dissimilaridade em termos bioecológicos, e assim
227 definir com maior precisão o impacto das diferenças entre os grupos, como o realizado com
228 populações de *D. saccharalis* de diferentes regiões da Argentina que apresentaram
229 incompatibilidade reprodutiva em cruzamentos induzidos (Fogliata et al., 2016). Ainda,
230 trabalhos complementares envolvendo a dissimilaridade com os dados obtidos no presente
231 estudo e os indivíduos coletados em áreas de milho e arroz de diferentes regiões do Estado
232 podem confirmar a dissimilaridade aqui verificada e a provável abrangência ou isolamento do
233 fluxo gênico entre os grupos formados. Desta forma, essas informações podem agregar na
234 indicação ou seleção de genótipos de culturas agrícolas suscetíveis a praga, de acordo com a
235 abrangência dos grupos, visando reduzir os riscos de quebra de resistência pela praga. O
236 mesmo raciocínio é válido para a aplicação de demais táticas de controle recomendadas para a
237 praga como o uso de inimigos naturais, inseticidas e possibilitar que haja fluxo gênico de *D.*
238 *saccharalis* em cultivos Bt (Broglia-Micheletti et al., 2007; Dinardo-Miranda et al., 2014;
239 Francischini et al., 2017).

240 **Referências**

- 241 Barrera, G.P., Villamizar, L.F., Espinel, C., Quintero, E.M., Belaich, M.N., Toloza, D.L.,
242 Ghiringhelli, P.D., Vargas, G., 2017. Identification of *Diatraea* spp. (Lepidoptera:
243 Crambidae) based on cytochrome oxidase II. PLoS One 12.
244 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184053>
- 245 Barroso, V.L.M., 2006. Moendas caladas: Açúcar Gaúcho S.A. – AGASA: um projeto
246 popular silenciado: Santo Antônio da Patrulha e litoral norte do Rio Grande do Sul
247 (1957-1990) Porto Alegre: PUCRS.
- 248 Bermingham, E., Saunders, N.C., Avise, J.C., Ball, R.M., Arnold, J., Reeb, C.A., Neigel, J.E.,
249 Lamb, T., 2003. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial dna bridge between
250 population genetics and systematics. Annu. Rev. Ecol. Syst. 18, 489–522.
251 <https://doi.org/10.1146/annurev.es.18.110187.002421>
- 252 Beuzelin, J.M., Mészáros, A., Reagan, T.E., Wilson, L.T., Way, M.O., Blouin, D.C., Showler,
253 A.T., 2011. Seasonal infestations of two stem borers (Lepidoptera: Crambidae) in
254 noncrop grasses of gulf coast rice agroecosystems. Environ. Entomol. 40, 1036–1050.
255 <https://doi.org/10.1603/EN11044>
- 256 Broglio-Micheletti, S.M.F., Pereira-Barros, J.L., Santos, A.J.N., Carvalho, L.W.T., Carvalho,
257 L.H.T., Oliveira, C.J.T., 2007. Effect of the number of *Trichogramma galloi* Zucchi,
258 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) adults released by successive weeks, to control
259 *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae). Cienc. & Agrotec. 31,
260 53–58. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542007000100008>
- 261 Capella-Gutiérrez, S., Silla-Martínez, J.M., Gabaldón, T. 2009. trimAl: a tool for automated
262 alignment trimming in large-scale phylogenetic analyses. Bioinformatics. 25, 1972–1973.
263 Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19505945>. Accessed August 25,
264 2017.

- 265 Correa, F., Silva, C.L.T., Pelosi, A.P., Almeida, A.C.S., Heinrichs, E.A., Barrigossi, J.A.F.,
266 Jesus, F.G., 2018. Resistance in 27 rice cultivars to sugarcane borer (Lepidoptera:
267 Crambidae). *J. Econ. Entomol.* 111, 422–427. <https://doi.org/10.1093/jee/tox291>
- 268 Cortés, A.M.P., Zarbin, P.H.G., Takiya, D.M., Bento, J.M.S., Guidolin, A.S., Consoli, F.L.,
269 2010. Geographic variation of sex pheromone and mitochondrial DNA in *Diatraea*
270 *saccharalis* (Fab., 1794) (Lepidoptera: Crambidae). *J. Insect Physiol.* 56, 1624–1630.
271 <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2010.06.005>
- 272 Dinardo-Miranda, L.L., Costa, V.P., Fracasso, J. V., Perecin, D., Oliveira, M.C., Izeppi, T.S.,
273 Lopes, D.O.P., 2014. Resistance of sugarcane cultivars to *Mahanarva fimbriolata* (Stål)
274 (Hemiptera: Cercopidae). *Neotrop. Entomol.* 43, 90–95. [https://doi.org/10.1007/s13744-](https://doi.org/10.1007/s13744-013-0182-9)
275 [013-0182-9](https://doi.org/10.1007/s13744-013-0182-9)
- 276 Doyle J. J.; Doyle J. L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, Rockville, v.
277 12, p. 13–15.
- 278 Edgar, R.C., 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high
279 throughput. *Nucleic Acids Research.* 32, 1792–1797. Available at:
280 <http://nar.oxfordjournals.org/content/32/5/1792.full>. Accessed July 11, 2014.
- 281 Ferreira, C.A. da S., Santana, M.V., Santos, J.B., Santos, T.T.M., Lôbo, L.M., Fernandes,
282 P.M., 2018. Yield and technological quality of sugarcane cultivars under infestation of
283 *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794). *Arq. Inst. Biol.* 85, 1–7. [https://doi.org/10.1590/1808](https://doi.org/10.1590/1808-1657000042017)
284 [-1657000042017](https://doi.org/10.1590/1808-1657000042017)
- 285 Fogliata, S.V., Vera, A., Gastaminza, G., Cuenya, M.I., Zucchi, M.I., Willink, E., Castagnaro,
286 A.P., Murúa, M.G., 2016. Reproductive isolation between two populations of *Diatraea*
287 *saccharalis* (F.) (Lepidoptera: Crambidae) from different host plant species and regions
288 in Argentina. *Bull. Entomol. Res.* 106, 591–597.
289 <https://doi.org/10.1017/S0007485316000249>

