



UNIVERSIDADE FEDERAL DALAGOAS
Instituto De Química E Biotecnologia
Programa De Pós-Graduação Em Química E Biotecnologia



DEMETRIOS JOSÉ DE ALBUQUERQUE OLIVEIRA

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE ACESSOS DO COMPLEXO
SACCHARUM PARA RESISTÊNCIA A PRAGAS DA ORDEM
LEPDOPTERA.**

Maceió, AL

2021

DEMETRIOS JOSÉ DE ALBUQUERQUE OLIVEIRA

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE ACESSOS DO COMPLEXO
SACCHARUM PARA RESISTÊNCIA A PRAGAS DA ORDEM
LEPDOPTERA**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Química e Biotecnologia

Orientador: Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart
Sant'ana
Co-Orientador: Prof. Dr. Henrique Fonseca
Goulart
Dr. Alessandro Riffel (*in memoriam*)

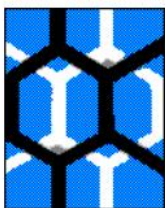
Maceió 2021

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

- O48c Oliveira, Demetrios José de Albuquerque.
Caracterização química de acesso do complexo *Saccharum* para resistência a pragas da ordem lepdoptera/ Demetrios José de Albuquerque Oliveira. – 2021.
208 f. : il., grafs., tabs. color.
- Orientador: Antônio Euzébio Goulart Sant'ana.
Coorientador: Henrique Fonseca Goulart e Alessandro Riffel.
Tese (doutorado em Ciências) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2021.
- Bibliografia: f. 171-208.
1. Metabólitos. 2. Cana-de-açúcar. 3. Herbivoria. 4. Análise multivariada. I.
Título.

CDU: 601.2:577.121



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E
BIOTECNOLOGIA



BR 104 Km14, Campus A. C. Simões
Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins
57072-970, Maceió-AL, Brasil
Fone: (82) 3214-1144
Email: ppgqb.ufal@gmail.com

FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora da Defesa de Tese do Doutorando **Demétrios José de Albuquerque Oliveira** intitulada: “**Caracterização química de acessos do complexo Saccharum para resistência a pragas da ordem Lepidoptera**”, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas no dia 30 de agosto de 2021, às 9h, por meio de videoconferência.

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Santana.
Orientador (PPGQB/IQB/UFAL)

Prof. Dr. Henrique Fonseca Goulart
Coorientador (CECA/UFAL)

Prof. Dr. Felipe Christoff Wouters
(UFSCar)

Luciano A. M. Grillo

Prof. Dr. Luciano Aparecido Meirelles Grillo
(ICF/UFAL)

Prof. Dr. Thiago Mendonça de Aquino
(PPGQB/IQB/UFAL)

Prof. Dr. Francis Soares Gomes
(PPGQB/IQB/UFAL)

Ao meu Pai George Mascarenhas de Oliveira e à minha mãe Maria José de Albuquerque Oliveira, à minha amada esposa Thamires Santos Silva e aos meus irmãos Diego, Denisson, Davi e Mayra por acreditarem no meu sonho, pela compreensão, carinho e por se fazerem presentes em todos os momentos de dificuldade e alegria.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por ter me guiado, me protegido e ter colocado pessoas iluminadas na minha vida. “(Deus é a luz do meu Caminho)”.

Ao Professor Dr. Antônio Euzébio Goulart Santana pela orientação, paciência, oportunidades e ensinamentos imprescindíveis para realização deste trabalho.

Aos Amigos Thyago, Miguel Gutierrez, Natalia, Jaqueline, Regina, Thássia, Isis, Vanderson, Alexandre, Adeildo, Analice, Raisa Rios, Adilson Sabino pelas boas horas de estudo e distração.

A todos os Amigos e colegas do laboratório de Pesquisa em Produtos e Recursos Naturais (LPqRN).

Ao técnico Aldy pela atenção, colaboração e amizade.

A todos os amigos e parentes que sempre acreditaram no meu potencial e ajudaram direta ou indiretamente para a realização desse objetivo.

Dedicatória

Em especial dedico este trabalho ao Dr. Alessandro Riffel (in memorian), meu eterno amigo e Orientador pelas horas de gargalhadas, pelos conselhos, amizade, orientação, paciência, incentivo, oportunidades e ensinamentos imprescindíveis que me guiaram nessa caminhada e foram fundamentais para o meu crescimento intelectual e pessoal e que vou levar até meus últimos dias.

RESUMO

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar e para a safra 2020/2021 essa cultura deve atingir uma produção de 665,105 milhões de toneladas. Um importante fator restritivo para a expressão do potencial dessa cultura no Brasil é o ataque de pragas e doenças sendo a praga mais importante a broca da cana (*Diatraea saccharalis*). O objetivo do presente trabalho foi caracterizar quimicamente acessos do complexo saccharum do banco de germoplasma da EMBRAPA, realizar bioensaios de antibiose e de antixenose em acessos comparando-os com o acesso SP79 1011, susceptível a *Diatraea saccharalis*, adotado como padrão susceptibilidade, identificar os COVs possivelmente responsáveis pelas diferenças observadas no bioensaio de antixenose. Verificar diferenças metabólicas das folhas dos acessos entre as plantas do tratamento controle e entre as plantas do tratamento infestado. Verificar diferenças metabólicas do colmo do acesso SP79 1011 entre os tratamentos controle com o infestado. Os COVs foram analisados utilizando CG/EM e submetidos às análises multivariadas. Os metabólitos solúveis das folhas e do colmo foram analisados utilizando RMN e submetidos a análise estatísticas multivariadas. Foram identificados 12 COVS pertencentes as classes dos terpenos, hidrocarbonetos, álcoois, cetonas e aldeídos. O bioensaio de antixenose mostrou que o acesso IJ76 361 foi menos preferido pela *D. saccharalis* quando comparado a SP79 1011. O acesso IJ76 414 foi mais preferido por *D. saccharalis* quando comparado a SP79 1011. A metabolômica das folhas possibilitou a identificação de diferentes metabólitos solúveis. A comparação IJ76 361 e SP79 1011 revelou que metabólitos como o ácido gálico e ácido clorogênico eram discriminantes para esses dois acessos. A partir da metabolômica do colmo do acesso SP79 1011 dos tratamentos controle e infestado foram identificados diferentes metabólitos como alanina e aceto que eram discriminantes para as plantas analisadas. Desse modo sugerimos que o acesso IJ76 361 pode ser usado por programas de melhoramento genético para obtenção de novas variedade resistentes ao *D. saccharalis*.

Palavras-chave: Metabólitos, Cana-de-Açúcar, Herbivoria, Análise Multivariada

ABSTRACT

Brazil is the world's largest producer of sugarcane and for the 2020/2021 harvest this crop should reach a production of 665.105 million tons. An important restrictive factor for the expression of the potential of this crop in Brazil is the attack of pests and diseases, the most important pest being the sugarcane borer (*Diatraea saccharalis*). The objective of the present work was to chemically characterize accessions of the saccharum complex from the EMBRAPA germplasm bank, to perform antibiosis and antixenosis bioassays in accessions comparing them with the accession SP79 1011, susceptible to *Diatraea saccharalis*, adopted as susceptibility standard, to identify the VOCs possibly responsible for the differences observed in the antixenosis bioassay. Check metabolic differences in the leaves of the accessions between the plants of the control treatment and between the plants of the infested treatment. To verify metabolic differences of the SP79 1011 access stalk between the control and the infested treatments. The VOCs were analyzed using CG/MS and submitted to multivariate analyses. Soluble metabolites from leaves and stem were analyzed using NMR and submitted to multivariate statistical analysis. Twelve VOCs belonging to the classes of terpenes, hydrocarbons, alcohols, ketones and aldehydes were identified. The antixenosis bioassay showed that the IJ76 361 accession was less preferred by *D. saccharalis* when compared to SP79 1011. The IJ76 414 accession was more preferred by *D. saccharalis* when compared to SP79 1011. Leaf metabolomics enabled the identification of different metabolites soluble. Comparison of IJ76 361 and SP79 1011 revealed that metabolites such as gallic acid and chlorogenic acid were discriminating for these two accessions. From the metabolomics of the SP79 1011 accession stalk of the control and infested treatments, different metabolites such as alanine and aceto were identified that were discriminating for the analyzed plants. Thus, we suggest that the IJ76 361 accession can be used by breeding programs to obtain new varieties resistant to *D. saccharalis*.

Keywords: Metabolites, Sugarcane, Herbivory, Multivariate Analysis

Lista de abreviaturas

δ	Deslocamento Químico
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
HMDB	Human Metabolome Data Base
IQB	Instituto de Química e Biotecnologia
MeOD	Metanol Deuterado
MHz	Mega Hertz
mL	Mililitros
PLS-DA	Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais
OPLS-DA	Análise Discriminante Ortogonal por Mínimos Quadrados Parciais
PPM	Partes por milhão
PCA	Análise de Componentes Principais
PC	Componentes Principais
PMDB	Plant Metabolome Data Base
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RMN-1H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RPM	Rotação por minuto
TSP	Ácido TrimetilSililPropiônico
UFAL	Universidade Federal de Alagoas
UV	Única Variância
μ L	Microlitros
COVs	Compostos Orgânicos Voláteis

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1	A cana-de-açúcar	14
2.2	A cana-de-açúcar e sua variabilidade enética	15
2.3	Pragas da cana-de-açúcar.....	16
2.4	<i>Diatraea saccharalis</i>	17
2.5	Manejo integrado de pragas (MIP)	18
2.6	Controle biológico de pragas em cana-de-açúcar	19
2.7	Resistencia de Plantas	20
2.7.1	Antibiose.....	21
2.7.2	Antixenose.....	22
2.7.3	Tolerância.....	25
2.8	Defesa de plantas.....	25
2.8.1	Defesa das plantas contra insetos herbívoros.....	26
2.8.2	Defesas constitutivas e Induzidas diretas e indiretas	27
2.9	Metabólitos primários de plantas	30
2.10	Metabólitos secundários	32
2.11	Compostos orgânicos voláteis de plantas.....	34
2.11.1	COVs terpenóides	36
2.11.2	COVs Fenilpropanóides/Benzenóides	39
2.11.3	COVs Derivados de Ácidos Graxos Voláteis	41
2.11.4	COVs e a preparação das plantas para ataques futuros de herbívoros	41
2.12	Alterações metabólicas em plantas causadas pela herbivoria de Insetos ..	42
2.13	Os elicitores derivados de insetos	42
2.14	Alterações na fotossíntese provocadas pela herbivoria de insetos	44
2.15	A remobilização de carboidratos e nitrogênio nas plantas devido a herbivoria de insetos.....	45
2.16	O processo de domesticação e a influenciar na defesa de plantas contra a herbivoria de insetos.....	46
2.16.1	O processo de domesticação e os COVs de plantas.....	50
2.16.2	O processo de domesticação de plantas e a relação especialização alimentar dos insetos	51

2.17	Metabolômica e a interação planta-inseto	52
2.17.1	Metabolômica em estudos com cana-de-açúcar	53
3	HIPOTESE.....	55
4	JUSTIFICATIVA.....	56
5	OBJETIVOS.....	57
5.1	Objetivo geral.....	57
5.2	Objetivos específicos.....	57
6	MATERIAL E MÉTODOS	57
6.1	Material vegetal, obtenção e manutenção das plantas.....	57
6.2	Avaliação da divergência genética existente entre acessos do BAG por meio de características agrônômicas	59
6.3	Obtenção e manutenção da <i>D. Saccharalis</i>	60
6.4	Metabolômica do colmo da variedade SP 79 1011.....	60
6.5	Bioensaio sem chance de escolha com acessos do BAG para o estabelecimento do intervalo de tempo de avaliação adequado.....	61
6.6	Bioensaio sem chance de escolha com os com intervalo de 10 dias e os 12 acessos do BAG para avaliação da performance larval.....	62
6.7	Bioensaio com chance de escolha (Antixenose)	63
6.8	Coleta dos compostos orgânicos voláteis dos acessos.....	64
6.9	Análises dos compostos orgânicos voláteis (COVs).....	65
6.10	Extração dos metabólitos solúveis do colmo	66
6.11	Análises por Ressonância Magnética Nuclear (RMN), das folhas dos acessos obtidos do bioensaio de antibiose, do extrato do colmo do acesso SP79 1011 e estatística multivariada.....	66
6.12	Análises estatísticas	68
7	RESULTADOS E DISCUÇÃO	70
7.1	Bioensaio de antibiose.....	70
7.2	Bioensaio de antixenose.....	76
7.3	Perfis de COVS dos acessos do tratamento controle	80
7.4	Análise de componentes principais com base nas áreas dos COVs.....	83
7.5	Análise de agrupamento hierárquico	84
7.6	Variação nos níveis dos COVs emitidos.....	93
7.7	Influência dos COVs sobre a preferência de <i>D. sacharalis</i>	96

7.8	Análises multivariada dos dados de RMN de extratos de folhas dos acessos	
	97	
7.9	Análises multivariada dos dados de RMN de extratos de folhas dos acessos do grupo controle	98
7.10	Análise de componentes principais dos extratos da folhas dos acesso do controle.	99
7.11	Análise discriminante por Mínimos Quadrados Parciais PLS-DA dos extratos das folhas dos acesso do controle	101
7.12	Análise de agrupamento hierárquico (HCA)	103
7.13	Perfil metabólico dos extratos de folhas dos acessos do grupo controle..	104
7.14	Análise multivariada de extratos de folhas dos acessos SP79 1011 (C1) e US72 1319 (C4) controles.....	106
7.15	Análise multivariada de extratos de folhas dos acessos SP79 1011 (C1) e IJ 76414 (C8) controles.....	109
7.16	Análise multivariada de extratos de folhas dos acessos SP79 1011 (C1) e IJ 76414 (C9) controles.....	112
7.17	Análise multivariada dos metabólitos dos acessos do tratamento infestado	
	115	
7.18	Análise de componentes principais de extratos das folhas dos acessos do tratamento infestado	116
7.19	Análise discriminante por mínimos quadrados parciais PSL-DA de extratos das folhas dos acessos do tratamento infestado	118
7.20	Análise de agrupamento hierárquico (HCA)	120
7.21	Perfil metabólico dos extratos de folhas dos acessos do grupo infestado	121
7.22	Análise OPLS-DA de extratos de folhas dos acessos SP79 1011 (I1) e US72 1319 (I4).....	122
7.23	Análise OPLS-DA de extratos de folhas dos acessos SP79 1011 (I1) e IJ76 414 (I8).....	125
7.24	Análise OPLS-DA de extratos de folhas dos acessos SP79 1011 (I1) IJ76 361 (I9).....	128
7.25	Análises multivariada dos dados de RMN de extratos do colmo do SP79 1011	
	132	
7.26	Identificação dos metabólitos discriminantes do colmo do acesso SP79 1011 (tratamentos controle e herbivoria)	135

7.27	Metabólitos identificados a partir dos extratos das folhas dos acessos SP79 1011, US 721319, IJ 76414 e IJ 76361 podem contribuir para resistência dessas plantas	138
7.28A	presença de metabólitos específicos no metabolôma dos acessos pode induzir a preferência e o ganho de peso de <i>D. Saccharalis</i> observados a partir dos bioensaios	153
7.29	Possível influência de metabólitos discriminantes obtidos da comparação entre SP79 1011 (I1) e IJ 76361 (I9) nos resultados do bioensaio de antixenose	154
7.30	Possível influência de metabólitos discriminantes obtidos da comparação entre SP79 1011 (C1) e IJ 76361 (C9) nos resultados do bioensaio de antixenose	155
7.31	Possível influência de metabólitos discriminantes obtidos da comparação entre SP79 1011 (C1) e IJ 76414 (C8) e nos resultados do bioensaio de antixenose.....	157
7.32	Possível influência de metabólitos discriminantes obtidos da comparação entre SP79 1011 (I1) e IJ 76414 (I8) nos resultados do bioensaio de antibiose	157
7.33	Metabólitos identificados a partir dos extratos do colmo do acesso SP79 1011 podem contribuir para resistência dessa planta	158
8	CONCLUSÕES.....	170
9	PERSPECTIVAS	171
10	REFERÊNCIAS	171

1 INTRODUÇÃO

Na agricultura atual é essencial a ação conjunta de estratégias que auxiliem na melhoria de práticas de manejo que causem baixa degradação ambiental, diminuam a entrada de fertilizantes exógenos e contribuam para melhoria da fertilidade do solo. Nesse sentido, o aumento da utilização de medidas que auxiliem no controle de pragas e doenças e aumentam a produtividade é uma importante ferramenta para minimizar o uso de práticas prejudiciais ao meio ambiente (JAIN, [s.d.]; PEDRAZA, 2008; PEDRAZA et al., 2009).

As plantas estão sujeitas ao ataque diferentes pragas e com isso terem perdas significativas devido a diminuição na suas produtividades (OERKE, 2006; OLIVEIRA et al., 2014a). A cultura da cana-de-açúcar não está alheia a esta dinâmica e assim, sofre perdas na produtividade devido ao ataque de pragas (DINARDO-MIRANDA; FRACASSO, 2013). Dentre as pragas mais importantes para essa cultura a *Diatraea saccharalis* causa perdas da ordem de 1% na produção de açúcar para cada 1% de entrenó infestado (DE S. ROSSATO JR et al., 2013)

Alguns genótipos de cana-de-açúcar demonstram resistência ao ataque da *Diatraea saccharalis*, porém, não se chegou a uma conclusão a respeito de quais os componentes são responsáveis por essa resistência (DINARDO-MIRANDA et al., 2012a). Trabalhos anteriores demonstraram que o ácido clorogênico produzido pela cana pode alterar o desenvolvimento da *D. saccharalis* (SABINO et al., 2019b). Em outros casos determinou-se transcritos relacionados a defesa em cultivares de cana-de-açúcar resistentes ao ataque da *D. saccharalis* e determinou-se que genes relacionados a biossíntese de terpenóides foram regulados positivamente (DE MELLO et al., 2020).

O entendimento de respostas metabólicas permite um planejamento mais específico e manejo de características selecionadas, visando o desenvolvimento de variedades com maior potencial econômico. Diante do exposto o objetivo do presente trabalho é caracterizar quimicamente acessos quanto a resistência a pragas da ordem Lepidoptera e identificar os metabólitos responsáveis por essa atividade afim de aplicação em Programas de Melhoramento Genético.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é uma cultura cultivada em mais de 100 países (EVANS; STREZOV; EVANS, 2010). No Brasil a safra 2020/2021 essa cultura deve atingir uma produção de 665,105 milhões de toneladas de cana-de-açúcar com um aumento que representa 3,5% em comparação ao total produzido na safra 2019/2020 (CONAB, 2020).

Uma cultivar comercial de cana-de-açúcar necessitará agregar um conjunto de características como: resistência ou tolerância a doenças e pragas, acúmulo elevado de sacarose, tolerância a seca, teor de fibra adequado, capacidade de brotação sobre palhas, uniformidade de colmo, hábito ereto de crescimento, rápido crescimento, tolerância a frio, entre outras. O estudo com diferentes cultivares realizado pelos programas de melhoramento de cana-de-açúcar vem desenvolvendo cultivares com tolerância ao estresse hídrico, maior resistência às pragas e doenças e melhor adaptação à colheita mecanizada (CURSI et al., 2021; DINARDO-MIRANDA et al., 2013).