- 290 Francischini, F.J.B., Campos, J.B., Alves-Pereira, A., Gomes Viana, J.P., Grinter, C.C.,
291 Clough, S.J., Zucchi, M.I., 2017. Morphological and molecular characterization of
292 Brazilian populations of *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera:
293 Crambidae) and the evolutionary relationship among species of *Diatraea* Guilding. PLoS
294 One 12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186266>
- 295 Guindon, S., Delsuc, F., Dufayard, J.F., Gascuel, O., 2009. Estimating maximum likelihood
296 phylogenies with PhyML. *Methods in Molecular Biology*. 2, 113–137. Available at:
297 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19378142>. Accessed April 9, 2019.
- 298 Hajibabaei, M., Janzen, D.H., Burns, J.M., Hallwachs, W., Hebert, P.D.N., 2006. DNA
299 barcodes distinguish species of tropical Lepidoptera. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 103, 968–71.
300 <https://doi.org/10.1073/pnas.0510466103>
- 301 Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L., DeWaard, J.R., 2003. Biological identifications
302 through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 270, 313–321.
303 <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>
- 304 Joyce, A.L., Chicas, M.S., Cervantes, L.S., Paniagua, M., Scheffer, S.J., Solis, M.A., 2016.
305 Host-plant associated genetic divergence of two *Diatraea* spp. (Lepidoptera: Crambidae)
306 stemborers on novel crop plants. *Ecol. Evol.* 6, 8632–8644.
307 <https://doi.org/10.1002/ece3.2541>
- 308 Joyce, A.L., White, W.H., Nuessly, G.S., Solis, M.A., Scheffer, S.J., Lewis, M.L., Medina,
309 R.F., 2014. Geographic population structure of the sugarcane borer, *Diatraea*
310 *saccharalis* (F.) (Lepidoptera: Crambidae), in the southern United States. PLoS One 9.
311 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110036>
- 312 Lange, C.L., Scott, K.D., Graham, G.C., Sallam, M.N., Allsopp, P.G., 2004. Sugarcane moth
313 borers (Lepidoptera: Noctuidae and Pyraloidea): phylogenetics constructed using COII
314 and 16S mitochondrial partial gene sequences. *Bull. Entomol. Res.* 94, 457–464.

- 315 <https://doi.org/10.1079/BER2004320>
- 316 Letunic, I., Bork, P. 2016. Interactive tree of life (iTOL) v3: an online tool for the display and
317 annotation of phylogenetic and other trees. *Nucleic Acids Res.* 44, 242–245. Available at:
318 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27095192>. Accessed August 25, 2017.
- 319 Lopes, D.A., Cantagalli, L.B., Stuchi, A.L.P.B., Mangolin, C.A., Ruvolo-Takasusuki, M.C.C.,
320 2014. Population genetics of the sugarcane borer *Diatraea saccharalis* (Fabr.)
321 (Lepidoptera: Crambidae). *Acta Sci. Agron.* 36, 189–194.
322 <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v36i2.16211>
- 323 Lv, J., Wilson, L.T., Longnecker, M.T., 2015. Tolerance and compensatory response of rice to
324 sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) Injury. *Environ. Entomol.* 37, 796–807.
325 <https://doi.org/10.1093/ee/37.3.796>
- 326 Milligan, S.B., Balzarini, M., White, W.H., 2003. Broad-sense heritabilities, genetic
327 correlations, and selection indices for sugarcane borer resistance and their relation to
328 yield loss. *Crop Sci.* 43, 1729–1735. <https://doi.org/10.2135/cropsci2003.1729>
- 329 Morgulis, A., Coulouris, G., Raytselis, Y., Madden, T.L., Agarwala, R., Schäffer, A.A., 2008.
330 Database indexing for production MegaBLAST searches. *Bioinformatics* 24, 1757–1764.
331 <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn322>
- 332 Myers, J.G. 1932. The original habitat and hosts of three major sugarcane pests of tropical
333 America (*Diatraea*, *Castnia* and *Tomaspis*). Imperial Institute of Entomology and
334 Imperial College of Tropical Agriculture.
- 335 Myers, J.G. 1935. The ecological distribution of some south american grass and sugar-cane
336 borers (*Diatraea* spp. Lep. Pyralidae). Imperial Institute of Entomology and Imperial
337 College of Tropical Agriculture.

- 338 Parra, J.R.P.; Mishfeldt, L.J., 1992. Comparison of artificial diets for rearing the sugarcane
339 borer, In: Anderson, T.E.; Leppla, N.C. (eds.), *Advances in Insect Rearing for*
340 *Research and Pest Management*. Westview Press, Boulder, CO, p. 195-209.
- 341 Pashley, D.P., Hardy, T.N., Hammond, A.M., Mihm, J.A., 2015. Genetic evidence for sibling
342 species within the sugarcane borer (Lepidoptera: Pyralidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 83,
343 1048–1053. <https://doi.org/10.1093/aesa/83.6.1048>
- 344 Rice, P., Longden, I., Bleasby, A. 2000. EMBOSS: the European molecular biology open
345 software suite. *Trends in Genetics.* 16, 276–277. Available at:
346 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10827456>. Accessed May 4, 2014.
- 347 Silva-Brandão, K.L., Santos, T. V., Cônsoli, F.L., Omoto, C., 2015a. Genetic diversity and
348 structure of brazilian populations of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae):
349 Implications for pest management. *J. Econ. Entomol.* 108, 307–316.
350 <https://doi.org/10.1093/jee/tou040>
- 351 Silva-Brandão, K.L., Silva, O.A.B.N., Brandão, M.M., Omoto, C., Sperling, F.A.H., 2015b.
352 Genotyping-by-sequencing approach indicates geographic distance as the main factor
353 affecting genetic structure and gene flow in Brazilian populations of *Grapholita molesta*
354 (Lepidoptera, Tortricidae). *Evol. Appl.* 8, 476–485. <https://doi.org/10.1111/eva.12257>
- 355 Solis, M.A., Metz, M.A., Scheffer, S.J., Lewis, M.L., Kula, R.R., Springer, T.L., 2015. A new
356 cryptic species of *Diatraea* (Lepidoptera: Crambidae: Crambinae) feeding on eastern
357 gama grass and a novel host association with a braconid (Hymenoptera) in the United
358 States. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 108, 648–659. <https://doi.org/10.1093/aesa/sav049>
- 359 Vargas, G., Gómez, L.A., Michaud, J.P., 2015. Sugarcane stem borers of the colombian cauca
360 river valley: current pest status, biology, and control. *Florida Entomol.* 98, 728–735.
361 <https://doi.org/10.1653/024.098.0249>
- 362 Vilela, M., Santos, A.J.N., Simeone, M.L.F., Parrella, R.A. C., Silva, D.D., Pereira, D.F.,

- 363 Okumura, F., Schaffert, R.E., Mendes, S.M., 2017. Influence of *Diatraea saccharalis*
364 (Lepidoptera: Crambidae) infestation on sweet sorghum productivity and juice quality.
365 African J. Agric. Res. 12, 2877–2885. <https://doi.org/10.5897/AJAR2017.12431>
- 366 Waquil, J.M., Rodrigues, J.A.S., Santos, F.G., Ferreira, A.S., Vilella, F.M.F., Foster, J.E.,
367 2001. Resistance of commercial hybrids and lines of sorghum, *Sorghum bicolor* (L.)
368 Moench., to *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Pyralidae). Neotrop. Entomol.
369 30, 661–668. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2001000400022>
- 370

371 **Tabela I.** Locais de coleta de *Diatraea saccharalis* com as coordenadas geográficas e o
 372 número de indivíduos (*n*) utilizados para extração de DNA. Rio Grande do Sul, Brasil.
 373

| Local | Latitude | Longitude | <i>n</i> |
|---------------------------|-----------|------------|----------|
| Aratiba | 27°21'42" | 52°14'12" | 8 |
| Campinas das Missões | 28°00'35" | 54°44'15" | 13 |
| Erval Seco | 27°31'28" | 53°29'11" | 10 |
| Itatiba do Sul | 27°13'33" | 52°26'18" | 10 |
| Jaguari | 29°28'02" | 54°44'05" | 12 |
| Roque Gonzales | 27°57'55" | 55°14' 02" | 9 |
| Santo Antônio da Patrulha | 29°47'12" | 50°38'11" | 12 |
| São Pedro do Sul | 29°36'19" | 54°14'07" | 9 |
| Teutônia | 29°27'01" | 51°49' 04" | 10 |