No Brasil o cultivo da cana-de-açúcar concentra-se na região sudeste e segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), a safra 2019/2020 de cana-de-açúcar foi de 642,7 milhões de toneladas havendo um aumento de 3,6% em comparação com a safra anterior, em que a intensidade na redução de área, em praticamente todos os estados produtores, tem relação direta com a queda de produção. A região Centro-Sul, responsável por quase 92% da produção nacional, alcançou 589 milhões de toneladas de cana-de-açúcar sendo o estado de São Paulo o maior produtor do país com 42,6 milhões de toneladas de cana-de-açúcar. A região Nordeste nessa safra alcançou 52,8 milhões de toneladas sendo responsável por 8% da safra brasileira. O estado de Alagoas continua sendo o maior produtor de cana-de-açúcar na região Nordeste com 17,4 milhões de toneladas (CONAB, 2018).

Um dos grandes desafios na produção da cana-de-açúcar é evitar ou reduzir as perdas na produção, os fatores climáticos e perdas por pragas são os principais agentes causadores de redução na produção da cana-de-açúcar. De acordo com (SRIKANTH; SUBRAMONIAN; PREMACHANDRAN, 2011) as perdas por pragas

chegam a 10% na produção mundial causando prejuízo econômico aos produtores, diminuindo o rendimento na produção da indústria sucroalcooleira. Segundo (OLIVEIRA et al., 2014a).

2.2 A cana-de-açúcar e sua variabilidade genética

A cana-de-açúcar é uma monocotiledônea que pertence à família Poaceae, como arroz, milho, trigo e sorgo e é considerada uma das culturas mais antigas do mundo. É uma cultura originária do Sudeste Asiático, na região da Nova Guiné Indonésia se estendeu para Borneu, Samatra e Índia (MOORE; PATERSON; TEW, 2013). Introduzida no Brasil em 1502, adaptou-se bem ao clima e solo principalmente da região nordeste, a partir de então o plantio da gramínea só cresceu sendo cultivada até os dias atuais.(DE MATOS; SANTOS; EICHLER, 2020).

O gênero *Saccharum* foi primeiramente descrito no livro *Species Plantarum* por Carl Linnaeus (1753). Esse gênero é composto principalmente, pelas espécies *S. officinarum*, *S. spontaneum*, *S. robustum*, *S. sinense*, *S. Barberi*, as quais são consideradas do velho mundo (CHEAVEGATTI-GIANOTTO et al., 2011). No Brasil, inicialmente, foi introduzida a espécie *Saccharum officinarum*, conhecida como cana-nobre, pelo alto teor de açúcar (SCARPARI; BEAUCLAIR, 2008). Com o surgimento de híbridos interespecíficos, tolerantes, e com grande adaptação às diversas condições ambientais, através do melhoramento genético, permitiu-se a consolidação e expansão da cultura pelo mundo (CHEAVEGATTI-GIANOTTO et al., 2011).

S. spontaneum é altamente polimórfica, com estatura de planta variando de pequenas plantas parecidas com gramíneas sem caules a plantas com mais de 5 m de altura com caules longos. As lâminas das folhas variam em largura, desde muito estreitas, restritas principalmente à nervura média, ou até uma largura de 4 cm. As plantas apresentam plasticidade altamente adaptativa e são encontradas em diferentes ambientes que tem contribuído para a melhoria do vigor da cana-de-açúcar, contribuindo com dureza, perfilhamento, e resistência a estresses bióticos (CHEAVEGATTI-GIANOTTO et al., 2011; MOORE; PATERSON; TEW, 2013).

S. robustum é uma cana-de-açúcar silvestre adaptada a amplas condições ambientais. Possui alto teor de fibras e caules vigorosos com 2,0–4,4 cm de diâmetro e até 10 m de altura, mas, como *S. officinarum*, não possui rizomas. Os colmos são

duros e com pouco suco, são pobres em açúcar e têm casca dura, característica que se aproveita para construir sebes (MOORE; PATERSON; TEW, 2013)

A espécie *S. officinarum* ($2n = 80$) não é conhecida no seu estado selvagem. (POMPIDOR et al., 2021). É geralmente conhecido como a cana nobre porque é robusto e produz suco doce abundante. Os colmos são grossos (normalmente com mais de 3,5 cm de diâmetro) e macios devido ao baixo teor de fibras. As avaliações desta espécie mostram lâminas foliares longas e largas (1 m de comprimento x 5 cm de largura) e um sistema radicular relativamente pequeno e raso. *S. officinarum* é altamente exigente em condições climáticas específicas, alta fertilidade do solo e abastecimento de água. Os acessos de *S. officinarum* são geralmente suscetíveis a doenças como mosaico, gomose, queimadura das folhas, podridão da raiz e doença, mas tendem a ser resistentes ao carvão da cana-de-açúcar. A variabilidade dessa espécie contribui com características de interesse agrônomo como vigor, dureza, perfilhamento, capacidade de rebrota de soqueira, resistência a estresse hídrico, salinidade, doenças e pragas (CHEAVEGATTI-GIANOTTO et al., 2011).

A espécie *S. robustum* ($2n = 60, 80$) teve sua origem na Indonésia e Nova Guiné. Essa espécie surgiu a partir da hibridização natural de *S. spontaneum* com outros gêneros *Erianthus*, *Sclerostachya* e *Miscanthus*. A *S. robustum* possui colmos ricos em fibras e pouca sacarose, sendo também suscetível ao vírus do mosaico da cana-de-açúcar (CHEAVEGATTI-GIANOTTO et al., 2011).

2.3 Pragas da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é atacada por diversas pragas e sofre com prejuízos econômicos causados diretamente devido ao ataque do insetos-praga sobre a planta e indiretamente devido a gastos com a aquisição e aplicação de inseticidas químicos e/ou biológicos para o controle desses organismos (OLIVEIRA et al., 2014b).

No Brasil aproximadamente 85 espécies de insetos podem causar danos sendo algumas consideradas pragas importantes, tendo abrangência nacional ou regional (MACEDO et al., 2015). Pragas podem causar sérios danos econômicos para a cultura da cana-de-açúcar chegando a gerar uma perda média anual de 7,7% na produção no Brasil (Oliveira et al., 2014).

Para essa cultura as pragas que mais se destacam são aquelas da ordem lepidóptera na qual a *Diatraea saccharalis* (Fabr. 1794) (lepdopter: Crambidae)

(DINARDO-MIRANDA; FRACASSO; PERECIN, 2011; GALLO et al., 2002) é a mais importante.

2.4 *Diatraea saccharalis*

A *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794) (Lepidoptera: Crambidae); tem como seu centro de origem a região do Delta do rio Orinocos, Venezuela, perto de suas plantas hospedeiras originais densamente povoadas, gramíneas aquáticas e semiaquáticas dos gêneros *Paspalum* e *Echinochloa* (FRANCISCHINI et al., 2019); pode ser encontrada na América do Sul, América Central, Caribe e sul dos EUA, infestando uma variedade de plantas, incluindo cana-de-açúcar, sorgo, milho, trigo, arroz e uma variedade de ervas daninhas, como Johnsongrass (*Sorghum halepense*) (GRIMI et al., 2018). No Brasil a broca *Diatraea saccharalis* (Fabr.) é a principal praga da cana-de-açúcar (DINARDO-MIRANDA; FRACASSO; PERECIN, 2011; SILVA-BRANDÃO et al., 2015).

A fêmea realiza a postura nas folhas da cana com um número de ovos pode variar a cada postura, normalmente de 5 a 50 (GALLO et al., 2002) e que é dependente da maturação e idade da planta (STURZA et al., 2020), mas durante seu ciclo de vida as fêmeas podem colocar cerca de 200 a 600 ovos que possuem formato oval achatado

e coloração que varia de amarelo palha a marrom-escura, além do mais são sensíveis ao ressecamento (GALLO et al., 2002).

Figura 4-*Diatraea saccharalis* em diferentes fases



A) Ovos de *D. saccharalis*; B) cana-de-açúcar infestadas com *D. saccharalis*; C) Larva de *D. saccharalis*. Fonte <http://panorama.cnpms.embrapa.br>.

A depender das condições de temperatura a eclosão pode ocorrer em até 10 dias e as lagartas recém-eclodidas alimentam-se inicialmente do parênquima foliar e posteriormente da bainha (SANDOVAL; SENÔ, 2010).

Em qualquer estágio de desenvolvimento a planta de cana-de-açúcar pode ser alvo das larvas de *D. saccharalis* que a penetrarem no interior do vegetal criam galerias no caule devido ao seu modo de alimentação. A incidência de fungos fitopatogênicos como *Colletotrichum falcatum*, *Fusarium moniliforme* e *Fusarium subglutinans* (GALLO et al., 2002), em decorrência das aberturas deixadas pela entrada da larva pode causar a podridão vermelha e causar redução nos teores de brix, teor aparente de sacarose (POL) e pureza; e aumento dos açúcares redutores e, conseqüentemente, menor açúcar teoricamente recuperável (ATR) (FERREIRA et al., 2018) gerando perdas estimadas que podem chegar a 8,83 e 19,80% por 1% do entrenó perfurado para a primeira e segunda safras, respectivamente, na produção de açúcar. (DE S. ROSSATO et al., 2013).

Para o manejo de áreas infestadas com *D. saccharalis* apesar de o controle químico ainda ser bastante utilizado (SILVA; FUNICHELLO; SOUZA, 2020) o controle biológico, no qual o parasitoide de larvas, *Cotesia flavipes* (Cam.) é o principal componente adotado (Dinardo-Miranda et al., 2014; Parra and Junior, 2019) é o mais recomendável. Além da *C. flavipes* alguns trabalhos mostram que outros métodos de controle vêm sendo recentemente usados (DAQUILA et al., 2021; GEREMIAS; PARRA, 2014; MOLNÁR et al., 2016), como por exemplo o trabalho de (DAQUILA et al., 2021) que mostraram o uso de *Bacillus thuringiensis* (Bacillales: Bacillaceae) em diferentes concentrações foi capaz de reduzir a viabilidade de ovos de *D. saccharalis*, além disso, esses mesmos autores demonstraram que o sistemas digestivos do embriões de *D. saccharalis* foi gravemente danificado, sendo observadas malformações, rupturas e luxações na região cefálica e atrofia e do lúmen intestinal e conseqüentemente morte embrionária (DAQUILA et al., 2021).

Devido aos prejuízos ao meio ambiente causados pelo uso de inseticidas para o controle químico de pragas, o uso combinado de variedades de plantas resistentes com o manejo integrado de pragas (MIP), através da utilização do controle biológico, deve ser preferencialmente adotado como uma estratégia sustentável para o controle de pragas (BARRATT et al., 2018; RAND; RICHMOND; DOUGHERTY, 2020).

2.5 Manejo integrado de pragas (MIP)

O manejo integrado de pragas (MIP) é conceituado como uma 'abordagem' ou 'estratégia' holística para combater pragas de plantas usando todos os métodos

disponíveis, com aplicações mínimas de pesticidas químicos e tem como objetivo manejar pragas mantendo suas populações abaixo de níveis economicamente prejudiciais sem exatamente erradicá-las. Para que seja considerado MIP mais de uma ação de manejo de pragas, como controle biológico, resistência de plantas diversidade botânica inter e intra-específica, deve ser considerada, voláteis sintéticos “biorracionais” os quais incluem os feromônios de insetos e os compostos orgânicos voláteis de plantas (COVs) (STENBERG, 2017).

2.6 Controle biológico de pragas em cana-de-açúcar

Os insetos herbívoros e o homem competem pelos alimentos produzidos na agricultura (OERKE; DEHNE, 2004). Estes insetos são favorecidos pela adoção monoculturas em áreas extensas e causam em perdas em safras como na cana-de-açúcar (Oliveira et al., 2014).

A cana de açúcar é atacada por diversas pragas (MACEDO et al., 2015) sendo a *Diatraea saccharalis* a mais importante e devido suas características endofíticas de desenvolvimento na fase de larva (GALLO et al., 2002) o uso de inseticidas contra *D. saccharalis*, apesar de ser ainda bastante difundido (SILVA; FUNICHELLO; SOUZA, 2020), é ineficiente uma vez que a larva é encontrada dentro da planta (FARIAS et al., 2013; SANDOVAL; SENÔ, 2010). Neste contexto a única opção viável e eficiente para controlar tal praga é o controle biológico (MOLNÁR et al., 2016). No controle biológico a densidade de pragas é reduzida pela liberação de inimigos naturais, principalmente predadores, parasitóides (PARRA, 2014) e fungos entomopatogênicos (SHARMA et al., 2020), como agentes de controle.

O controle biológico vem sendo usado no Brasil Desde 1921 (Parra, 2014). Posteriormente *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae) foi introduzida para o controle de *D. saccharalis* e hoje esse parasitóide é usada em cerca de 3,5 milhões de hectares plantados com cana-de-açúcar para o controle de *D. saccharalis* (Parra & Junior, 2019).

Além da *C. flavipes*, parasitóide de larvas de *D. saccharalis*, outros parasitóide e predadores são usados por programas de controle biológico, por exemplo: *Trichogramma galloi*, parasitóide de ovos de *D. saccharalis* (CAMAROZANO et al., 2021), *Metarhizium anisopliae* para o controle de *Mahanarva fimbriolata* (Parra & Junior, 2019).

A aplicação promissora de *Bacillus thuringiensis* para o controle de pragas da ordem Lepidoptera vem sendo relatada como uma forma de controle biológico aplicado a agricultura (BOUKEDI et al., 2016, 2017) tanto em laboratório (MACEDO et al., 2012) quanto em campo (OVIEDO; GIRALDO, 2018), para o controle de larvas, pupas, e ovos (MOLNÁR et al., 2016; PEREIRA et al., 2015). Daquila et al., (2019) demonstraram que *B. thuringiensis* sorovar Aizawai GC-91 apresentou toxicidade contra larvas de *D. saccharalis* em todas as concentrações testadas após 120 horas de exposição ao entomopatógeno de modo que 100% das larvas foram mortas.

Daquila et al., (2021) estudaram o potencial entomopatogênico de *Bacillus thuringiensis* sorovar Aizawai GC-91 (Bta) sobre a viabilidade dos ovos e desenvolvimento embrionário de *D. saccharalis* demonstrando que as concentrações de 5, 10 e 20 g L⁻¹ de Bta demonstraram a bioatividade mais forte, reduzindo a viabilidade dos ovos de *D. saccharalis* em 28,69%, 33,91% e 34,98%, respectivamente. Os autores ainda observaram que o sistema digestivo dos embriões foi gravemente danificado.

No contexto da cana-de-açúcar diversos trabalhos exemplificam o uso do controle biológico aplicado ao controle de pragas dessa cultura: Barbosa et al., (2019) trabalharam com *Tetrastichus howardi* (Olliff) no controle da *D. saccharalis* para definir o número de parasitóides a serem liberados e a dispersão desses parasitóides em cultivos comerciais de cana-de-açúcar. Esses autores recomendaram que a liberação de *T. howardi* deveria ocorrer em 125 pontos por hectare de cana-de-açúcar a uma taxa de 102 fêmeas por pupa da praga visando obter distribuição homogênea e parasitismo. O trabalho de (NADEEM; HAMED, 2011) mostraram que a liberação de *Trichogramma chilonis* provocou diminuição dos danos causado por *D. saccharalis*. (DA SILVA et al., 2014) testaram a atividade anti-herbivoria do inibidor de tripsina de *Adenantha pavonina* (ApTI) contra larvas de *Diatraea saccharalis* demonstrando diminuição da atividade proteolítica no intestino médio de *D. saccharalis*. Além disso, foi demonstrado também que o desenvolvimento de larvas de *D. saccharalis* foi prejudicado em duas gerações consecutivas (DA SILVA et al., 2014).

2.7 Resistencia de Plantas

A resistência de plantas ocorre devido a mecanismos de defesa que as plantas desenvolveram para combater estresses abióticos e bióticos como o ataque de

insetos pragas (KLIEBENSTEIN, 2018; REJEB; PASTOR; MAUCH-MANI, 2014; ZÜST; AGRAWAL, 2016) e é normalmente definida como a capacidade hereditária das plantas de escapar do ataque aos inimigos, parcial ou totalmente, minimizando assim a quantidade de danos sofridos pela planta (STENBERG; MUOLA, 2017).

As plantas possuem distintos tipos de resistência para combater/compensar os efeitos do ataque de herbívoros denominadas antibiose, antixenose e tolerância. Essa resistência pode afetar o comportamento e/ou a biologia os insetos (SMITH; CLEMENT, 2012a). A planta pode apresentar uma ou mais dos três tipos de resistência que podem atuar de modo combinado (PETERSON; VARELLA; HIGLEY, 2017; STOUT, 2014).

2.7.1 Antibiose

A antibiose é o resultado da ação de metabólitos vegetais nos processos biológicos de insetos herbívoros. Este tipo de resistência se caracteriza por exercer efeitos adversos na fisiologia dos herbívoros quando o inseto se alimenta normalmente da planta, causando assim efeitos diretos sobre a biologia do inseto e alterações no seu crescimento, sobrevivência, fecundidade, mortalidade nas fases iniciais como também redução de peso (PETERSON; VARELLA; HIGLEY, 2017; SMITH; CLEMENT, 2012b; STOUT, 2014).

Diferentes culturas agrícolas apresentam resistência do tipo antibiose (DE CASTRO et al., 2015). Bentivenha et al., (2018) trabalharam com de soja *Glycine max* (L.) uma planta que sofre com ataque do percevejo *Piezodorus guildinii* (Westwood) (Hemiptera: Pentatomidae) uma praga de grande importância por causar a maior perda econômica para essa cultura. Nesse trabalho os autores avaliaram, entre outras características, o desempenho, taxa de mortalidade e a postura de ovos de *P. guildinii*. A partir de seus esses autores então constataram que a soja apresentava resistência do tipo antibiose contra o ataque de *P. guildinii*. Cao et al., (2015) mostraram que plantas de trigo apresentam resistência do tipo antibiose ao afídeo do grão, *Sitobion avenae*. Esses autores sugeriram ainda que a presença desse tipo de resistência nas plantas de trigo avaliadas ocasionava maior tolerância dessas plantas *S. avenae*.

Para (HOLTZ et al., 2010) plantas de eucalipto (*Eucalyptus urophylla*) afetaram *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) um predador usado no

controle de diferentes pragas que atacam essa planta. Com relação a cultura do tomate (DE OLIVEIRA et al., 2018) observaram que *Tetranychus urticae* Koch sofreu efeitos deletérios na sua biologia devido a aumentos no período de incubação dos ovos, na mortalidade total das ninfas além de diminuição da taxa de fecundidade. (CANASSA et al., 2021) demonstraram que a duração média dos estágios de ninfas *Brevicoryne brassicae* (Hemiptera: Aphididae) foram afetadas pelas plantas de couve (*Brassica oleracea*). Além disso, essas plantas causaram maiores taxas de mortalidade como também alterações na duração da fase reprodutiva *B. brassicae*.