374

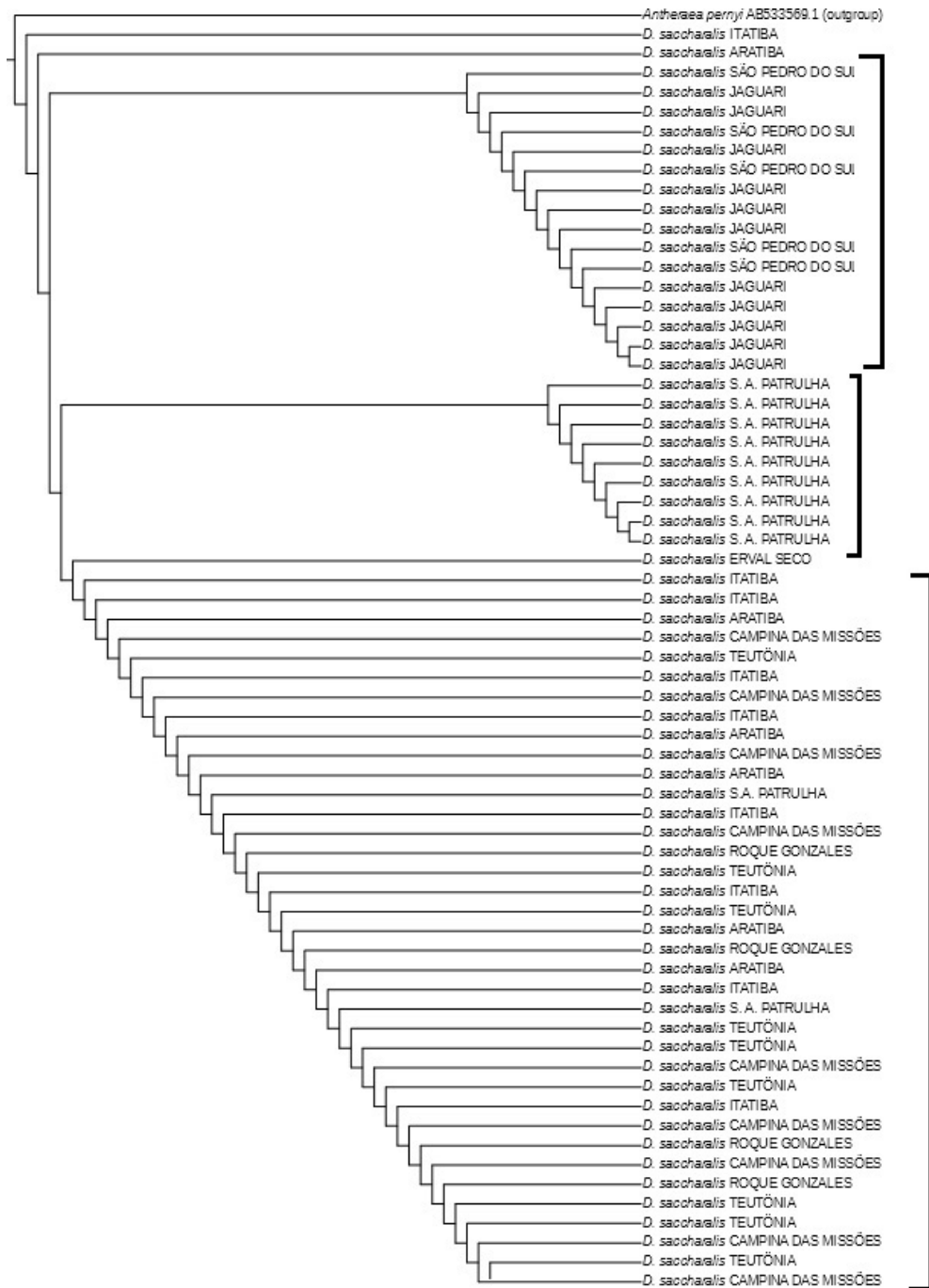
375

376 **Tabela II.** Número de insetos de *Diatraea saccharalis* sequenciados (*n*), similaridade (%),
 377 identidade (%), tamanho dos fragmentos, de acordo com a plataforma BLASTn, e valores de
 378 Shannon (entropia) para diferentes locais de coletas no Rio Grande do Sul.
 379

| Local | <i>n</i> | Similaridade (%) | Identidade (%) | Tamanho | Shannon |
|---------------------------|----------|------------------|----------------|---------|---------|
| Aratiba | 6 | 93,4 | 94,7 | >200 | 0,030 |
| Campina das Missões | 9 | 94,1 | 95,2 | >200 | 0,002 |
| Erval Seco | 1 | 95,0 | 95,3 | >200 | - |
| Itatiba do Sul | 9 | 94,9 | 95,2 | >200 | 0,037 |
| Jaguari | 11 | 94,5 | 95,1 | >200 | 0,096 |
| Roque Gonzales | 4 | 95,4 | 97,5 | >200 | -* |
| Santo Antônio da Patrulha | 10 | 96,1 | 96,9 | >200 | 0,013 |
| São Pedro do Sul | 5 | 93,6 | 95,5 | >200 | 0,031 |
| Teutônia | 9 | 93,9 | 96,6 | >200 | 0,003 |

380 * não calculado.

381



382
383
384
385
386

Fig. 1. Árvore filogenética de citocromo C oxidase subunidade I (COI) de 64 indivíduos de *Diatraea saccharalis* oriundos de diferentes locais do Rio Grande do Sul.

387
388
389
390
391
392
393
394
395
396
397
398
399
400
401
402
403
404
405
406
407
408
409
410
411
412
413
414
415

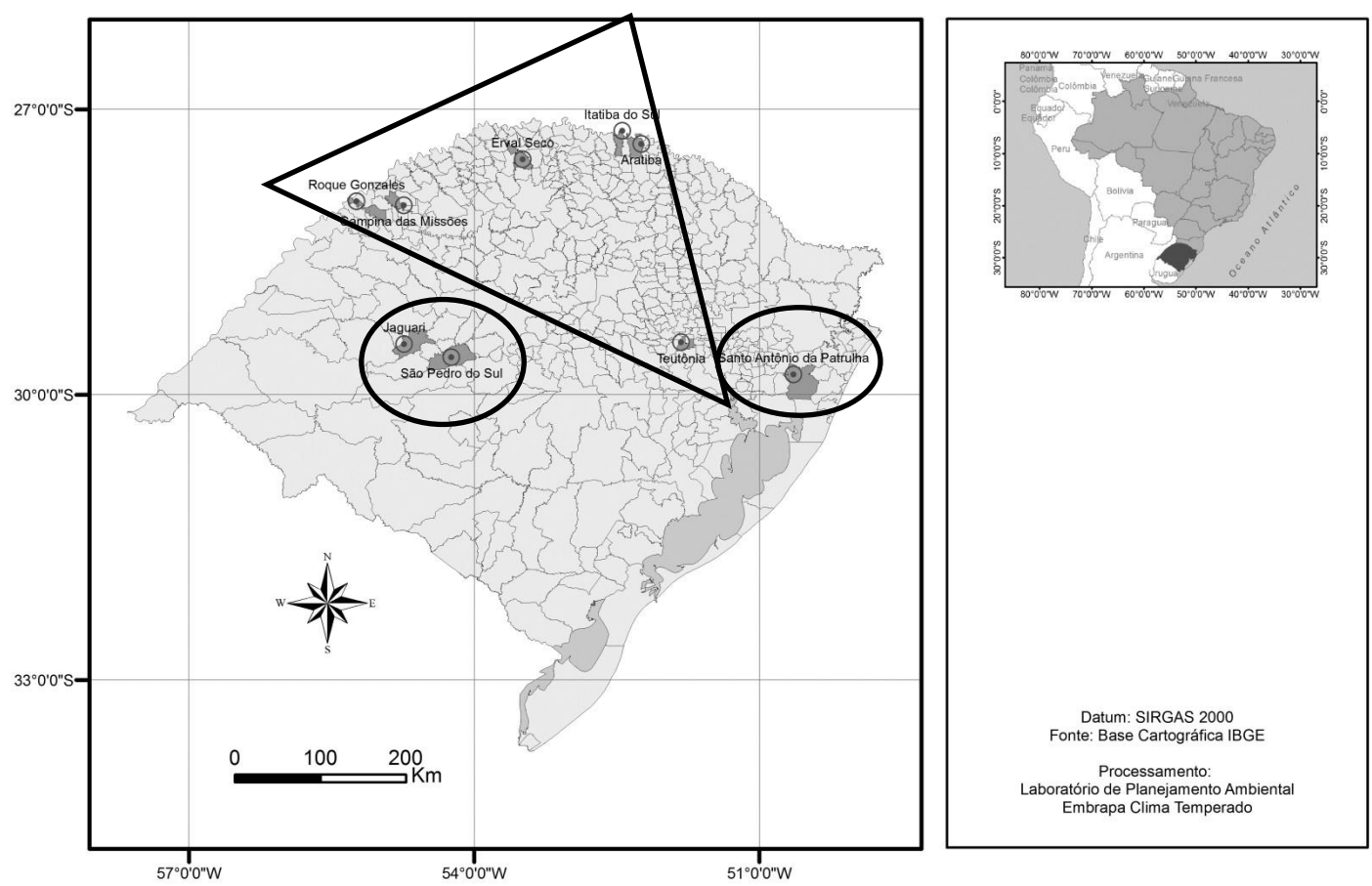


Fig. 2. Abrangência geográfica das principais populações de *Diatraea saccharalis*, a partir das análises filogenéticas de insetos coletados em diferentes locais do Rio Grande do Sul.