Testes de antibiose nos quais foram avaliados taxa de sobrevivência das ninfas, taxa de alimentação, taxa de eclosão de ovos, taxa de crescimento populacional, entre outros parâmetros, demonstraram que em genótipos de arroz apresentaram resistência contra *Sogatella furcifera* Horváth (Hemiptera: Delphacidae) (HAIDER et al., 2021). O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) reduziu o número de adultos emergidos a massa seca consumida e aumentaram o ciclo de vida de *Zabrotes. Subfasciatus* demonstrando resistência do tipo antibiose (JÚNIOR et al., 2021). Para a cultura do maracujá (DA SILVA et al., 2020) observaram que genótipos dessa plantas afetaram negativamente a longevidade e a fecundidade das fêmeas, dos ácaros demonstrando resistência do tipo antibiose contra *Tetranychus mexicanus*. (GOLLA et al., 2018) demonstraram que grão-de-bico (*Cicer arietinum*), exibiu efeitos negativos sobre a sobrevivência e os pesos das larvas de *Helicoverpa armigera* devido à resistência do tipo antibiose contra essa praga.

Trabalhando com 13 genótipos de milho (BUENO et al., 2021) avaliaram a existência de resistência do tipo antibiose nestas plantas contra *Dichelops melacanthus* Dallas (Hemiptera: Pentatomidae) uma praga importante para a cultura do milho. Esses autores demonstraram que o tempo de desenvolvimento de ninfas, taxa de sobrevivência e viabilidade de ninfas (ninfas que conseguiram atingir a idade adulta) foram afetadas negativamente por diferentes genótipos de milho.

2.7.2 Antixenose

Uma planta ou variedade apresenta resistência do tipo não-preferência (antixenose), quando ela é menos utilizada pelo inseto que outra em igualdade de condições para alimentação, oviposição ou abrigo. O termo não-preferência exprime

uma reação comportamental do inseto em relação a planta (PETERSON; VARELLA; HIGLEY, 2017).

Para apresentar resistência do tipo antixenose, é necessário que a planta apresente um fator bioquímico, físico ou biológico que podem afetar negativamente o comportamento da praga (por exemplo, no processo de colonização, oviposição e alimentação).

A antixenose pode se originar de uma série de fatores como: características morfológicas, sendo que o comprimento e densidade dos tricomas uma das principais características (Silva et al. 2014), emissão de compostos químicos voláteis (BOUAGGA et al., 2018) ou ainda devido a presença de compostos não voláteis como ácidos orgânicos (GOLLA et al., 2018) e proteínas antinutricionais (LOUIS et al., 2015). Esse tipo de resistência podem reduzir ou inibir ataques de insetos às plantas (SILVA et al., 2014) interferindo com processos de oviposição (PROFFIT et al., 2011), comportamento alimentar (CANASSA et al., 2017).

A oviposição de insetos pode ser influenciada pela antixenose. Em testes de escolha (bioensaio) para oviposição, observou-se que *Tuta absoluta* preferiram ovipositar significativamente nas cultivares cvs. Santa Clara e Carmen em comparação com a cv. Aromata (resistente à alimentação das larvas). Quando o teste de escolha para oviposição foi efetuado considerando as cultivares *Solanum lycopersicum* em comparação com a espécie selvagem *Solanum habrochaites* observou-se que *Tuta absoluta* preferiu as cultivares do tomateiro (PROFFIT et al., 2011). Ao trabalhar com diferentes genótipos de grão-de-bico (GOLLA et al., 2018) observaram diferenças significativas na oviposição de fêmeas de *Helicoverpa armigera* entre os genótipos testados de modo que alguns genótipos tiveram taxas mais baixas de oviposição em comparação com os controles. Testes de múltipla escolha revelaram que em alguns genótipos de couve (*Brassica oleracea* (L.) var. acephala) *Bemisia tabaci* (Genn.) colocou um menor número médio de ovos indicando que essa cultura apresenta antixenose (DOMINGOS et al., 2018).

A antixenose influencia o comportamento alimentar de insetos. Ao comparar diferentes genótipos de soja (CANASSA et al., 2017) observaram que em relação ao comportamento alimentar de *Piezodorus guildinii* (Hemiptera: Pentatomidae), os genótipos PI 274454 (1,4), PI 274 453 (0,60) e L 1-1-01 (0,90) se destacaram por apresentarem as menores médias de picadas de percevejos, indicando a expressão de antixenose. Esses autores argumentaram ainda que houve uma menor tendência

dos insetos se alimentarem das vagens de PI 274 453 sugerindo maior nível de resistência em comparação com PI 274454) e L 01-0.

Esse tipo de resistência ocorre em diferentes culturas. Em um trabalho com soja (CANASSA et al., 2017) demonstraram que essas plantas apresenta resistência do tipo antixenose contra *Dichelops melacanthus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae). *Helicoverpa armigera* é uma das pragas mais nocivas do grão-de-bico, Cicer arietinum (GOLLA et al., 2018) demonstraram que *H. armigera* pode ser prejudicada devido a presença de resistência do tipo antixenose no grão-de-bico. Pimentão (*Capsicum annuum*) apresentou antixenose contra percevejos mirídeos predadores *Nesidiocoris tenuis* (Reuter), *Macrolophus pygmaeus* (Rambur) (Hemiptera: Miridae) (BOUAGGA et al., 2018).

Com objetivo de investigar os potenciais mecanismos de resistência a *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) (BALDIN; BENEDEZZI, 2010) analisaram plantas de abóbora (*Cucurbita pepo*) e verificaram que essa cultura apresenta antixenose uma vez que foram menos atraentes para *B. tabaci*.

Com relação a cultura do tomate (DE OLIVEIRA et al., 2018) trabalharam com diferentes cultivares dessa planta que apresentam variações no teor de zingibereno foliar (ZGB) e observaram que *Tetranychus urticae* Koch mostrou uma alta preferência por *Solanum lycopersicum* (cv. Redenção) e o genótipo RVTZ-09 (baixo teor de zingibereno foliar (ZGB)), enquanto os acessos selvagens PI-177826. PI-177826, com alto teor de ZGB, foram menos preferidos.

Em um trabalho com soja (CANASSA et al., 2017) demonstrou que essa plantas apresenta resistência do tipo antixenose contra *Dichelops melacanthus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae). Após avaliar a existência de antixenose em 36 genótipos de melão (SHOOROOEI et al., 2013) demonstraram que as plantas duas dos quatro acessos resistentes avaliados apresentaram resistência antixenótica ao ácaro rajado (*Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae).

As plantas podem apresentar resistência do tipo antixenose devido à presença de fatores morfológicos e / ou compostos químicos (BOUAGGA et al., 2018). Como mistura de COVs de plantas não danificadas pode variar de acordo com o genótipo das plantas e os insetos podem usar esses COVs para distinguir os hospedeiros mais adequados. Schröder et al., (2015) em trabalho com diferentes culturas sendo três cultivares de milho (*Zea mays* L. (Poaceae)), três de batata (*Solanum tuberosum* L. (Solanaceae)), e três de trigo (*Triticum aestivum* L. (Poaceae)) verificaram que

Rhopalosiphum padi foi atraído pelos voláteis emitidos pela cultivar de milho 6Q-121 e os COVs das outras oito cultivares restantes não atraíram ou repeliram *R. padi*. (BUENO et al., 2021) ao trabalhar com desesseis genótipos de milho sugeriram que a existência de resistência do tipo antixenose em plantas nessas contra *Dichelops melacanthus* Dallas (*Hemiptera: Pentatomidae*) se devia a influência de diferentes COVs emitido pelos genótipos, porém os autores não confirmaram essa sugestão (BUENO et al., 2021).

A análise não direcionada dos voláteis emitidos por plantas de pimentão proporcionou a identificação de 14 compostos emitidos diferencialmente entre plantas perfuradas com mirid e intacta. Além disso, todos os compostos identificados apresentaram emissão significativamente aumentada em plantas atacadas por *Nesidiocoris tenuis* (Reuter), *Macrolophus pygmaeus* (Rambur) quando comparados com plantas intactas e essa liberação de VOCs pelo pimentão perfurado repeliu *Frankliniella occidentalis* e *Bemisia tabaci* (BOUAGGA et al., 2018).

2.7.3 Tolerância

Na resistência do tipo tolerância a planta deve ter a capacidade de resistir ou se recuperar de um ataque de uma dada praga sem afetar o comportamento ou a biologia do inseto. Além disso, para apresentar esse tipo de resistência, a planta deve sofrer menos danos do que outras sob o mesmo nível de infestação de insetos (SMITH; CLEMENT, 2012a). Em situações agronômicas, variedades de culturas tolerantes são capazes de resistir a danos e produzir rendimentos aceitáveis (PETERSON; VARELLA; HIGLEY, 2017).

2.8 Defesa de plantas

Para se defender de alguma ameaça, seja biótica ou abiótica, as plantas desenvolveram diferentes mecanismos. Organismos sseses como as plantas necessitam da do desenvolvimento de parcerias com outros organismos, como os insetos predadores/inimigo natural de insetos caso esteja sendo atacado por insetos herbívoros (WAR et al., 2012a) , ou ainda da biossíntese de moléculas especializadas que as auxiliem no combate ao possível perigo (DUDAREVA et al., 2013).

As plantas ao longo de seu desenvolvimento podem ser desafiadas por uma série de estresses que podem ser de natureza biótica ou abiótica (SUZUKI et al., 2014). Fatores como salinidade, radiação UV-B, temperaturas extremas e seca são alguns tipos de estresses abióticos com os quais as plantas podem se deparar ao longo do seu desenvolvimento (Cramer et al., 2011). De modo semelhante os estresses bióticos podem ser desencadeados pelo ataque de insetos, microrganismos como fungos, bactérias (LI et al., 2008).

Quando atacada por insetos, a planta pode se defender através do uso de mecanismos morfológicos os quais incluem por exemplo, tricomas e ceras ou ainda através de defesas químicas, que incluem por exemplo, alcalóides, glucosinolatos (GS), inibidores de protease (IPs) (WAR et al., 2012a).

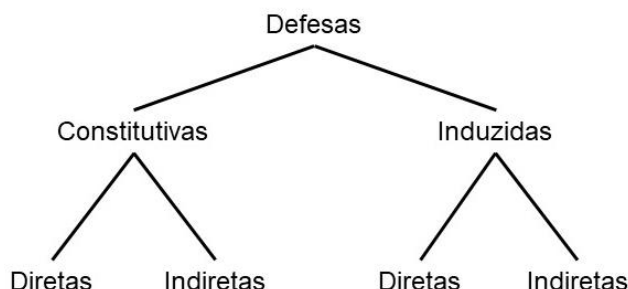
2.8.1 Defesa das plantas contra insetos herbívoros

As plantas representam uma rica fonte de nutrientes para muitos organismos, incluindo bactérias, fungos, protozoários, insetos e vertebrados. Embora não possuam um sistema imunológico comparável ao dos animais, as plantas desenvolveram um conjunto impressionante de defesas estruturais, químicas e bioquímicas projetadas para detectar organismos invasores e detê-los antes que sejam capazes de causar grandes danos (FREEMAN; BEATTIE, 2008).

O desenvolvimento de sistemas sofisticados para lidar com desafios provocados por herbívoros nas plantas tem um custo, que pode ser tanto direto, reduzindo recursos disponíveis para crescimento e reprodução, ou indireto, reduzindo o desempenho ecológico, por exemplo, a competitividade intraespecífica (KARBAN, 2011). Isso faz com que as plantas, quando atacadas por herbívoros, tenham o seu desenvolvimento vegetativo e/ou reprodutivo impactado (ZÜST; AGRAWAL, 2017). A gravidade desse impacto depende do tecido atacado, da disponibilidade dos recursos e da intensidade e constância do dano (HANLEY et al., 2007).

As plantas podem ter seu desenvolvimento e produção prejudicados pela herbivoria de insetos (LEHNDAL; ÅGREN, 2015) por esse motivo uma ampla variedade de estratégias defensivas foi desenvolvida por esses vegetais para proteção contra os insetos herbívoros (ERB, 2018; GONZÁLEZ-COLOMA et al., 2011). Em seu arsenal as plantas contam com mecanismos constitutivos ou induzidos (HAGENBUCHER et al., 2019; RASHID; CHUNG, 2017) que podem ter ação direta

(VANDENBORRE; SMAGGHE; VAN DAMME, 2011) ou indireta (ALJBORY; CHEN,



2018; GOLS, 2014). As defesas de plantas podem ser constitutivas (diretas e indiretas) e induzidas (diretas e indiretas) (Figura 5).

Figura 5-Tipos de defesa de plantas

Adaptado de (MITHÖFER; BOLAND, 2012)

2.8.2 Defesas constitutivas e Induzidas diretas e indiretas

As defesas constitutivas caracterizam-se por serem os níveis mais básicos de defesa das plantas podendo contar com estruturas morfológicas, de proteção mecânica, como espinhos ou tricomas, substâncias indigestas, como celulose ou taninos, ou compostos que são tóxicos para os herbívoros (VAN VELZEN; ETIENNE, 2015). Esse tipo de defesa configura um gasto energético mais elevado para a planta quando comparado a implementação de defesas induzidas (KARBAN; BALDWIN, 1997).

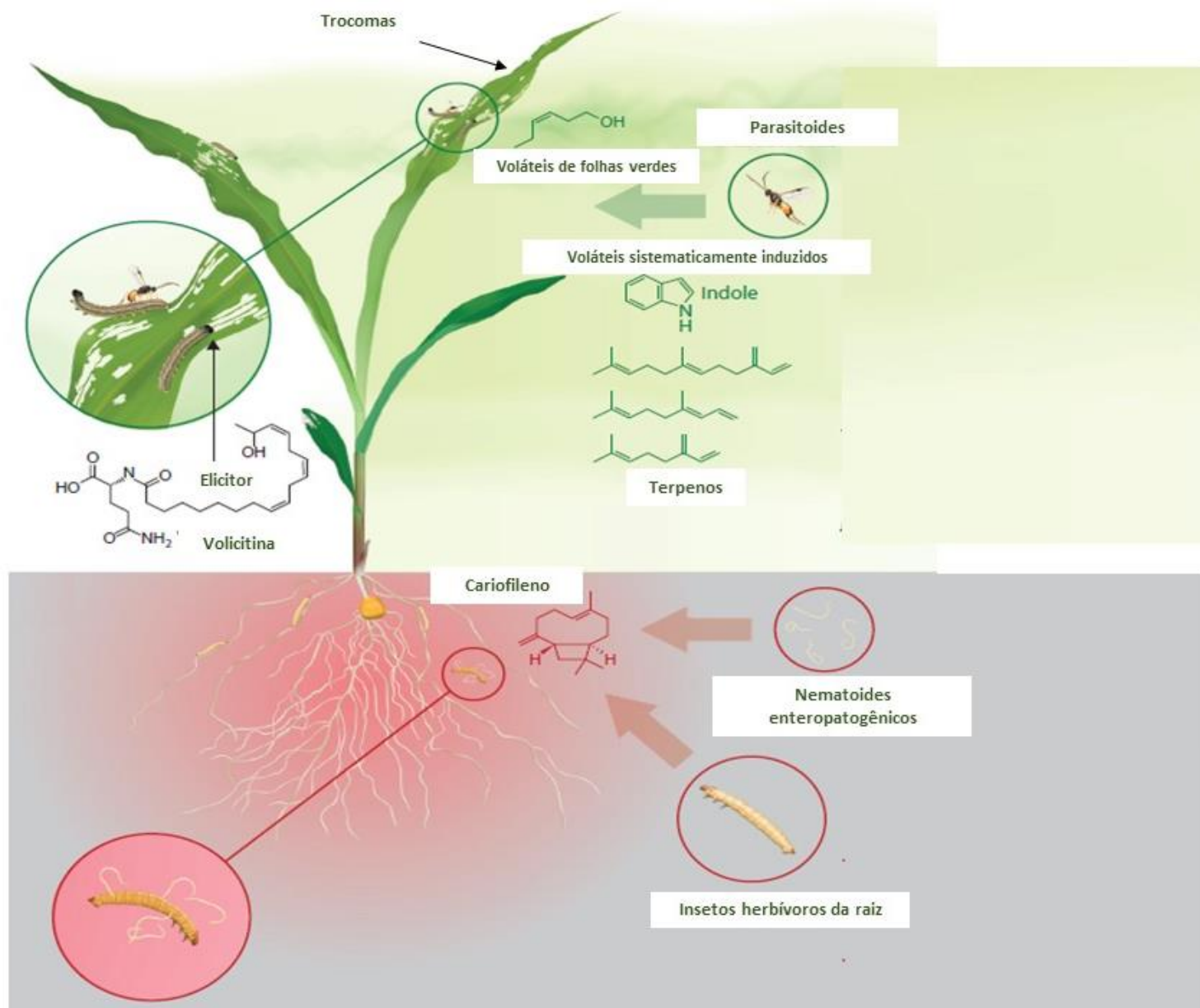
Assim que um inseto herbívoro começa a se alimentar de uma planta, vários sinais de defesa são induzidos, levando a diferentes respostas de defesa. A percepção de estresse como os eliciadores derivados da alimentação de insetos ou

oviposição desencadeiam ativação de uma rede regulatória complexa que medeia a biossíntese de metabólitos secundários, que são tóxicos, antidigestivos ou repelentes aos herbívoros. Os compostos que são produzidos devido a ativação de defesas induzidas (Figura 6) incluem, são por exemplo, inibidores da proteína tripsina (TPIs), glicosinolatos (GSs) (BODENHAUSEN; REYMOND, 2007; FÜRSTENBERG-HÄGG; ZAGROBELNY; BAK, 2013a; WAR et al., 2012a).

Através de defesas diretas (Figura 6) as plantas prejudicam o desempenho reprodutivo e nutricional do inseto agressor, ou ainda afetam a preferência pelas plantas hospedeiras (War et al., 2012). O que caracteriza esse tipo de defesa é a presença de pelos, tricomas (Luo et al., 2010; Xing et al., 2017), espinhos e cutículas (Qi et al., 2018; Wink, 2018) ou ainda a produção de substâncias prejudiciais aos insetos, como terpenóides, alcalóides, antocianinas, fenóis e quinonas que matam ou retardam o desenvolvimento dos herbívoros.

As defesas diretas também atuam contra a oviposição de insetos. A oviposição é um dos primeiros sinais de perigo que a planta pode detectar através não só o contato físico dos ovos com a superfícies da folha, mas também através da secreção que auxilia a adesão dos ovos à superfície da planta. Em resposta a esses estresses as plantas podem mimetizar, por meio das glândulas foliares, ovos de alguns insetos fazendo com que a oviposição por borboletas seja diminuída, pois as larvas dessa espécie têm comportamento canibal (GILBERT, 1975). Plantas podem ainda necrosar o tecido onde os ovos são depositados, fazendo com que os ovos caiam da planta fazendo com que o inseto não se desenvolva (BALBYSHEV; LORENZEN, 1997).

Figura 6-Defesas constitutivas e induzidas de plantas



Adaptado de (TURLINGS; ERB, 2018).

As características das defesas indiretas (Figura 6) contra os insetos incluem a liberação de mistura de COVs que atraem os inimigos naturais dos herbívoros (Kappers et al., 2011; Uefune et al., 2020). Não só os voláteis, mas também o aumento no fornecimento de néctar extrafloral (Jones et al., 2017; Koptur et al., 2015) é responsável pela atração de inimigos naturais. Outro fato relacionado às características de defesa indiretas de plantas é o fornecimento de abrigo aos inimigos naturais/predadores de insetos (Kaiser et al., 2017).

Os mecanismos indiretos podem facilitar o modo com o qual os parasitoides de ovos localizam seus hospedeiros devido a produção de mistura de COVs específica, pela planta atacada, que pode ser usada por esses parasitoides (COLAZZA et al., 2004). A localização de insetos herbívoros também é facilitada pelo uso dos COVs pelos seus predadores (AYA et al., 2017; RIFFEL et al., 2021).

As defesas das plantas são o resultado de alterações metabólicas que ocorrem no vegetal devido a incidência de estresses bióticos e/ou abióticos (AHAMMED et al., 2020; KORTBEEK; VAN DER GRAGT; BLEEKER, 2019; KUMUDINI et al., 2018)

2.9 Metabólitos primários de plantas

O metabolismo primário (basal) inclui todos os compostos e processos que são essenciais para o crescimento e desenvolvimento de um indivíduo e é caracterizado por ser universalmente similar (SIMÕES et al., 2016).

Através de uma intrincada rede de reações catalisadas por enzimas as plantas são capazes de produzir uma grande variedade de metabólitos em quantidades que vão além da quantidade produzida pela maioria dos outros organismos (FANG; FERNIE; LUO, 2019). Essa rede é denominada de metabolismo e pode ser subdividido em metabolismo primário, que abrange reações e vias ligadas ao crescimento e desenvolvimento das plantas, e metabolismo secundário que cumpre uma infinidade de funções estando mais envolvido na interação da planta com o meio ambiente (SULPICE; MCKEOWN, 2015).

Dentre os metabólitos envolvidos no metabolismo primário estão carboidratos, aminoácidos e nucleotídeo envolvidos em processos como crescimento, fotossíntese e assimilação de nitrogênio (LUNA-RUIZ; NABHAN; AGUILAR-MELÉNDEZ, 2018).

Em condições não estressantes o metabolismo primário envolve reações que se iniciam com a redução do CO₂ e oxidação da água através da fotossíntese. Nesse processo a planta é capaz de usar energia da luz solar para produzir ATP, O₂ e NADPH nas membranas dos tilacóides do cloroplasto em uma etapa da fotossíntese denominada de fase fotoquímica. Os produtos desta etapa são então consumidos na etapa seguinte, denominada fase química, no estroma para a produção de açúcares em uma série de reações denominadas ciclo de Calvin-Benson, que se iniciam com a incorporação do CO₂ a ribulose-5-bifosfato prosseguindo para a produção de compostos como amido e sacarose, que por sua vez podem ser armazenados ou usados na produção de energia e biossíntese de outros compostos do metabolismo

primário, através da glicólise e do ciclo de Krebs, como também compostos do metabolismo secundário. No ciclo de Calvin-Benson, o C reduzido na forma de Eritrose -4-fosfato pode ser direcionado para a via da fenilpropanóides ou ser oxidado na glicólise que tem como produto o piruvato que é direcionado ao ciclo de Krebs. No ciclo de Krebs o piruvato é então transformado em outros compostos através de reações que liberam H^+ posteriormente usados na síntese de ATP na cadeia transportadora de elétrons (TAIZ et al., 2017).

Os carboidratos desempenham um papel central no metabolismo celular e são um produto primário da fotossíntese (LOJKOVA et al., 2020). Dos carboidratos produzidos pela fotossíntese quase 30% são utilizados para a biossíntese da parede celular por cada célula. O esqueleto de carbono também precisa ser desviado para a síntese de produtos químicos de defesa (metabólitos secundários) a fim de impedir a herbivoria (LAL, 2018).

Os açúcares são transportados na forma solúvel menos reativa, principalmente como sacarose da fonte (local de sua síntese) para o local de sua utilização, além disso, outros carboidratos além da sacarose também são translocados, os quais incluem rafinose, verbascose e estaquiose. O amido é a principal forma de armazenamento de carboidratos. No entanto, há casos em que a sacarose é armazenada, como na cana-de-açúcar e na beterraba. Em algumas plantas, os frutanos são a forma de armazenamento de carboidratos. Em membros da família das gramíneas, o amido é armazenado nos grãos (LAL, 2018)..

O nitrogênio é um elemento essencial para as plantas já que encontrado na maioria das macromoléculas, em muitos compostos secundários e de sinalização, incluindo proteínas, ácidos nucleicos, componentes da parede celular, hormônios e vitaminas (KRAPP, 2015). O N absorvido pelas plantas após a sua fixação, principalmente na forma de nitrato ou amônio, é assimilado em aminoácidos através de mecanismos que envolvem as ações sequenciais da glutamina sintetase e da glutamato sintase. A glutamina sintetase (GS) combina o amônio com o glutamato para formar a glutamina. Uma vez assimilado em glutamina e glutamato, o nitrogênio é incorporado a outros aminoácidos por meio de reações de transaminação. (TAIZ et al., 2017).

Tanto nitrogênio quanto os carboidratos podem ser usados para a produção de metabólitos secundários (LI et al., 2020; ROHDE et al., 2004; SINGH, 2018).

2.10 Metabólitos secundários

O metabolismo secundário (especial) inclui todas as substâncias e todos os processos que envolvem as inter-relações do indivíduo com seu meio ambiente, sendo os compostos produzidos dispensáveis para o crescimento e desenvolvimento de um indivíduo isolado. Os produtos formados a partir desse metabolismo são indispensáveis para a existência e sobrevivência de uma espécie em seu ambiente, onde ela interage com diversos outros organismos (SIMÕES et al., 2016).

Os metabólitos secundários atuam como principal linha de defesa contra insetos podendo ser constitutivos sendo armazenados como formas inativas ou induzidos em resposta ao ataque do inseto ou micróbio (WAR et al., 2012a). Esses metabólitos geralmente pertencem a uma das três grandes classes químicas: terpenóides, fenólicos e alcalóides (LUNA-RUIZ; NABHAN; AGUILAR-MELÉNDEZ, 2018).

Os terpenóides incluem uma série de fitoquímicos tóxicos e não tóxicos produzidos em diferentes órgãos da planta que inibem, repelem ou atraem outros organismos vivos, como predadores (fitopatógenos, herbívoros invertebrados, vertebrados) e não predadores (dispersores, polinizadores, pragas inimigos) (LUNA-RUIZ; NABHAN; AGUILAR-MELÉNDEZ, 2018).

Os fenólicos incluem uma série de compostos tóxicos e não tóxicos, como flavonóides, isoflavonóides e monômeros fenólicos produzidos em diferentes órgãos (raízes, caules, folhas, flores, frutos e sementes). Os fenólicos e seus derivados têm diferentes funções na natureza (proteção UV, antifúngico, antibiótico, inseticida e outros) (LUNA-RUIZ; NABHAN; AGUILAR-MELÉNDEZ, 2018). Na defesa das plantas contra insetos as um mecanismo de defesa usado pelo vegetal é oxidação de fenóis catalisada por polifenol oxidase (PPO) e peroxidase (POD). A partir da oxidação desses dos fenóis quinonas são formadas e se ligam covalentemente às proteínas da folha inibindo a digestão das proteínas nos herbívoros (Bhonwong et al. 2009; War et al. 2012). Fenólicos como flavonóides podem exercer diversos papéis na planta que vão desde o crescimento e desenvolvimento até no combate a estresse de natureza abiótica e biótica e (SHAH; SMITH, 2020) incluindo proteção a planta contra o ataque insetos herbívoros (ZHANG et al., 2021).

Alcalóides são compostos que contém N e são produzidos e agregados em diferentes órgãos, como raízes, folhas, frutos e sementes. Estes compostos podem

atuar como bactericidas, fungicidas, inseticidas e alelopáticos. Alcalóides podem ter efeitos degradantes e digestivos em diferentes tecidos de predadores e patógenos. Os compostos cafeína, cocaína, morfina, nicotina, atrofina, além de capsaicina e outros capsaicinóides (LUNA-RUIZ; NABHAN; AGUILAR-MELÉNDEZ, 2018).

O metabolismo das plantas da origem aos COVs, compostos que podem ser usados por plantas para diferentes finalidades (DUDAREVA et al., 2006a). A biossíntese desses COVs depende de diferentes precursores (DUDAREVA et al., 2013; PICHERSKY; RAGUSO, 2018) que podem ser adquiridos do metabolismo primário e/ou secundário das plantas (MAFFEI; GERTSCH; APPENDINO, 2011; PICHERSKY; NOEL; DUDAREVA, 2006; SUN et al., 2016).

As plantas são capazes de sintetizar diversos compostos secundários que podem atuar na sua defesa contra o ataque dos insetos herbívoros (DICKE; BALDWIN, 2010). Esses compostos podem ser de diferentes classes como alcalóides, flavonóides, terpenóides e esteróis e suas identificações tornam-se essenciais para que se tenha um melhor entendimento do mecanismo de resistência apresentado por essas plantas (BENTIVENHA et al., 2018).

No trabalho realizado por (BENTIVENHA et al., 2018) diferentes genótipos de soja, apresentaram concentrações distintas de compostos secundários. Essa variação na concentração desses compostos ocorreu em plantas intactas e infestadas com *Piezodorus guildini*.

Trabalhos anteriores demonstraram que compostos secundários, como flavonóides foram responsáveis pela resistência apresentada atundo na resistência de plantas de soja contra *Piezodorus guildinii* (Bentivenha et al., 2018). Em trabalho com plantas de milho realizado no qual o objetivo foi avaliar se dietas contendo flavonóides afetavam a biologia da lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), (SILVA et al., 2016) demonstraram que diferentes concentrações de rutina afetou negativamente a biologia de *S. frugiperda* ao prolongar o tempo de desenvolvimento larval, reduzindo o peso das larvas e pupas e diminuindo a viabilidade das pupas. Para (GOLLA et al., 2018) em trabalho com plantas cultivadas e selvagens de grão de bico (*Cicer arietinum*) a concentração dos compostos ácido málico e ácido oxálico estava correlacionada com a sobrevivência e peso larval de *Helicoverpa armigera*. Para (SANTOLAMAZZA-CARBONE et al., 2016) generalista *Mamestra brassicae* (Lepidoptera, Noctuidae) e do especialista *Pieris rapae* (Lepidoptera, Pieridae), foram afetados por seis genótipos de *Brassica oleracea* var.

acephala. Esses autores observaram que altos níveis glucosinolatos alifáticos ofereceram às plantas maduras uma defesa do tipo antibiose significativa contra ambos os lepidópteros (SANTOLAMAZZA-CARBONE et al., 2016).

Para avaliar a resistência de diferentes cultivares de trigo do pulgão *Sitobion avenae* (HAO et al., 2021) avaliaram cultivares resistentes (Xiaoyan 22) e susceptíveis (XN979). Os autores observaram que *S. avenae* apresentou menor peso corporal e fecundidade quando se alimentaram de Xiaoyan 22 e argumentaram que a maior resistência de Xiaoyan 22 ocorre principalmente devido à redução na seiva do floema ingerida por afídeos, ao invés da presença de metabólitos tóxicos. (LOUIS et al., 2010) avaliaram a composição de glucosinolatos com o intuito de determinar se alterações nos níveis desses compostos influenciavam na antibiose de *Arabidopsis thaliana* contra pulgão verde do pêssigo (*Myzus persicae* Sülzer). Os autores concluíram que os glucosinolatos não contribuem significativamente para a antibiose determinada por MPL1.

2.11 Compostos orgânicos voláteis de plantas

Os COVs são formados por diversos produtos naturais, os quais se caracterizam por serem líquidos lipofílicos e em temperatura ambiente possuem baixo peso molecular e alta pressão de vapor em temperatura ambiente (BALDWIN, 2010; PICAZO-ARAGONÉS; TERRAB; BALAO, 2020).

A disponibilidade de carbono, nitrogênio, enxofre e energia fornecida pelo metabolismo primário, como blocos de construção, é crucial para que ocorra a biossíntese de COVs. Diferentes vias de biossíntese resultam em uma ampla variedade de COVs (MAFFEI; GERTSCH; APPENDINO, 2011). Estas vias fazem parte do metabolismo secundário das plantas são derivadas de apenas algumas vias metabólicas primárias (DUDAREVA et al., 2013) de modo que esses blocos de construção são de extrema importância para os metabólitos secundários, fato que demonstra que o metabolismo primário e o secundário estão conectados (CARETTO et al., 2015; POTT; OSORIO; VALLARINO, 2019)

Os COVs são classificados como terpenóides, fenilpropanóides / benzenóides, derivados de ácidos graxos e derivados de aminoácidos (DICKE; BALDWIN, 2010). Os voláteis das plantas são o resultado de muitas vias bioquímicas que levam à

produção de uma ampla gama de compostos voláteis (MAFFEI; GERTSCH; APPENDINO, 2011).

Os COVs são metabólitos secundários que são produzidos normalmente pelas plantas (PICAZO-ARAGONÉS; TERRAB; BALAO, 2020), porém, quando insetos herbívoros induzem a produção desses COVs, denominados HIPVs (voláteis induzidos por inseto herbívoro), eles podem atuar na defesa do vegetal atacado pela atração dos inimigos naturais do inseto herbívoro ou impedimento de oviposição, configurando assim mecanismo de defesa indireto. Os HIPVs atuam ainda na comunicação entre plantas vizinhas não danificadas ou sinalização dentro da planta atacada (War et al. 2012). Os COVs que compõem os HIPVs incluem voláteis de folhas verdes (GLVs - aldeídos C 6, álcoois e seus ésteres), terpenóides, aromáticos e derivados voláteis de aminoácidos. (DUDAREVA et al., 2006b; PEÑAFLORES; BENTO, 2013).

Esses COVs podem ser emitido de flores e frutos de plantas podendo ser constitutivos, atuando, por exemplo, na atração de polinizadores, disseminadores de sementes, garantindo o sucesso reprodutivo da planta (CARVALHO; DÖTTERL; SCHLINDWEIN, 2014; DAS et al., 2013; PICHERSKY; GERSHENZON, 2002), ou ainda, atuar contra insetos herbívoros pela repelência direta dessas ameaças (SCHILMILLER; LAST; PICHERSKY, 2008), podendo também serem induzidos devido a estresse biótico ou abiótico (SILVA et al., 2012; WAR et al., 2011) sendo liberados acima e/ou abaixo do solo (BEZEMER; VANDAM, 2005; DE MORAES; MESCHER; TUMLINSON, 2001; ERB et al., 2008; UNSICKER; KUNERT; GERSHENZON, 2009) e preparar plantas para um futuro ataque (ENGELBERTH et al., 2004).

Estes compostos podem mediar tanto a comunicação entre plantas vizinhas de possível ataque herbívoro, influenciando as suas defesas diretas (BOUWMEESTER et al., 2019; DE O. BORGES et al., 2018) e indiretas pela atração de inimigos naturais dos herbívoros (MCCORMICK; UNSICKER; GERSHENZON, 2012). Essas substâncias químicas podem ainda repelir insetos nocivos ou atrair predadores benéficos que atacam as pragas destrutivas (FREEMAN; BEATTIE, 2008).

Alguns COVs são emitidos a partir das plantas infestadas sendo apenas resultado da ruptura mecânica de células da planta, e não são específicas de herbivoria, porém, quando uma planta é danificada por insetos herbívoros, muitos

outros voláteis são liberados sendo estes indicadores específicos de herbívoros na planta (PARÉ; TUMLINSON, 1999).

Todos esses modos de ação dos COVs foram demonstrados em trabalhos anteriores. Por exemplo.: (IRMISCH et al., 2014) que ao trabalharem com plantas de álamo, *Populus trichocarpa*, são capazes de emitir uma mistura de voláteis nitrogenados que atividade repelente contra lagartas generalista *Lymantria díspar*. Como defesas indiretas os COVs são emitidos das plantas devido o ataque de insetos como no caso do trabalho executado por (XIU et al., 2019) ao avaliar, em ensaios olfatométricos em tubo Y, o comportamento do predador *Harmonia axyridis* frente a ação de voláteis emitidos por quatro diferentes espécies de pulgões, *Macrosiphoniella artemisiae*, *Aphis gossypii*, *Sitobion avenae* e *Schizaphis graminum* e *Megoura viciae* em suas respectivas espécies hospedeiras *Artemisia lavandulaefolia*, *Gossypium hirsutum*, *Triticum aestivum* e *Vicia faba*, puderam perceber que odores emitidos a partir de plantas infestadas com afídeo mostraram-se significativamente mais atraentes do que os odores emitidos por pulgões agindo isoladamente ou por plantas não infestadas. Além disso os autores também determinaram que os compostos acrilato de butila, α -pineno, 1,2-dietilbenzeno, p-dietilbenzeno e 3-Etilacetofenona foram os responsáveis por essa atração. Um outro exemplo é o que ocorre no trabalho desenvolvido por SHIOJIR e colaboradores (2010) o qual mostrou que o parasitóides de larvas *Cotesia vestalis*, é atraída por uma mistura de quatro compostos [(Z)-3-hexenil acetato, α -pineno, sabineno e n-heptanal] presentes em mistura volátil emitida por repolho (*Pieris rapae*).

Com relação a oviposição o trabalho de (ALI; WRIGHT, 2021) demonstrou que *Trichogramma papilionis* Nagarkatti (Hymenoptera: Trichogrammatidae) foram atraídos por COVs provenientes de plantas infestadas com ovos de *Helicoverpa zea*. Os autores observaram que compostos anisol e bis (2-etilhexil) ftalato (DEHP), usados tanto em uma mistura (25 μ L de anisol: 100 μ L de DEHP) quanto individualmente em experimentos com olfatometros em Y, era atrativa para *T. papilionis*.

COVs também podem atuar na preparação de plantas para que esses organismos respondam mais fortemente a futuros ataques de insetos herbívoros (HILKER et al., 2016).

2.11.1 COVs terpenóides

Os terpenóides constituem a maior e mais diversa classe química, estrutural e funcional de produtos químicos dos organismos vivos (ZHOU; PICHERSKY, 2020). Em plantas, diversos terpenos exibem diferentes funções, as giberelinas, por exemplo, atuam como fitohormônios. Outros terpenos desempenham papéis nas interações ecológicas das plantas que ocorrem devido a interferências bióticas e abióticas de seu ambiente. Os monoterpenos voláteis são atraentes de polinizadores e os sesquiterpenos estão presentes em aromas florais fazem parte do metabolismo secundário (PICHERSKY; RAGUSO, 2018).