Anexo 1

Protocolo de extração de DNA

Adaptado de Doyle & Doyle (1990)

- 1) Ligar banho maria e aquecer solução a 65°C;
- 2) Triturar/macerar a amostra em cadinho e adicionar 900uL de tampão X20 + 10% de mercapto, previamente aquecido e na capela (usar becker com água do banho maria para manter a solução aquecida);
- 3) Colocar a amostra imediatamente em banho-maria a 60°C por 45min;
- 4) Preparar solução 24:1 de clorofórmio (24 mL) + álcool isoamilico (1mL)
- 5) Deixe esfriar as amostras e após colocar igual volume (900uL) de clorofórmio/álcool isoamílico (24:1) e agitar para formar uma mistura homogênea;
- 6) Centrifugar a amostra em temperatura ambiente a 13.000 rpm durante 12 min à 4°C;
- 7) Ao retirar da centrifuga, depois de separar as fases de densidade distintas, recuperar a fase sobrenadante (+/- 500uL) para um novo tubo de eppendorf;
- 8) Adicionar igual volume (500 uL) do sobrenadante de etanol 100% gelado (-20°C).
- 9) Deixar no freezer por 2 horas a -20°C;
- 10) Retirar e centrifugar a 13.000 rpm por 12 min a 4°C para formar o pellet;
- 11) Verter com cuidado o líquido e adicionar 500ul de etanol a 70%, deixando parado por 20min (duas vezes);
- 12) Verter o sobrenadante, cuidando para não perder o pellet e deixar secar a temperatura ambiente na capela com exaustor ligado;
- 13) Adicionar por Ependorf 50 mL de solução TE pH 8,0 + RNase e após o pellet estar diluído.
Obs: A solução é 0,5mL de Rnase para 1mL de TE.
- 14) Acondicionar a solução com pellet diluído em freezer.

Conclusões Gerais

- Dentre mudas de genótipos de ciclo precoce, RB965902 e RB966928 foram as menos preferidas por *D. saccharalis* para oviposição.
- Dentre mudas de genótipos de ciclo tardio, a oviposição de *D. saccharalis* foi menor em RB987935.
- Em mistura de genótipos de ciclos precoces e tardios, o menos preferido por *D. saccharalis* para oviposição foi RB965902, entre mudas; enquanto para plantas adultas foi RB925345.
- O maior número de posturas e de ovos foi observado em folhas expandidas na superfície abaxial e em folhas não expandidas, tanto para mudas quanto para plantas adultas.
- As posturas classificadas como pequenas e médias ocorreram com maior frequência, enquanto que o maior número de ovos foi oriundo de posturas médias e grandes.
- Verificou-se variabilidade na reposta dos genótipos de cana-de-açúcar recomendados para condições subtropicais, em relação aos danos ocasionados por *D. saccharalis*.
- Os genótipos apresentam diferente resistência aos danos de *D. saccharalis*, com melhores desempenhos de RB867515 e RB935744, quanto ao rendimento de colmos.
- Os genótipos RB965902 e RB966928 apresentaram menores valores de galerias, índice final de infestação e complexo broca-podridão, apesar de baixo rendimento.
- Sob infestação da broca da cana-de-açúcar, o resultado de rendimento de sólidos solúveis está mais relacionado à diminuição do rendimento de colmos do que de sólidos solúveis totais.

- A análise de componentes principais indica que as variáveis da planta de rendimento de colmos, sólidos solúveis totais, rendimento de sólidos solúveis totais, e as variáveis de dano de índice final de infestação e complexo broca-podridão são adequados para avaliação entre genótipos sob infestação da broca da cana-de-açúcar em condições subtropicais.
- Existe dissimilaridade entre as populações de *D. saccharalis*, que ocorre em todos os locais amostrados no RS, com a formação de três grupos principais.

Referências Gerais

ALBA, J. M. F.; FLORES, C. A. **Zoneamento edáfico da cana-de-açúcar para o estado do Rio Grande Do Sul**. Brasília: Embrapa, 2013. 80p.

ANTUNES, W. R.; SCHÖFFEL, E. R.; SILVA, S. D. DOS A. E; EICHOLZ, E.; HÄRTER, A.; ANTUNES, W. R.; SCHÖFFEL, E. R.; SILVA, S. D. DOS A. E; EICHOLZ, E.; HÄRTER, A. Adaptabilidade e estabilidade fenotípica de clones de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.51, n.2, p.142-148, 2016.

ANTUNES, W. R. ; SCHÖFFEL, E. R.; SILVA, S. D. DOS A. E; HÄRTER, A.; CAMPOS, A. D. S. DE; MONTERO, C. R. S. Productive performance of early sugarcane genotypes in Rio Grande do Sul state, Brazil. **Scientia Agraria**, v.18, n.2, p.136-142, 2017.

BARCELOS, L. M.; ROSA, A. P. A.; EMYGDIO, B. M.; VALGAS, R. A.; FARIA, I. C. Resistance of saccharine sorghum cultivars to Sugarcane Borer *Diatraea saccharalis*. **Journal of Agricultural Science**, v.10, n.9, p.364-372, 2018.