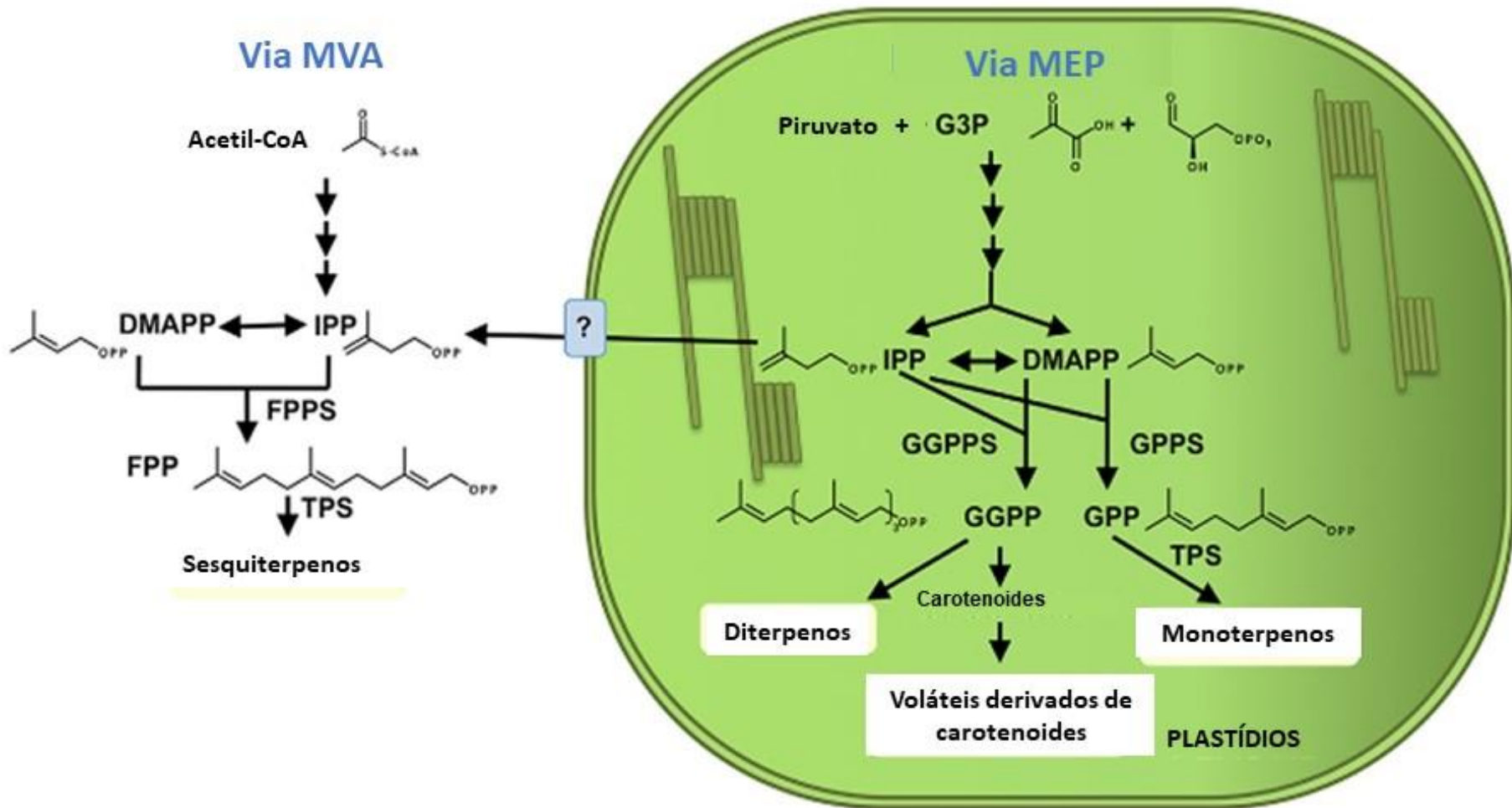
Terpenos podem ser encontrados em todas ou quase todas as plantas e compartilham um elemento estrutural chave comum denominado de isopreno (C₅) (DUDAREVA et al., 2013). O grupo dos terpenóides é composto pelos monoterpenos (C₁₀), sesquiterpenos (C₁₅), diterpenos (C₂₀) e alguns homoterpenos (C₁₁ e C₁₆) derivados de sesquiterpenos e diterpenos (ZHOU; PICHERSKY, 2020). Terpenos são encontrados em diferentes partes das plantas sendo os monoterpenos produzidos nas folhas, enquanto sesquiterpenos são encontrados nas flores, nos tricomas glandulares das folhas podem ainda ser encontrados monoterpenos e sesquiterpenos e são emitidos pela folhagem e raízes de plantas danificadas por herbívoros.

São produzidos devido a vias de biossíntese que ocorrem em locais distintos na célula (Figura 7), sendo uma no cloroplasto (via fosfato de metileritritol (MEP) dando origem ao isopentenil difosfato (IPP) e outra (via do ácido mevalônico (MVA) provavelmente dividida entre citosol, retículo endoplasmático e peroxissomo, seu isômero dimetilalil difosfato (DMAPP) (DUDAREVA et al., 2013; MAFFEI, 2010; MUHLEMANN; KLEMPIEN; DUDAREVA, 2014).

Uma etapa de condensação de três moléculas de acetil-CoA leva a formação do 3-hidroxi-3-metilglutarato-CoA, este metabólito sofre redução para MVA seguido de duas reações de fosforilações subsequentes e uma etapa de descarboxilação/eliminação levando a formação do IPP como produto (MAFFEI, 2010)

São necessárias cinco etapas consecutivas para converter o MEP em IPP e DMAPP. A via do MEP conta com o metabolismo primário para o fornecimento de Piruvato e GAP, sendo este último derivado tanto da glicólise quanto da via pentose fosfato (PPP) (DUDAREVA et al., 2013)

Figura 7-Representação esquemática da biossíntese de COVs de terpenóides



Adaptado de (MUHLEMANN; KLEMPIEN; DUDAREVA, 2014)

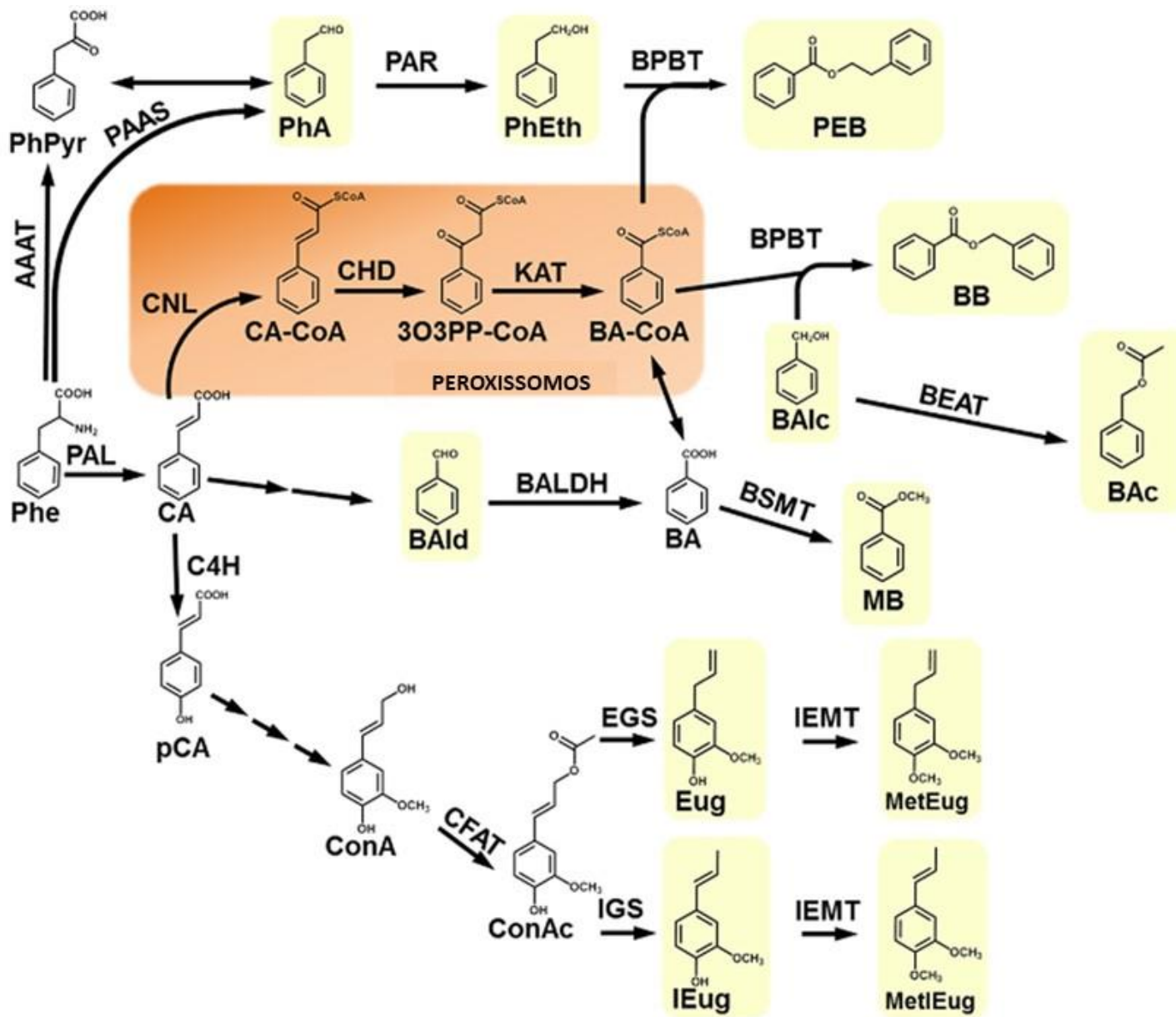
Setas empilhadas representam várias etapas biossintéticas. DMAPP, pirofosfato de dimetilalila; FPP, pirofosfato de farnesil; FPPS, FPP sintase; G3P, gliceraldeído-3-fosfato; GGPP, pirofosfato de geranilgeranila; GGPPS, GGPP sintase; GPP, pirofosfato de geranila; GPPS, GPP sintase; IPP, pirofosfato de isopentenila; TPS, terpeno sintase

2.11.2 COVs fenilpropanóides/benzenóides

Os compostos denominados fenilpropanóides e benzenóides, são a segunda maior classe de compostos encontrados em plantas. Estes COVs são biossintetizados a partir do aminoácido aromático fenilalanina e este por sua vez é sintetizado por duas vias alternativas (DUDAREVA et al., 2013) (Figura 7). Os intermediários da via glicolítica e da via das pentoses fosfato, fosfoenolpiruvato (PEP) e D-eritrose 4-fosfato (E4P) respectivamente (MAEDA; DUDAREVA, 2012). Dependendo da estrutura de seu esqueleto de carbono, esta classe é dividida em três subclasses: fenilpropanóides (com uma estrutura C 6-C 3), benzenóides (C 6-C 1) e compostos relacionados com fenilpropanóides (C 6-C2) (MUHLEMANN; KLEMPIEN; DUDAREVA, 2014).

Todos os COVs benzenóides e fenilpropanóides são derivados da fenilalanina que é sintetizada nos plastídios através das vias biossintéticas chiquimato/fenilalanina. A fenilalanina então pode seguir duas vias distintas para a produção destes COVs. Uma das vias é conhecida como via oxidativa onde o ácido cinâmico, formado a partir de fenilalanina devida a ação de fenilalanina amônia liase (PAL), passa por uma série de reações, as quais envolvem ativação, hidratação, oxidação e redução, é convertido em cinamoil-CoA, 3-oxo-3-propil-CoA e finalmente em benzoil-CoA que é então convertido aos COVs. A rota não-oxidativa são responsáveis pela formação de ácido benzóico a partir de benzaldeído pela ação de uma benzaldeído desidrogenase. O ácido benzóico é então convertido ao volátil metilbenzoato (DUDAREVA et al., 2013; MUHLEMANN; KLEMPIEN; DUDAREVA, 2014) (Figura 8).

Figura 8-Representação esquemática da via biossintética dos COVs fenilpropanóide / benzenoide



Adaptado de (MUHLEMANN; KLEMPIEN; DUDAREVA, 2014)

Abreviações.: AAAT, aminoácido aminotransferase aromático; BA, ácido benzóico; BA-CoA, benzoil-CoA; BAic, álcool benzílico; BAld, benzaldeído; BALDH, benzaldeído desidrogenase; BB, benzilbenzoato; BEAT, acetil-CoA: álcool benzílico acetiltransferase; BPBT, benzoil-CoA: álcool benzílico / 2-feniletanol benzoiltransferase; BSMT, ácido benzóico / ácido salicílico carboxil metiltransferase; CA, ácido cinâmico; CA-CoA, cinamoil-CoA; C4H, cinamato-4-hidroxilase; CNL, cinamoil-CoA ligase; Eug, eugenol; IEug, isoeugenol; KAT, tiolase 3-cetoacil-CoA; MB, metilbenzoato; 3O3PP-CoA, 3-oxo-3-fenilpropionil-CoA; PAAS, fenilacetaldeído sintase; PAL, fenilalanina amônia-liase; pCA, ácido p-cumárico; PEB, feniletilbenzoato; PhA, fenilacetaldeído; Phe, L-fenilalanina; PhEth, 2-feniletanol; PhPyr, ácido fenilpirúvico.

2.11.3 COVs Derivados de Ácidos Graxos Voláteis

A terceira classe de COVs é constituída pelos derivados de ácidos graxos. Estes compostos são derivados de linolênico e linoleico, ácidos graxos insaturados C18 que são substratos para uma grande variedade de outros compostos, incluindo jasmonatos e voláteis de folha verde (MUHLEMANN; KLEMPIEN; DUDAREVA, 2014). A biossíntese dos COVs derivados de ácidos graxos é iniciada por uma oxigenação estereoespecífica dos precursores octadecanóides, catalisada por uma lipoxigenase (LOX) e leva à formação de intermediários 9- e 13-hidroperox. O intermediário 13-hidroperoxi leva à formação de ácido jasmônico (AJ), que por sua vez é convertido em jasmonato de metila (DUDAREVA et al., 2013).

2.11.4 COVs e a preparação das plantas para ataques futuros de herbívoros

O estado preparado (priming) é uma capacidade que as plantas desenvolveram e que lhes permitem de se preparar para respostas a estresse induzíveis aprimoradas. Nesse contexto uma primeira experiência de estresse pode preparar a planta para uma resposta melhorada a um estresse subsequente (CONRATH et al., 2006; HILKER; SCHMÜLLING, 2019).

Uma série de fatores tais como a aplicação de fitohormônios (SYTAR et al., 2019), estresse por metais pesados (WINTER et al., 2012) e outros (KIM; FELTON, 2013) podem desencadear o priming, porém, no contexto da interação planta inseto os primeiro desencadeadores do priming estudados foram os COVs (ENGELBERTH et al., 2004).

Paudel et al., (2020) demonstraram que voláteis liberados por *Nicotiana benthamiana* danificadas por *Heliothis virescens* ou por *Manduca sexta* proporcionaram emissão mais acentuada de COVs em plantas vizinhas da mesma espécie não danificadas. O trabalho de Arimura et al., (2000) com plantas de feijão-de-lima infestadas com ácaros (*Tetranychus urticae*) foi demonstrado que não apenas a planta atacada, mas também as plantas vizinhas são afetadas, tornando-se mais atraentes para os ácaros predadores e ácaros predadores (*Phytoseiulus persimilis*), e menos suscetíveis aos ácaros ao ácaro atacante. Ao trabalhar com plantas de repolho

(*Brassica oleracea* L.) que foram previamente expostas a voláteis de plantas induzidos por herbívoros (HIPV) e

subsequentemente induzidas através da alimentação por cinco lagartas *Pieris brassicae* L. (PENG et al., 2011) mostraram que as plantas induzidas atraíram mais parasitóides *Cotesia glomerata* L. do que plantas controle. Esses autores argumentaram ainda que os voláteis de plantas vizinhas foram responsáveis por desencadear o priming nas plantas de repolho.

A produção de COVs é resultado alterações metabólicas que ocorrem nas plantas (DUDAREVA et al., 2013). Essas alterações metabólicas podem ser induzidas pelo ataque de insetos e além de influenciar a produção dos COVs, tais alterações também influenciam outros processos como alteração da fotossíntese (COHEN; LEACH, 2019) e a realocação de metabólitos (NYKÄNEN; KORICHEVA, 2004)

2.12 Alterações metabólicas em plantas causadas pela herbivoria de Insetos

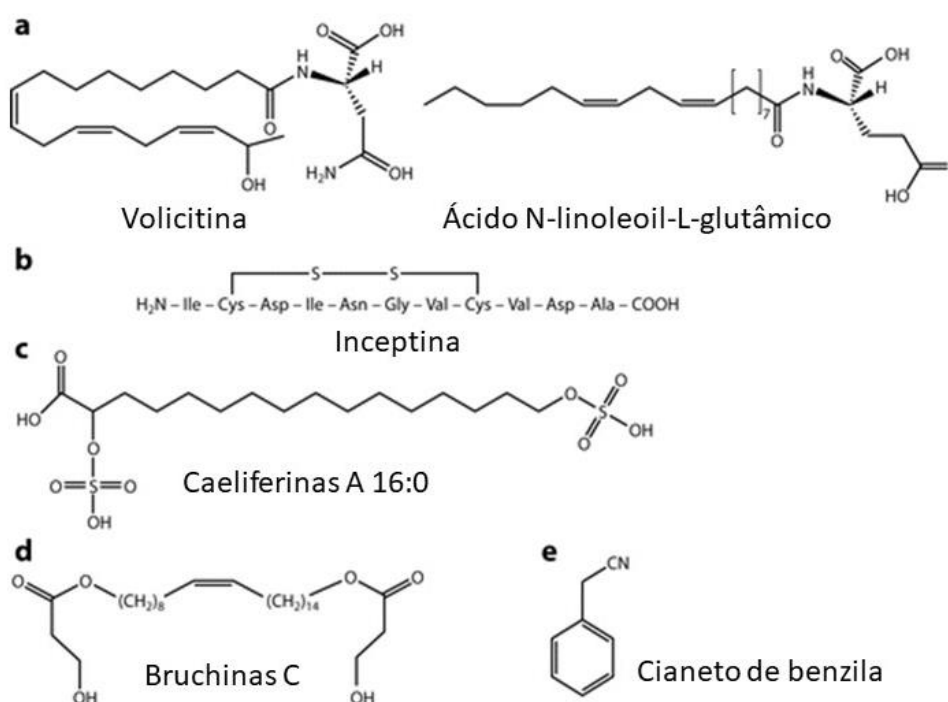
O estresse biótico em plantas pode desencadear diferentes respostas metabólicas e estas respostas podem ocorrer de modo individual para os diferentes tipos de estresse ou combinada, para todos os estresses possíveis (Obata and Fernie, 2012). A coordenação de ações defensivas contra o ataque de pragas resulta das interações entre a planta e os elicitores derivados de insetos herbívoros, que são seguidos pela rápida ativação de sofisticadas cascatas de sinalização de plantas (ARIMURA; OZAWA; MAFFEI, 2011).

Os diferentes eventos de sinalização que ocorrem na planta devido ao ataque de insetos se iniciam devido ao reconhecimento de elicitores derivados dos insetos (BONAVENTURE; VANDOORN; BALDWIN, 2011) que ao serem detectados pelos vegetais desencadeiam eventos como mudanças nos potenciais de membrana (ZEBELO; MAFFEI, 2015), alterações nas concentrações intracelulares de cálcio (KIEP et al., 2015) e de espécies reativas de oxigênio (KERCHEV et al., 2012). Essas alterações levam a biossíntese de ácido jasmônico e seus derivados (MAFFEI; MITHÖFER; BOLAND, 2007) que ao serem reconhecidos por receptores celulares induzem a expressão de genes relacionados com a defesa de plantas contra o ataque de insetos (YANG et al., 2015).

2.13 Os elicitores derivados de insetos

Não só o dano físico provocado pela alimentação do inseto, mas também a presença de elicitores presentes nas secreções orais dos insetos são sinais usados pelas plantas para detecção de ataque, sendo tais sinais podem provocar mudanças em sua fisiologia, ativando a emissão induzida de compostos orgânicos voláteis e vias metabólicas de defesa. Os herbívoros liberam regurgito no local da mordida e compostos químicos presentes no regurgito desempenham um papel na indução de respostas defensivas das plantas. Estes elicitores presentes e secreção oral do inseto (Figura 9) quando em contato com a planta provoca um aumento da produção de fitormônios e liberação de compostos voláteis com função de atrair inimigos naturais do herbívoro (TUMLINSON; ENGELBERTH, 2008).

Figura 9-Estruturas de alguns elicitores de respostas de defesa em plantas



Adaptado de (WU; BALDWIN, 2010).

Por outro lado, o simples toque do inseto na planta desencadeia respostas, pois o caminhar sobre as folhas tem a capacidade de ativá-las mecanicamente, por estiramento, canais iônicos na membrana celular seguida de uma rápida alteração na

concentração de Ca^{2+} no citosol, sendo que este aumento na concentração provoca a transdução de sinal adicional na planta induzindo genes envolvidos na defesa ou no crescimento (BRAAM; DAVIS, 1990).

Com relação a secreção oral os primeiros compostos já isolados de regurgito em amostras de larvas de lepidópteros foram os compostos N-(17-hidroxiolenolenoil)-L-glutamina conhecido como volicitina e outros derivados de ácidos graxos (SPITELLER; BOLAND, 2003). A volicitina N-(17-hidroxiolenolenoil)-L-glutamina foi o primeiro conjugado de ácidos graxos e aminoácidos identificado partir da saliva da lagarta *Spodoptera exigua*, e quando aplicado em plantas de milho causa a liberação dos mesmos voláteis liberados após o dano realizado por lagartas. Além de lepidópteros, também foram isolados ácidos graxos conjugados e aminoácidos da secreção oral de outros insetos como larvas de moscas das frutas e grilos que também induzem a emissão de voláteis (KESSLER; BALDWIN, 2002; MAFFEI; ARIMURA; MITHÖFER, 2012).

Os elicitores conhecidos como caeliferinas, que são compostas de ácidos graxos hidroxi sulfatados saturados e monoinsaturados, nos quais o carbono é funcionalizado com uma hidroxila sulfatada ou com uma carboxila ligada a uma glicina através de uma ligação amida, foram encontrados na secreção oral do gafanhoto-sul-americano *Schistocerca americana* Drury, 1773 (Orthoptera: Acrididae) (ALBORN et al., 2007).

2.14 Alterações na fotossíntese provocadas pela herbivoria de insetos

As alterações causadas pela herbivoria de insetos estão relacionadas com mudanças ocorridas no metabolismo primário da planta (HALITSCHKE; HAMILTON; KESSLER, 2011) que incluem alteração na taxa de crescimento (HAAG et al., 2004; ZÜST; AGRAWAL, 2017), aumento ou diminuição da eficiência fotossintética (BARRON-GAFFORD et al., 2012; COHEN; LEACH, 2019; HALITSCHKE; HAMILTON; KESSLER, 2011; THOMSON et al., 2003) e remobilização de recursos de carbono e nitrogênio.

A fotossíntese é um processo fundamentalmente importante na fisiologia das plantas por meio do qual energia luminosa é convertida em energia química. Normalmente as plantas são capazes utilizar a energia solar na conversão de CO_2 e H_2O em carboidratos, e oxigênio (TALAPATRA; TALAPATRA, 2015). O modo como

as plantas adequam seu processo fotossintético devido ao ataque de insetos é variável (KERCHEV et al., 2012; VELIKOVA et al., 2010; ZHOU et al., 2015) de tal modo que em alguns casos as plantas aumentam atividade fotossintética (NYKÄNEN; KORICHEVA, 2004) e no caso mais geral a atividade fotossintética diminui (HALITSCHKE; HAMILTON; KESSLER, 2011; VISAKORPI et al., 2018; ZHOU et al., 2015) e tal fato pode ocorrer devido tanto a herbivoria por inseto (COHEN; LEACH, 2019) quanto herbivoria simulada (BANSAL et al., 2013).

Com a diminuição do processo fotossintético, a demanda por carbono e energia se tornam críticos uma vez que há a necessidade fornecer matéria prima para a produção de metabólitos de defesa (ZHOU et al., 2015). Esse complemento de matéria prima energética pode ser conseguido, dentre outras maneiras, através do catabolismo carboidratos no próprio local de ataque (APPEL et al., 2014) através de outros eventos como a realocação de nutrientes (GÓMEZ et al., 2010; TAO; HUNTER, 2013) e isso torna o metabolismo primário responsável pelo fornecimento de precursores de metabólitos secundários (BOLTON, 2009a).

2.15 A remobilização de carboidratos e nitrogênio nas plantas devido a herbivoria de insetos

Os carboidratos, como produtos da fotossíntese, são a principal fonte de energia para plantas (TAIZ et al., 2017) e tendem a ter alterações negativas na concentração em plantas atacadas por insetos (NYKÄNEN; KORICHEVA, 2004). Os carboidratos são realocados após a herbivoria (ZHOU et al., 2015) e o trabalho de (YANG et al., 2019) indicou que a herbivoria foliar ativa a realocação de carbono sistêmico para aumentar o investimento de recursos para o metabolismo secundário local. A realocação de metabólitos ocorre por influência da herbivoria nas folhas e consequentemente direciona o carbono desse de ataque para as raízes (PERKOVICH; WARD, 2021). A herbivoria das folhas pode ainda direcionar a realocação dos carboidratos das raízes para as folhas atacadas indicando que esses metabólitos estariam sendo usados para a biossíntese de outros metabólitos de defesa aumentando assim a tolerância das plantas ao ataque de insetos (MACHADO et al., 2013; YANG et al., 2019).

Tanto as plantas quanto para insetos herbívoros que utilizam o N para sua sobrevivência e crescimento (SCHOONHOVEN et al., 2005). O conteúdo de N nas

plantas pode influenciar o comportamento dos insetos (LI et al., 2016). Nas plantas o N é encontrado principalmente na forma de aminoácidos (TAIZ et al., 2017), compostos que são precursores para a maioria os metabólitos vegetais relacionados à defesa de plantas (KILLINY; HIJAZ, 2016).

De acordo com a sugestão dada por (ZHOU et al., 2015) o N₂ pode ser remobilizado para diferentes tecidos por influência da herbivoria. Como exemplo Li et al., (2020) ao trabalhar com plantas de chá (*Camellia sinensis*) observaram que aminoácidos podem ser realocados das raízes sistêmicas para as folhas locais após a herbivoria de *Ectrops oblique* sobre as folhas. Os autores argumentaram ainda a realocação sistêmica de nitrogênio devido ao movimento dos aminoácidos desempenhou um papel potencialmente importante para o investimento de recursos na resistência da planta do chá contra a herbivoria foliar.

2.16 O processo de domesticação e a influenciar na defesa de plantas contra a herbivoria de insetos

A domesticação é um processo co-evolutivo demorado que ocorre quando as plantas selvagens passam por processos de cultivo pelo homem, gerando mudanças morfológicas e fisiológicas que fazem surgir novas espécies e / ou populações diferenciadas que são críticas para a sobrevivência humana (PURUGGANAN, 2019; PURUGGANAN; FULLER, 2009).

A domesticação das plantas priorizou ganhos em rendimento, facilidade de colheita, tempo de produção, características de germinação arquitetura da planta e mudanças em características de defesa (TAMRAT et al., 2020). Muitas culturas foram selecionadas para reduzir a acidez, amargor, irritabilidade e toxicidade para, assim, diminuir os requisitos de processamento e aumentar a palatabilidade, (DENHAM et al., 2020).

Diversas características das plantas que influenciam interações tri-tróficas podem ter sido alteradas devido ao processo de domesticação (CHEN et al., 2015; LI et al., 2018). Essa características incluem a perda de compostos específicos de plantas cultivadas (KÖLLNER et al., 2008) e ausência de características de atração inimigos naturais de insetos herbívoros (TAMIRU; KHAN; BRUCE, 2015). Executando experimento nos quais usaram vespas parasitóides *Cotesia congregata* (Say) (Hymenoptera: Braconidae) e plantas de tomate sendo seis espécies selvagens e oito

variedade de raças locais (LI et al., 2018) mostraram que as vespas escolheram plantas selvagens mais rápido do que as variedades locais e domesticadas estando estas plantas danificadas ou não por *Manduca sexta*. Esses autores mostraram ainda que que mariposas em oviposição foram mais atraídas para oviposição por cultivares de tomate domesticado (LI et al., 2018). Além disso, está bem documentado que domesticação pode ter levado a redução da diversidade genética (PÉREZ-JARAMILLO et al., 2017) e modificado o modo como as plantas se defendem do ataque de insetos herbívoros (PÉREZ-JARAMILLO; MENDES; RAAIJMAKERS, 2016).

Características físicas defensivas da planta contra o ataque de insetos como a tenacidade da folha podem ser prejudicadas devido a domesticação. Em condições de casa de vegetação o trabalho de (BELLOTA; MEDINA; BERNAL, 2013) demonstrou, pela comparação entre teosinto perene com o milho tradicional (raça mexicana Tuxpeño), que a tenacidade das folhas de milho tradicional foram prejudicadas devido a domesticação. Esses mesmos autores ainda verificaram que *Daubulus maidis* preferiram milhos híbridos e tradicionais aos exemplares de teosinto para oviposição e que a tenacidade da folha foi negativamente correlacionada com a preferência de *D. maidis* pelo hospedeiro.

Trabalhos mostraram o melhor desempenho de insetos herbívoros em plantas cultivadas quando comparadas a plantas selvagens. Em variedades de milho o trabalho de Szczepaniec et al.(2013) mostrou que *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) induziram a maior expressão de genes de defesa em *Zea mays ssp. Parviglumis* (teosinto) do que *Zea mays ssp. mays* L. (Poaceae) e as larvas de *S. frugiperda* tiveram desenvolvimento prejudicado em plantas de *Zea mays ssp. Parviglumis* (teosinto). Em outro exemplo, o trabalho com quatro tipos diferentes de plantas de milho, teosinte (Balsas), variedades locais mexicanas, variedades locais dos EUA e linhagens consanguíneas dos EUA, efetuado por (FONTES-PUEBLA; BERNAL, 2020).

Mostrou que *Diabrotica virgifera virgifera* (Le Conte) tiveram melhor desempenho em plantas domesticadas do que em plantas ancestrais. Em uma comparação entre plantas de murtilla (*Ugni molinae* Turcz) silvestres e cultivadas foi demonstrado que larvas de *Chilesia rudis* (Butler) (Lepidoptera: Arctiidae) foram mais eficientes no consumo de plantas cultivadas quando ao consumo de plantas domesticadas, apesar de interferências ambientais terem ocorrido neste trabalho

(CHACÓN-FUENTES et al., 2017). Em trabalho com plantas de chayia (*Cnidoscolus aconitifolius*) selvagens e domesticadas (SOLÍS-MONTERO et al., 2020) observaram que: riqueza de morfoespécies de herbívoros por planta, abundância de herbívoros por planta e a herbivoria foliar foram maiores em plantas cultivadas. Em um trabalho de meta-análise (FERNANDEZ et al., 2021) mostraram que no geral plantas cultivadas são menos resistentes com a herbivoria por insetos quando comparadas a plantas selvagens.

O processo de domesticação pode ocasionar uma diminuição na diversidade química e a perda de biodiversidade em variedades modernas de plantas (MUDGE; MURCH; BROWN, 2018), prejudicando suas defesas químicas (HERMS; MATTSON, 1992). Apesar de exemplos contrários serem conhecidos (ROWEN; KAPLAN, 2016) a domesticação geralmente resulta em uma redução nos metabólitos secundários (MEYER; DUVAL; JENSEN, 2012), voláteis e não voláteis, que atuam na defesa da planta (DENHAM et al., 2020). Quando se trata do número de voláteis percebe-se que a domesticação diminuiu o número de voláteis produzidos por plantas danificadas, indicando que embora as safras possam estar produzindo mais GLVs e sesquiterpenos, elas também perderam diversidade nos compostos sendo produzidos (ROWEN; KAPLAN, 2016). Ao avaliar a variação em compostos fenólicos em genótipos de maçã selvagens (*Malus sieversii*) e domesticados (*Malus domestica*) mostram que maçãs silvestres têm maiores concentrações fenólicas totais e uma maior diversidade de metabólitos do que maçãs domesticadas em casca, polpa e sementes.

Ocorrendo constitutivamente e / ou de modo induzido as características defensivas das plantas podem ser diretas ou indiretas (KESSLER, 2015; YANG et al., 2020), do tipo físicas e químicas (GONG; ZHANG, 2014; TURLEY; GODFREY; JOHNSON, 2013). Características de defesas como tricomas, espinhos e compostos secundários, entre outros são defesas de plantas denominadas classicamente como diretas e indiretas (ALJBORY; CHEN, 2018; GOLS, 2014). As defesas diretas são aquelas que atuam diretamente sobre a influência que está causando estresse (WAR et al., 2011). Os mecanismos de defesa direto e indiretos são alterados devido a influência da domesticação sofrida por plantas sendo estes constitutivos (KESSLER; KALSKE, 2018; RODRIGUEZ-SAONA et al., 2019) ou induzidos (MOREIRA et al., 2018). As defesas físicas diretas, as quais incluíam resistência foliar, presença de tricomas nas bordas das folhas, foram maiores em plantas em plantas de chaya

selvagens (*Cnidoscopus aconitifolius*) do que em plantas cultivadas. Além disso, a resistência ao ataque de *Helix aspersaem* em plantas de chaya (*Cnidoscopus aconitifolius*) foi maior em plantas selvagens do que em plantas cultivadas (SOLÍS-MONTERO et al., 2020). No trabalho de meta-análise efetuado por (FERNANDEZ et al., 2021) foi demonstrado que as defesas diretas de plantas se apresentaram em níveis mais elevados em plantas selvagens do que plantas cultivadas.

As características defensivas que incluem néctar extrafloral e compostos orgânicos voláteis, são conhecidas como defesas indiretas (WAR et al., 2011). Defesas indiretas causam efeito indireto sobre influência que está desencadeando estresse. No contexto da interação planta inseto esse tipo de defesa, por exemplo, atua na atração de inimigos naturais do inseto herbívoro recrutando esse inimigo natural para que ele execute o combate da praga (TAN; LIU, 2014). O trabalho de (SOLÍS-MONTERO et al., 2020). mostrou que a abundância de formigas, que exibiam comportamento defensivo nas espécies estudadas, foi maior em plantas selvagens do que em plantas cultivadas. Por intermédio de meta-análise (FERNANDEZ et al., 2021) foram capazes de mostrar que houve diferenças significativas com relação as defesas indiretas quando foram feitas comparações entre plantas cultivadas e selvagens. Esses autores verificaram que as defesas indiretas era maiores em plantas selvagens (FERNANDEZ et al., 2021).

Tanto defesas induzidas quanto constitutivas são influenciadas pela domesticação de plantas (MOREIRA et al., 2018). Defesas constitutivas poder ser influenciadas pelo processo de domesticação de plantas (COPPOLA et al., 2017; VITIELLO et al., 2021). Para as linhagens de plantas cultivadas, *Brassica oleracea* var. *Acephala* e *Brassica oleracea* var. *capitata*, (MOREIRA et al., 2018) observaram um efeito significativo da domesticação na concentração de glicosinolatos nas folhas. Esses autores mostraram que os níveis constitutivos de compostos glicosinolatos alifáticos e glicosinolatos indólicos foram significativamente mais baixos em *B. oleracea* var. *acephala* e *B. oleracea* var. *capitata* do que em plantas de repolho selvagem *Brassica oleracea* ssp. *Oleracea*. O trabalho de (PAUDEL et al., 2019) com plantas de tomate cultivadas e selvagens demonstrou que as plantas selvagens apresentaram níveis mais elevados de defesas químicas constitutivas (fenólicos totais). Além disso, com relação as de defesas induzidas, (MOREIRA et al., 2018) observaram ainda que tanto os níveis glicosinolatos indólicos quanto de glicosinolatos alifáticos, apresentaram um valor médio significativamente mais baixo

para ambas as linhagens domesticadas em relação à linhagem selvagem. O trabalho de (RODRIGUEZ-SAONA et al., 2011) no qual foram comparadas plantas selvagens e domesticadas de cranberries (*Cacccinium macrocarpon* cv BHS98-23) mostrou que defesas induzidas foram exibidas em níveis menos elevados em plantas domesticadas. (TAMIRU et al., 2011) ao trabalhar com variedades tradicionais e híbridos de milho observou que a emissão de HIPVs devido a deposição de ovos da broca do caule *Chilo partellus* é capaz de atrair as vespas parasitóides tanto de ovos *Trichogramma bournieri* Pintureau (Hymenoptera: Trichogrammatidae) quanto de larvas *Cotesia sesamiae* Cameron (Hymenoptera: Braconidae) e esses mecanismos se mostraram ausentes nas variedades comerciais de milho híbrido.

2.16.1 O processo de domesticação e os COVs de plantas

Os COVs podem ser liberados pela planta constitutivamente ou podem ser induzidos após o ataque de insetos e exercerem ação direta e/ou indireta na interação inseto planta (PINTO-ZEVALLOS et al., 2013; VILLAMAR-TORRES et al., 2018). Esses COVs que podem atuar na comunicação das plantas (NINKOVIC; MARKOVIC; RENSING, 2021) influenciando suas defesas seja pela influência na comunicação entre plantas vizinhas (COPPOLA et al., 2017; SUGIMOTO et al., 2014) seja pelo recrutamento de inimigos naturais do inseto atacante (VITIELLO et al., 2021) . A liberação de COVs pode ser influenciada por diferentes linhagens de plantas (DEGEN et al., 2012; LI et al., 2018) e a domesticação pode ter um papel ainda mais relevante na emissão desse compostos voláteis (GOLS et al., 2011). Coll-Aráoz et al., (2020) ao trabalharem com uma raça local de milho, “maizón” (SWM), e dois híbridos, P1780YR (temperado), P30B39HR (tropical), analisaram os voláteis liberados após o ataque de *Dalbulus maidis* por essas plantas e encontramos diferenças significativas entre elas quanto à quantidade e qualidade dos compostos liberados. Com relação a quantidade de voláteis estes autores contataram que a quantidade produzida pela raça tradicional de milho foi cerca de 6 vezes maior em comparação com a quantidades de voláteis induzidos nos exemplares de milho híbrido após a herbivoria. Nesse mesmo trabalho os autores mostraram que as fêmeas de *D. maidis* foram capazes discriminar os odores de mudas saudáveis e atacadas apenas na raça tradicional (SWM), preferindo as plantas saudáveis, não sendo capazes de discriminaram entre os híbridos saudáveis e atacados. Além disso, os autores

descobriram ainda que a atração da vespa parasitóide *Anagrus virlai* (Hymenoptera: Mymaridae) pelo seu hospedeiro foi maior nas plantas infestadas da raça tradicional (SWM) do que nos híbridos (COLL-ARÁOZ et al., 2020).