BORTOLI, S. A.; DÓRIA, H. O. S.; ALBERGARIA, N. M. M. S.; BOTTI, M. V. Aspectos biológicos e dano de *Diatraea saccharalis* (F abr., 1794) (Lepidoptera: Pyralidae) em sorgo cultivado sob diferentes doses de nitrogênio e potássio. **Ciência e Agrotecnologia**, v.29, n.2, p.267-272, 2005.

BRASIL. Câmara dos Deputados. **Lei nº 11.947**, de 16 de junho de 2009. Dispõe sobre o atendimento da alimentação escolar e do Programa Dinheiro Direto na Escola aos alunos da educação básica... Disponível em: <<http://www2.camara.leg.br/legin/fed/lei/2009/lei-11947-16-junho-2009-588910-normaatualizada-pl.html>>. Acesso em: 10 fev. 2019.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 45, de 30 de abril de 2018. Zoneamento agrícola de risco climático para a cultura de cana-de-açúcar, em regime de sequeiro, no Estado do Rio Grande do Sul. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, v.63, p.104–110, 2018.

CHEAVEGATTI-GIANOTTO, A.; ABREU, H. M. C.; ARRUDA, P.; BESPALHOK FILHO, J. C.; BURNQUIST, W. L.; CRESTE, S.; DI CIERO, L.; FERRO, J. A.; FIGUEIRA, A. V. O.; FILGUEIRAS, T. S.; GROSSI-DE-SÁ, M. F.; GUZZO, E. C.; HOFFMANN, H. P.; LANDELL, M. G. A.; MACEDO, N.; MATSUOKA, S.; REINACH,

F. C.; ROMANO, E.; SILVA, W. J. DA; SILVA FILHO, M. C.; ULIAN, E. C. Sugarcane (*Saccharum X officinarum*): A reference study for the regulation of genetically modified cultivars in Brazil. **Tropical Plant Biology**, v.4, n.1, p.62-89, 2011.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira – Cana-de-açúcar, Safra 2018/19**. Brasília: Conab, 2018. 86p.

CORREA, F.; SILVA, C. L. T.; PELOSI, A. P.; ALMEIDA, A. C. S.; HEINRICHS, E. A.; BARRIGOSI, J. A. F.; JESUS, F. G. Resistance in 27 rice cultivars to sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae). **Journal of Economic Entomology**, v.111, n.1, p.422-427, 2018.

DIAS, H. B.; SENTELHAS, P. C. Sugarcane yield gap analysis in Brazil: a multi-model approach for determining magnitudes and causes. **Science of the Total Environment**, v.637-638, p.1127-1136, 2018.

DINARDO-MIRANDA, L. L.; ANJOS, I. A.; COSTA, V. P.; FRACASSO, J. V. Resistance of sugarcane cultivars to *Diatraea saccharalis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.47, n.1, p.1-7, 2012a.

DINARDO-MIRANDA, L. L.; FRACASSO, J. V.; ANJOS, I. A.; GARCIA, J.; COSTA, V. P. Influência da infestação de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) sobre parâmetros tecnológicos da cana-de-açúcar. **Bragantia**, v.7, n.3, p.342-345, 2012b.

FERREIRA, C. A. S.; SANTANA, M. V.; SANTOS, J. B.; SANTOS, T. T. M.; LÔBO, L. M.; FERNANDES, P. M. Yield and technological quality of sugarcane cultivars under infestation of *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794). **Arquivos do Instituto Biológico**, v.85, p.1-7, 2018.

GITAHY, P. D. M.; SOUZA, M. T.; MONNERAT, R. G.; ARRIGONI, E. D. B.; BALDANI, J. I. A Brazilian *Bacillus thuringiensis* strain highly active to sugarcane borer *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Brazilian Journal of Microbiology**, v.38, p.531-537, 2007.

GRIVET, L.; DANIELS, C.; GLASZMANN, J. C.; D'HONT, A. A Review of recent molecular genetics evidence for sugarcane evolution and domestication. **Ethnobotany Research and Applications**, v.2, p.9-17, 2016.

HUFBAUER, R. A.; VIA, S. Evolution of an aphid-parasitoid interaction: variation in resistance to parasitism among aphid populations specialized on different plants. **Evolution**, v.53, p.1435-1445, 2006.

JOYCE, A. L.; CHICAS, M. S.; CERVANTES, L. S.; PANIAGUA, M.; SCHEFFER, S. J.; SOLIS, M. A. Host-plant associated genetic divergence of two *Diatraea* spp. (Lepidoptera: Crambidae) stemborers on novel crop plants. **Ecology and Evolution**, v.6, p.8632-8644, 2016.

JOYCE, A. L.; WHITE, W. H.; NUSSLY, G. S.; SOLIS, M. A.; SCHEFFER, S. J.; LEWIS, M. L.; MEDINA, R. F. Geographic population structure of the sugarcane borer, *Diatraea saccharalis* (F.) (Lepidoptera: Crambidae), in the southern United

States. **PLoS ONE**, v.9, 2014.

LARA, F. M. **Princípios de Resistência de Plantas a Insetos**. 2. ed. São Paulo: Ícone, 1991. 336p.

LIMA, H. M. A.; RODRIGUES, V. M.; DUARTE, A. G.; ARAUJO, J. V.; LOPES, D. O. P.; LIMA, I. S.; DUARTE, A. G.; TEODORO, I. Infestação de *Diatraea* spp. (Lepidoptera: Crambidae) em variedades RB (República do Brasil) de cana-de-açúcar. **Comunicata Scientiae**, v.4, n.4, p.407-413, 2013.

MACEDO, I. C.; SEABRA, J. E. A.; SILVA, J. E. A. R. Green house gases emissions in the production and use of ethanol from sugarcane in Brazil: the 2005/2006 averages and a prediction for 2020. **Biomass and Bioenergy**, v.32, p.582-595, 2008.

MILLIGAN, S. B.; BALZARINI, M.; WHITE, W. H. Broad-sense heritabilities, genetic correlations, and selection indices for sugarcane borer resistance and their relation to yield loss. **Crop Science**, v.43, n.5, p.1729-1735, 2003.

MORAIS, K. P.; MEDEIROS, S. L. P.; E SILVA, S. D. A.; BIONDO, J. C.; BOELTER, J. H.; DIAS, F. S. Produtividade de colmos em clones de cana-de-açúcar. **Revista Ceres**, v.64, n.3, p.291-297, 2017.

MUKHERJEE, S. K. Origin and distribution of SACCHARUM. **Botanical Gazette**, v.119, p.55-61, 1957.

PAINTER, R. H. Insect resistance in crop plants. New York: Macmillan, 1951. 492p.

PIMENTEL, G. V.; BRASILEIRO, B. P.; BARBOSA, M. H. P.; TOMAZ, A. C.; PETERNELLI, L. A. Oviposition preference and larval performance of sugarcane borer in eight sugarcane genotypes. **Ciência e Agrotecnologia**, v.41, n.4, p.439-446, 2017.

PORTELA, G. L. F.; PÁDUA, L. E. D. M.; BRANCO, R. T. P. C.; BARBOSA, O. D. A.; SILVA, P. R. R. Infestação de *DIATRAEA* spp. em diferentes variedades de cana-de-açúcar em União - PI. **Revista Caatinga**, v.24, n.1, p.149-152, 2011.

POSEY, F. R.; WHITE, W. H.; REAY-JONES, F. P. F.; GRAVOIS, K.; SALASSI, M. E.; LEONARD, B. R.; REAGAN, T. E. Sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) management threshold assessment on four sugarcane cultivars. **Journal of Economic Entomology**, v.99, n.3, p.966-971, 2006.

SATHYABHAMA, M.; VISWANATHAN, R.; MALATHI, P.; SUNDAR, A. R. Identification of differentially expressed genes in sugarcane during pathogenesis of *Colletotrichum falcatum* by suppression subtractive hybridization (SSH). **Sugar Tech**, v.18, n.2, p.176-183, 2016.

SILVA, S. D. A.; MONTERO, C. R. S.; SANTOS, R. C.; NAVA, D. E.; GOMES, C. B.; ALMEIDA, I. R (Eds.). **Sistema de Produção da Cana-de-açúcar para o Rio Grande do Sul**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2016. 247p.

SILVA-BRANDÃO, K. L.; SANTOS, T. V.; CÔNSOLI, F. L.; OMOTO, C. Genetic diversity and structure of brazilian populations of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae): Implications for pest management. **Journal of Economic Entomology**, v.108, n.1, p.307-316, 2015.

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

SOUZA, J. R.; JÚNIOR, A. L. B.; PERECIN, D.; COSTA, J. T. DA; RIBEIRO, Z. A. Não preferência para oviposição e alimentação da broca-da-cana por cultivares de cana-de-açúcar. **Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v.60, p.291-295, 2017.

VERISSIMO, M. A. A.; SILVA, S. D. A. E; AIRES, R. F.; DAROS, E.; PANZIERA, W. Adaptabilidade e estabilidade de genótipos precoces de cana-de-açúcar no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.47, n.4, p.561-568, 2012.

VILELA, M.; SANTOS, A. J. N.; SIMEONE, M. L. F.; PARRELLA, R. A. C.; SILVA, D. D.; PEREIRA, D. F.; OKUMURA, F.; SCHAFFERT, R. E.; MENDES, S. M. Influence of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) infestation on sweet sorghum productivity and juice quality. **African Journal of Agricultural Research**, v.12, n.39, p.2877-2885, 2017.

WAQUIL, J. M.; RODRIGUES, J. A. S.; SANTOS, F. G.; FERREIRA, A. S.; VILELLA, F. M. F.; FOSTER, J. E. Resistance of commercial hybrids and lines of sorghum, *Sorghum bicolor* (L.) Moench., to *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Pyralidae). **Neotropical Entomology**, v.30, n.4, p.661-668, 2001.