Após sofrer herbivoria por ataque de inseto, plantas são capazes de recrutar inimigos naturais da praga e esses predadores/parasitóides ajudam a planta a combater o ataque efetuado pelo inseto praga, fatos que caracterizam as interações tritróficas (TURLINGS; ERB, 2018), porém devido ao processo de domesticação as plantas tiveram sua capacidade de recrutar inimigos naturais dos herbívoros prejudicadas (CHEN et al., 2015). Havia sido demonstrado anteriormente que (E)- β -cariofileno, um metabólito envolvido em defesas indiretas de plantas contra o ataque insetos herbívoros (HUANG et al., 2013), pode atrair inimigos naturais desses insetos, sejam vespas parasitóides (VITIELLO et al., 2021) ou nematóides entomopatogênicos subterrâneos (RASMANN et al., 2005), acima e abaixo do solo respectivamente. Este metabólito deixou de ser expresso em variedades de milho prejudicando mecanismos de defesa indireta dessa cultura (KÖLLNER et al., 2008).

2.16.2 O processo de domesticação de plantas e a relação especialização alimentar dos insetos

Com relação a especialização alimentar dos insetos sabe-se que normalmente, os herbívoros generalistas têm melhor desempenho em plantas domesticadas em comparação com seus parentes selvagens devido a uma redução nos metabólitos secundários (GAILLARD et al., 2018). Para espécie generalista *Helicoverpa zea* trabalho com plantas de tomates cultivadas e selvagens, observou-se que estes insetos apresentaram melhor desempenho em plantas cultivadas não danificadas (PAUDEL et al., 2019). Ao avaliarem o desempenho de dois herbívoros generalistas economicamente importantes - a lagarta-do-cartucho da beterraba (*Spodoptera exigua*) e o pulgão-do-pessegueiro verde alimentador do floema (*Myzus persicae*) - em 29 espécies de cultivo e seus parentes selvagens descobriram que a domesticação reduziu a resistência a um herbívoro mastigador de folhas generalista (TURCOTTE; TURLEY; JOHNSON, 2014). (GAILLARD et al., 2018) trabalharam com plantas de milho domesticadas e selvagens. Esses autores usaram essas plantas na alimentação de pragas especialistas e generalistas para esta cultura e observaram

que tanto os insetos especialistas quanto os generalistas tiveram melhor desempenho quando foram alimentados com plantas cultivadas.

O efeito da domesticação pode ser distinto para insetos pertencentes a guildas alimentares distintas. Como exemplo.: Ao avaliarem os efeitos da domesticação de mirtilos (*Vaccinium corymbosum*) sobre o desempenho de dois herbívoros mastigadores (*Sparganothis sulfureana* (Clemens) e *Lymantria dispar* L.), e um herbívoro perfurador-sugador (*Illinoia azaleae* (Mason)) (HERNANDEZ-CUMPLIDO et al., 2018) observaram que *Lymantria díspar*, inseto mastigador, teve um melhor desempenho (apresentaram: menor mortalidade, maior ganho de peso e maiores percentuais de danos foliares) no mirtilo cultivado. O segundo inseto mastigador *Sparganothis sulfureana* apresentou também maior ganho de peso em plantas cultivadas. Não houve diferença significativa no desempenho do especialista *Illinoia azaleae* sob influência de plantas cultivadas ou selvagens (HERNANDEZ-CUMPLIDO et al., 2018).

2.17 Metabolômica e a interação planta-inseto

Em semelhança com as outras ciências “ômicas”, a metabolômica necessita de um auxílio da bioinformática para sistematização e avaliação dos dados pois baseia-se numa grande quantidade de informação do indivíduo analisado. Metabolômica é o estudo que visa analisar qualitativamente e quantitativamente o conjunto de metabólitos que podem ser produzidos ou modificados por um determinado organismo. O metaboloma é um dos termos base da metabolômica, que é definido como a identificação parcial ou completa de pequenas moléculas presentes em um organismo, sendo essas moléculas pertencentes as classes de metabólitos primários e secundários que podem ser biomarcadores de uma determinada característica do organismo envolvido no estudo (ALLWOOD; ELLIS; GOODACRE, 2008; SAITO; DIXON; WILLMITZER, 2006)

O uso de metabolômica em estudos de interação inseto-planta tem se tornado de suma importância para a identificação e quantificação de metabólitos produzidos em resposta ao ataque de herbívoros (KIM; VERPOORTE, 2010). Nesse sentido metabólitos secundários constituem numa fonte potencial para a geração de plantas resistentes (HONG et al., 2016).

Metabólitos têm um grande potencial como marcadores de desempenho de plantas porque contêm mais informações em certos cenários e dão uma imagem mais realista do desempenho real da planta do que os marcadores moleculares (FERNANDEZ et al., 2016). Marti et al., (2013) estudaram o metaboloma de folhas e raízes de milho após 24 horas e 48 horas sob herbivoria de lagartas de *Spodoptera littoralis* e os seus resultados mostraram que em ambas as partes da planta houve um total de 32 metabólitos em resposta ao estresse causado pelo inseto.

Em estudos de interação planta-patógeno, a metabolômica pode desvendar rotas sequestradas por patógenos e prever mecanismos de resistência. López-Gresa e colaboradores (2010) identificaram diversos metabólitos induzidos pelo tomateiro quando este interagia com o patógeno *Pseudomonas syringae* pv. Lee e colaboradores (2016) trabalhando com patógeno *Gymnosporangium asiaticum* verificaram quais as alterações metabólicas causadas pelo parasitismo deste patógeno com as plantas da família Rosacea. LEISS e colaboradores (2009), através do uso combinado de bioensaios in vitro e bioensaios in vivo com análise metabolômica por RMN, foram capazes de mostrar que o ácido clorogênico e outros fenólicos estavam envolvidos na resistência aos tripses das flores ocidentais no crisântemo.

Trabalhando com variedades de mudas de tomates resistentes e susceptíveis a trips Mirnezhad et al. (2010) avaliaram a resistência destas variedades em resposta a herbivoria. Nesse trabalho foram identificados acil-açúcares que são causadores de efeitos negativos em insetos como resposta das plantas resistentes.

Steinbrenner et al. (2011) caracterizaram a resposta metabólica do tomate após 24 horas sob herbivoria de duas espécies de lagartas, no qual analisaram por espectrometria de massas amostras de folhas, raízes, caule e o topo das plantas controle e das plantas danificadas identificando. Além disso, compostos fenólicos como tirosina, fenilalanina e ácido caféico e aminoácidos precursores de metabólitos de defesa foram identificados após 24 horas sob herbivoria de duas espécies de lagartas em tomates, por Steinbrenner et al. (2011).

2.17.1 Metabolômica em estudos com cana-de-açúcar

Nas plantas, a metabolômica tem sido aplicada para caracterizar variedades geneticamente modificadas e identificar respostas relacionadas a estresses bióticos e abióticos (Carreno-Quintero et al., 2013).

Em cana-de-açúcar a metabolômica tem sido utilizado em diferentes campos: Na determinação perfis relacionados ao acúmulo de sacarose. Bosch et al., (2003) trabalhando com colmos maduros e imaturos foi capaz de identificar perfis metabólicos diferentes produzidos por esses dois tecidos. Glassop et al., (2007) trabalhando amostras de colmos de diferentes idades de uma cultivar de cana-de-açúcar foi capaz de identificar diferenças no perfil metabólico com relação a acumulação de sacarose e quais os metabólitos estavam correlacionados com essa acumulação. Na avaliação de genótipos com diferentes graus de suscetibilidade à doença da ferrugem alaranjada. Leme et al., 2014 trabalhando com cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD) estudaram o metaboloma de duas diferentes cultivares de cana de açúcar (IAC 110 95-5000 e SP 89-1115) com diferentes suscetibilidades à doença da ferrugem alaranjada e foram capazes de determinar que o metabólito luteolina-8-C-glucosídeo estava envolvido na resistência da cultivar IAC 95-5000 a essa doença.

Na exploração da diversidade genética em cana de açúcar Coutinho et al., (2016) usando técnicas de RMN e HPLC identificaram diversos metabólitos em folhas de 13 diferentes genótipos de cana, dentre os identificados estavam açúcares, ácidos orgânicos e aminoácidos, metabólitos que apresentam atividade contra o ataque de insetos, incidência de doenças. Os autores argumentam que o seu trabalho pode ser integrado a dados transcriptômicos e proteômicos em estudos futuros para entender como estresses bióticos e abióticos são regulados por metabólitos ou para selecionar genótipos potenciais para produção de novos compostos além da sacarose. Em trabalho com variedades transgênicas de cana de açúcar Lira (2010) avaliou seu perfil metabólico e os comparou com os perfis das variedades controle por ressonância magnética nuclear RMN, HPLC, e concluiu que houve discriminação entre grupos formados pelas plantas transgênicas e plantas do controle que ocorreu por conta de diferenças nos níveis de plantas transgênicas houve um aumento dos níveis de açúcares, ácidos orgânicos aminoácidos, flavonoides e fenilpropanóides.

Sabino e colaboradores 2017 trabalhando com duas variedades de cana-de-açúcar (RB92579 e SP791011) sendo a SP791011 a mesma trabalhada no presente trabalho realizou o metaboloma de das duas variedades de cana-de-açúcar através

dos métodos de extração direto e indireto na resposta a herbivoria por *Diatraea saccharalis*, utilizando espectroscopia de RMN, e processamento e estatística dos dados pelos métodos de análise de componentes principais (PCA) e análise dos mínimos quadrados parciais-análise discriminante (OPLS-DA). Com relação a variedade de cana-de-açúcar SP 79 1011, aplicou-se o método de extração indireto as folhas da planta nos tempos 24, 48 e 72 horas sob estresse induzido pelas lagartas de *Diatraea saccharalis* apresentando no tempo 72 horas o maior número de metabólitos de resposta a herbivoria, o que causou numa redução dos níveis de ácido cis e trans aconítico, ácido fórmico, asparagina, alanina e no aumento dos níveis de ácido acético e ácido clorogênico. Apesar de fornecerem perfis metabólicos diferentes em resposta a herbivoria, os metabólitos elucidados sugerem a via metabólica do ácido chiquímico devido ao aumento de tirosina, fenilalanina nas folhas da cana-de-açúcar da variedade RB92579, e aumento do ácido clorogênico nas folhas da cana-de-açúcar da variedade SP791011.

Albuquerque e colaboradores (2015) aplicaram a metabolômica utilizando espectroscopia de RMN para avaliar a influência da ação conjunta de duas estirpes de RPCPs (*Gluconacetobacter diazotrophicus* e *Azospirillum* sp) no metaboloma de plantas de cana-de-açúcar da variedade SP 79-1011. Nesse trabalho foram encontrados em concentração nas plantas inoculadas, carboidratos, compostos aromáticos, aminoácidos e ácidos orgânicos, já em plantas do controle os compostos foram em maior concentração foram aminoácido e intermediários do ciclo de Krebs.

3 HIPOTESE

O impacto da domesticação das plantas no ataque de insetos e surgimento de novas pragas tem sido objeto de recente discussão. Plantas sujeitas a seleção artificial têm perdido caracteres de defesa, especialmente quando a seleção é realizada buscando-se aumento de produtividade e facilidade de colheita (PALMGREN et al., 2015). Portanto, plantas selvagens ou variedades mais rústicas são uma promissora fonte de características que podem ser utilizadas para tornar as cultivares capazes de suportar o ataque de insetos e inclusive outras condições de estresse (TAMIRU; KHAN; BRUCE, 2015).

4 JUSTIFICATIVA

A crescente demanda mundial para a produção de energias renováveis em substituição aos combustíveis fósseis tem dado grande destaque à cana-de-açúcar (*Saccharum sp.*), pois esta é atualmente considerada a cultura mais eficiente para a produção de energia (MATSUOKA et al., 2014)

As pragas mais importantes da cultura são as brocas da ordem Lepidoptera, sendo a principal delas a *Diatraea saccharalis*, que, apesar do desenvolvimento e atual utilização de vários métodos de controle (pesticidas e controle biológico), continua causando os principais problemas. As pragas dessa ordem causam prejuízos diretos e indiretos para a cultura (KESSLER; BALDWIN, 2002). Estimando em números, a broca da cana-de-açúcar é responsável por perdas econômicas de até 20% em todos os locais de cultivo no mundo. No Brasil, estudos realizados pelo Centro de Tecnologia Canavieira (CTC) demonstram que ela ocorre em cerca de oito milhões de hectares causando um prejuízo de aproximadamente 370 (R\$/ha/ano) totalizando até 2,9 bilhões de reais (CTC, 2013). A presença simultânea do inseto em todos os estágios de desenvolvimento durante a maior parte do ano e a localização das larvas e pupas dentro da planta tornam o seu controle bastante difícil. Diversos métodos têm sido aplicados para contornar este problema, tais como o uso de inseticidas, controle biológico utilizando o parasitóide *Cotesia flavipes* e sistemas de manejo, no entanto a resistência de plantas poderia ser uma das formas mais efetivas para o controle de insetos. Para o desenvolvimento de variedades resistentes, é essencial identificar, caracterizar e categorizar novas fontes de resistência.

Uma série de trabalhos vem sendo desenvolvidos para compreender as respostas da cana-de-açúcar à herbivoria. A partir do projeto SUCEST (Banco de ESTs de cana-de-açúcar), e de outros trabalhos estudando a defesa em nível de transcrição, grande quantidade de informação sobre genes ortólogos de proteínas envolvidas na resposta direta e indireta ao ataque de insetos herbívoros vem sendo gerada. Apesar disso, há poucos trabalhos que demonstram o mecanismo de resposta direta e indireta na defesa de cana-de-açúcar. Resultados preliminares demonstram que, sob herbivoria, plantas de cana-de-açúcar emitem um terpeno volátil que exerce forte atração ao inimigo natural *Cotesia flavipes*. Além disso, identificou-se que sob herbivoria, plantas de cana-de-açúcar aumentam a biossíntese de alguns compostos fenólicos na parte aérea e de benzoxazinóides nas raízes, todos estes já descritos

como metabólitos de defesa em outras espécies (Sabino, et al., 2019; Riffel et al., 2021). A reintrodução ou o aumento da expressão destas características poderia potencialmente promover resistência em cana-de-açúcar, reduzindo a utilização e dependência atual de insumos, principalmente inseticidas. Portanto o conjunto de atividades a serem executadas se propõem a explorar a diversidade química existente dentro da coleção de acessos do complexo *Saccharum* com o intuito de encontrar plantas que resguardem fontes de resistência química contra o ataque de insetos e com isso fornecer subsídios para os programas de melhoramento genético de cana-de-açúcar para o desenvolvimento de cultivares resistentes a *D. saccharalis* e assim gerar ganhos de produtividade com a diminuição do uso de insumos.

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo geral

Caracterizar quimicamente acessos quanto a resistência a *D. saccharalis* e identificar os metabólitos responsáveis por essa resistência para aplicação em Programas de Melhoramento Genético.

5.2 Objetivos específicos

Realizar bioensaios de antibiose com *Diatraea saccharalis* frente aos acessos SP79 1011, US 721319, IJ 76414 e IJ 76361.

Realizar bioensaios de antixenose com *D. saccharalis* frente aos acessos SP79 1011, US 721319, IJ 76414 e IJ 76361.

Classificar acessos de cana-de-açúcar quanto a susceptibilidade a *D. saccharalis*.

Entender a influência da infestação de *D. saccharalis* e da variedade no metabolismo das folhas plantas.

Entender a influência da infestação de *D. saccharalis* no metabolismo do colmo do acesso SP79 1011.

6 MATERIAL E MÉTODOS

6.1 Material vegetal, obtenção e manutenção das plantas.

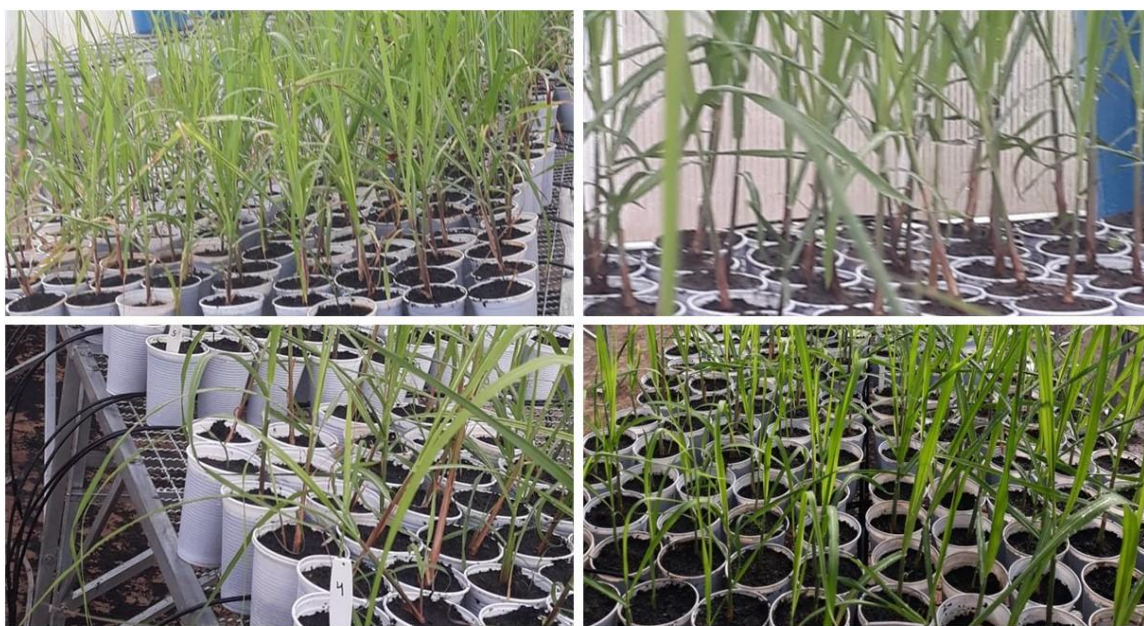
Todos os acessos usados nos experimentos são oriundos do Banco de germoplasma da EMBRAPA Tabuleiros Costeiros- Aracajú - Sergipe. Ao todo foram utilizados 12 acessos, descritos na tabela 1.

Tabela 1 Acessos caracterizados oriundos do banco ativo de germoplasma (BAG) EMBRAPA.

Número no BAG	Gênero	Espécie	Variedade
27	<i>Saccharum</i>	<i>Sp</i>	SP 791011
94	<i>Saccharum</i>	<i>Robustum</i>	NG 57 024
95	<i>Saccharum</i>	<i>Hybrid</i>	US 67-22-2
109	<i>Saccharum</i>	<i>Robustum</i>	IJ 76-414
113	<i>Miscanthus</i>	<i>sp.</i>	Fiji_10
114	<i>Miscanthus</i>	<i>sp.</i>	Fiji_15
117	<i>Erianthus</i>	<i>Arundinaceus</i>	IJ76-358
120	<i>Erianthus</i>	<i>Arundinaceus</i>	IJ76-381
30	<i>Sccharum</i>	<i>Sp.</i>	Rb95 1541
122	<i>Saccharum</i>	<i>Officinarum</i>	IJ76-361
126	<i>Saccharum</i>	<i>Officinarum</i>	KHAJURIA
128	<i>Saccharum</i>	<i>Spontaneum</i>	US72_1319

O material vegetal foi propagado a partir de toletes de aproximadamente 5 cm de comprimento contendo uma gema cada. Após o seccionamento, os toletes foram plantados através de propagação de entrenós, cultivadas em copos plásticos de 500 mL contendo substrato a base de fibra de coco (Bioplant Nova Ponte, Minas Gerais, Brasil), com irrigação manual e mantido em casa de vegetação sob condições de temperatura 27 ± 2 °C e umidade relativa 70%. Para todos os experimentos as plantas tinham entre 60 e 70 dias de cultivo.

Figura 10-Mudas de cana-de-açúcar na casa de vegetação.



(Foto: Oliveira, 2021)

6.2 Avaliação da divergência genética existente entre acessos do BAG por meio de características agronômicas

O trabalho foi conduzido no campo experimental da Embrapa Tabuleiros Costeiros (CPATC), localizado em Nossa Senhora das Dores, SE. Foram avaliados 12 acessos pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma do Complexo Saccharum (BAGCana), mantido pelo CPATC, sendo dois genótipos de cada uma das espécies *Erianthus arundinaceus*, *Miscanthus* sp., *Saccharum officinarum*, *S. robustum*, e *S. spontaneum*, além das variedades comerciais RB 951541 e SP 79-1011. O ensaio foi instalado no delineamento de blocos ao acaso com três repetições e parcelas constituídas de três linhas de quatro metros, espaçadas em 1,5 m, sendo considerando área útil a linha central. O experimento foi conduzido com irrigação suplementar e por ocasião da colheita, realizada 12 meses após o plantio, foram avaliados os caracteres altura de plantas (AP), comprimento (CF) e largura (LF) da folha +3, diâmetro de colmos (DC), números de folhas verdes (FV), secas (FS) e de perfilhos por metro, área foliar de perfilho, índice de área foliar, produção de massa fresca (PMF) e seca (PMS). Na estimação de divergência entre acessos foi utilizada a distância de Mahalanobis. Para agrupamento dos genótipos foi empregado o método de Tocher.

6.3 Obtenção e manutenção da *D. Saccharalis*

Os insetos foram obtidos junto a Fitoagro Controle Biológico LTDA situada na Rodovia AI 101 Norte, 507, Ipioca, Maceió – AL. Para todos os experimentos foram utilizadas *D. saccharalis* de terceiro instar (12 dias após a eclosão). Para os bioensaios com e sem chance de escolha foram utilizadas as lagartas as quais foram mantidas no laboratório de pesquisa em recursos naturais na UFAL em tubos de vidro com dieta artificial em sala climatizada à 25 ± 2 °C e 70 ± 10 % UR, porém, pelo menos 24 horas antes do experimento, as lagartas foram retiradas da alimentação e foram mantidas em recipientes de vidro contendo somente algodão umedecido em água destilada. A privação de alimentação foi utilizada para garantir que as lagartas brocassem a cana durante os experimentos.

6.4 Metabolômica do colmo da variedade SP 79 1011

Para os experimentos foram utilizadas 20 plantas de cana-de-açúcar variedade SP 79 1011. Dez plantas dessa variedade foram submetidas a herbivoria com lagartas de *D. saccharalis* pelo confinamento da lagarta ao colmo e outras dez plantas foram usadas como controle. As plantas sob herbivoria foram infestadas com 3 larvas para garantir a brocação. Ao menos 24 horas antes do experimento, as lagartas foram retiradas da alimentação e foram mantidas em recipientes de vidro contendo somente algodão umedecido em água destilada. As lagartas utilizadas eram de terceiro instar.

Respeitou-se um período de 96 horas de experimento e após o término desse período o colmo da cana foi então coletado para posterior análise metabolômica por RMN. A coleta do colmo foi realizada utilizando-se tesoura higienizada com álcool 70%. A higienização foi feita antes do corte das amostras de cada tratamento. Após o corte cada amostra foi acondicionada em papel alumínio e imediatamente congelada em nitrogênio líquido. Após esse procedimento as amostras foram armazenadas em ultrafreezer a -80°C até o uso.

6.5 Bioensaio sem chance de escolha com acessos do BAG para o estabelecimento do intervalo de tempo de avaliação adequado

Para o bioensaio com um intervalo de avaliação de 5 dias foram utilizadas 5 plantas, IJ76-381 *Eriantus arundinaceus*, NG 57-024 *Saccharum robustum*, IJ76-358 *Eriantus arundinaceus*, Fiji 10 *Miscantus sp* e Fiji 15 *Miscantus sp*. Para o bioensaio com um intervalo de avaliação de 10 dias foram utilizadas 5 plantas, Fiji 10 *Miscantus sp*, Khajuria *Saccharum officinarum*, 76-414 *Saccharum robustum*, NG 57-024 *Saccharum robustum* e SP 79 1011 *Saccharum sp*. Para o bioensaio com um intervalo de avaliação de 15 dias foram utilizadas 5 plantas, Fiji 10 *Miscantus sp*, US 67-22-2 *Saccharum hibido*, US 72 1319 *Saccharum spontaneum*, IJ76-358 *Eriantus arundinaceus* e IJ76-381 *Eriantus arundinaceus*. Devido a problemas com a germinação das plantas não foi possível trabalhar com todos os acessos ao mesmo tempo em cada um dos períodos de avaliação.

As lagartas de *D. Saccharalis* eram de terceiro ínstar e foram previamente pesadas e posteriormente confinada ao colmo de cada planta durante os três períodos de avaliações distintos (Figura 11) sendo colocada uma lagarta por planta. Ao menos 24 horas antes do experimento, as lagartas foram retiradas da alimentação e foram mantidas em recipientes de vidro contendo somente algodão umedecido em água destilada. Ao final do período do bioensaio as lagartas foram novamente pesadas afim de avaliar o ganho de peso.

Figura 11-Confinamento da *D. saccharalis* no colmo das plantas (teste sem chance de escolha)



(Foto: Oliveira, 2021)

6.6 Bioensaio sem chance de escolha com os com intervalo de 10 dias e os 12 acessos do BAG para avaliação da performance larval

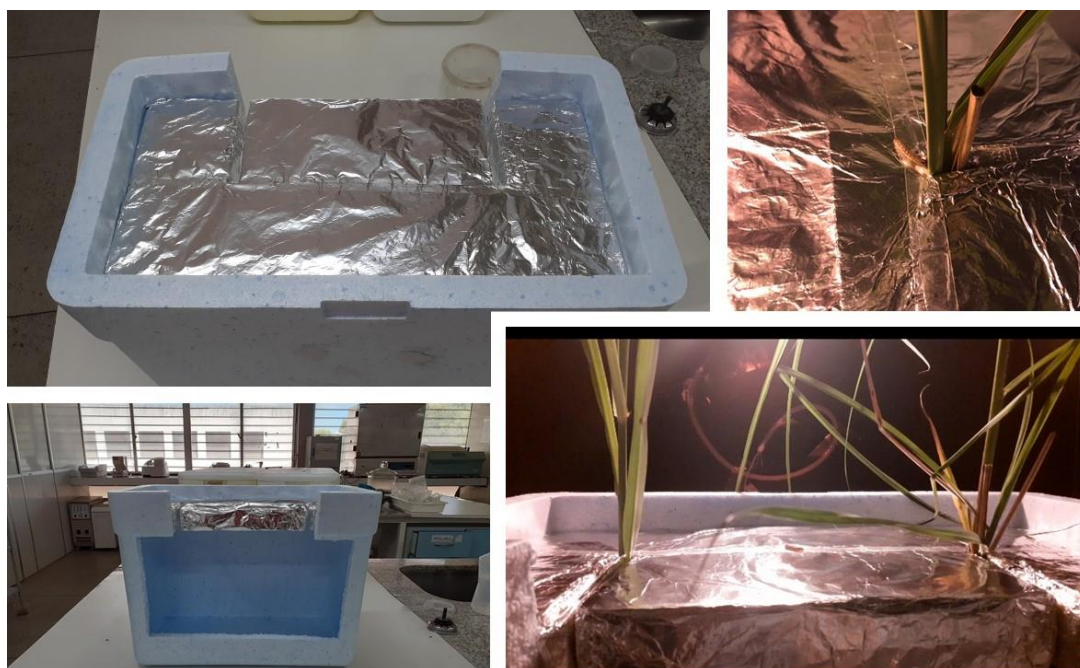
O bioensaio foi efetuado após a verificação de que o período de avaliação de 10 dias era o ideal. Foram utilizadas 10 plantas de cada um dos 12 acessos disponíveis e em cada uma dessas plantas uma lagarta foi confinada. As *D. Saccharalis* eram de terceiro ínstar e foram previamente pesadas e posteriormente confinadas ao colmo de cada plantas durante 10 dias sendo uma lagarta por planta. Ao menos 24 horas antes do experimento, as lagartas foram retiradas da alimentação e foram mantidas em recipientes de vidro contendo somente algodão umedecido em água destilada. Ao final do período do bioensaio as lagartas foram novamente pesadas afim de avaliar o ganho de peso e as folhas de cada planta foram coletadas e congeladas.

A coleta das folhas foi realizada utilizando-se tesoura higienizada com álcool 70%. A higienização foi feita antes do corte das amostras de cada tratamento. Após o corte cada amostra foi acondicionada em papel alumínio e imediatamente congelada em nitrogênio líquido. Após esse procedimento as amostras foram armazenadas em ultrafreezer a -80°C até o uso para análise metabólica por RMN.

6.7 Bioensaio com chance de escolha (Antixenose)

O comportamento de preferência da *D. saccharalis* pela planta hospedeira foi investigado utilizando uma arena na qual havia a possibilidade de escolha entre dois acessos. Um dos acessos usados foi SP79 1011, padrão de susceptibilidade, ao qual os demais acessos foram confrontados. As comparações efetuadas foram SP79 1011 e IJ76 361, SP79 1011 e IJ76 414 e SP79 1011 e US72 1319. A arena de consistiu em uma estrutura de isopor em formato de cubo revestida com folhas de alumínio. Duas aberturas circulares na base foram construídas para que as plantas fossem cuidadosamente inseridas para evitando-se assim que fossem danificadas, de modo que a base do colmo ficou na altura da base do cubo (Figura 12).

Figura 12-Arena com as plantas dos dois tratamentos para o bioensaio com chance de escolha



(Foto: Oliveira, 2021)

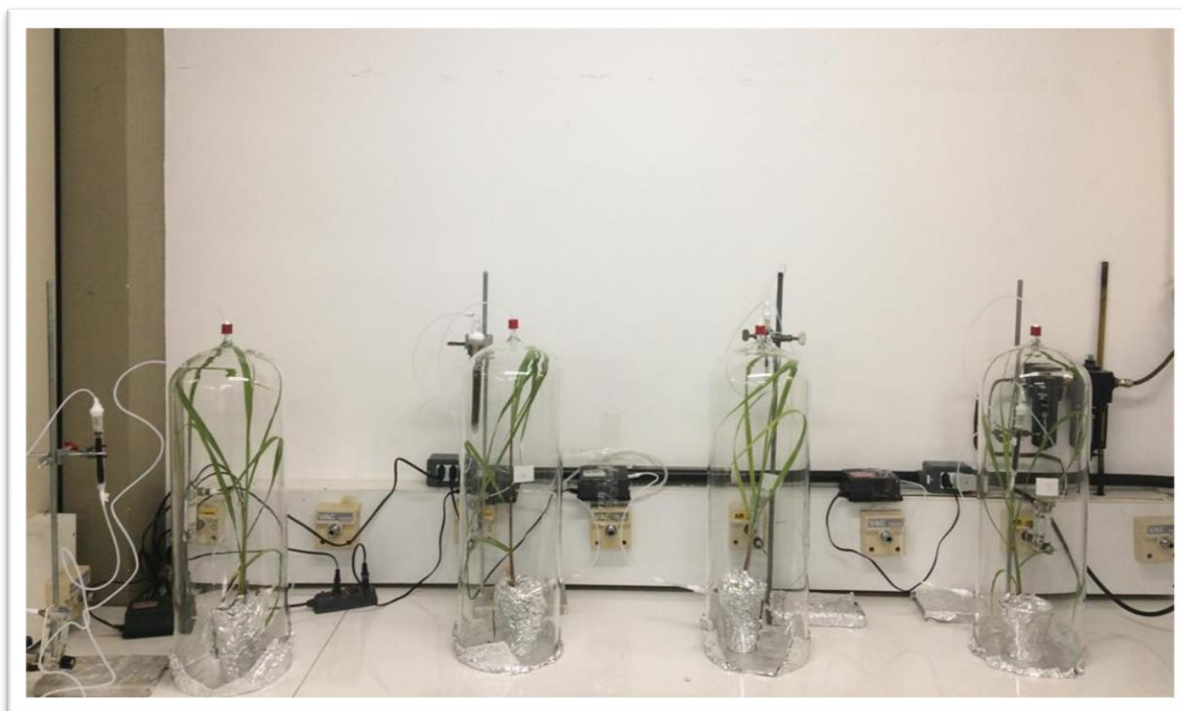
As lagartas de *D. saccharalis* eram de terceiro íntar foram liberadas no centro da arena apenas uma lagarta por vez. Após a avaliação da preferência de cada lagarta avaliado a arena era higienizada com etanol 70%. A cada três lagartas avaliadas as plantas eram trocadas. O período de avaliação permitido para as escolhas foi de 10 minutos para cada lagarta. Quando não havia escolha, as lagartas eram retiradas da

arena e era realizada higienização da arena. Esse bioensaio foi realizado com um total de vinte repetições, utilizando-se assim vinte plantas de cada acesso.

6.8 Coleta dos compostos orgânicos voláteis dos acessos.

As plantas utilizadas para coleta dos COVs apresentavam entre trinta a sessenta e cinco dias de cultivo. Foram usadas plantas sem infestação para o tratamento controle e plantas infestadas com três lagartas de *D. saccharalis*, para o tratamento infestado. Para as coletas dos COVs foi utilizado o adsorvente Porapak Q (Etilvinilbenzeno-divinilbenzeno com o mesh 50/80 Supelco Inc., Bellefonte, PA 16823 Estados Unidos). As plantas foram acondicionadas dentro de câmaras de vidro e seus vasos foram cobertos com papel alumínio para o isolamento dos compostos provenientes do solo como descrito por (STEWART-JONES; POPPY, 2006) com adaptações (Figura 11). Ar filtrado com carvão ativo foi injetado através de uma bomba em um fluxo de 600 mL/min, ao mesmo tempo que uma bomba de vácuo sugava o ar passando através do “trap” a uma razão de 400 mL/min. As coletas foram realizadas por um período de 48 horas e em três repetições por tratamento. Ao término das aerações, a dessorção dos compostos foi realizada utilizando 500 µL de hexano bidestilado pelos traps contendo os voláteis, e as amostras foram armazenadas a -20 C^o até a análise.

Figura 13-Coleta COVs dos acessos do BAG EMBRAPA



(Foto: Oliveira, 2021)

6.9 Análises dos compostos orgânicos voláteis (COVs)

As amostras obtidas através das aerações foram analisadas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM). As amostras foram injetadas no CG/EM modelo 2010 PLUS, Shimadzu, em uma coluna Nist-01 (100% Dimetilpolisiloxano) com (30 m, d. 0,25 mm). As condições do método usado foram as seguintes: injetor com a temperatura 200 °C no modo Splitless (sem divisão de fluxo), o hélio foi utilizado como gás de arraste. A coluna iniciando com 50 °C por 5 minutos, seguido por gradiente de 8 °C/min até atingir 250 °C, que foi mantido por 5 minutos. A fonte de ionização utilizada foi impacto eletrônico (EI) com 70 eV (elétrons-volts), com a temperatura do detector “ion source” de 200 °C. A temperatura da interface foi de 250 °C, os valores de fragmentação registrados foram Scan de 35 m/z até 300 m/z.

A identificação dos compostos foram realizadas pela comparação de seus tempos de retenção e seus índices de retenção linear (LRIs) foram determinados e calculados pela injeção de uma solução padrão saturada de n-alcanos (C7-C30) a 1.000 µg / mL em hexano de HPLC (Supelco , Bélgica), seguindo a definição de (VAN DEN DOOL, H., & DEC. KRATZ, 1963). Os espectros de massa de cada composto

foram analisados e comparados com os espectros das bibliotecas comerciais (NIST 08s; NIST 27; NIST 147 e WILEY 229).

6.10 Extração dos metabólitos solúveis do colmo

Os colmos coletados das plantas de cana-de-açúcar foram macerados em nitrogênio líquido e liofilizados, sendo, a seguir armazenados em ultrafreezer -80 °C até o processo de extração. Para extração dos metabólitos presentes no colmo transferiu-se 50 mg do material macerado para um tubo tipo eppendorf de 2 mL, e, em seguida adicionou-se 995 µL de metanol-d4 e 5 µL de tampão fosfato em água deuterada pH = 6.0 contendo 0.01% de sal de sódio do ácido trimetilsililpropiónico (TSP). Este material foi mantido em ultrassom por 20 minutos sendo a seguir centrifugado por 15 minutos a 12000 rpm. O sobrenadante foi coletado para as análises de ressonância magnética nuclear (RMN).

6.11 Análises por ressonância magnética nuclear (RMN) das folhas dos acessos obtidos do bioensaio de antibiose, do extrato do colmo do acesso SP79 1011 e estatística multivariada

Para análise das folhas, dentre os doze acessos utilizados em nosso estudo, foram escolhidos quatro para realização do estudo metabolômico: os acessos US72 1319, IJ76 414, IJ76 361 e o padrão de susceptibilidade SP 79 1011 (susceptível a *D. saccharalis* no campo). Para coleta do material foram utilizadas plantas sem infestação (tratamento controle) e plantas com infestação (tratamento infestado), a infestação foi realizada utilizando três lagartas por planta. De modo semelhante para o colmo foram utilizadas plantas sem infestação (tratamento controle) e plantas com infestação (tratamento infestado), a infestação foi realizada utilizando três lagartas por planta.

Ao menos 24 horas antes do experimento, as lagartas foram retiradas da alimentação e foram mantidas em recipientes de vidro contendo somente algodão umedecido em água destilada. As lagartas eram de terceiro instar e foram confinadas às plantas em gaiolas e por um período de 48 horas para os acessos dos quais as

folhas foram coletadas e de 120 horas para o acesso SP79 1011 do qual o colmo foi coletado.

O tecido das plantas (folhas o colmo) foram coletadas utilizando-se tesoura desinfetada após o uso em cada uma das plantas com etanol 70% e imediatamente congelados com nitrogênio líquido. Posteriormente o tecido era armazenado em freezer a temperatura de -80°C até a execução do processo de maceração. O tecido foi macerado usando nitrogênio líquido e liofilizadas, sendo posteriormente novamente armazenado em freezer a temperatura de -80°C , até o processo de extração.

A extração foi realizada de acordo com a metodologia desenvolvida por (KIM; CHOI; VERPOORTE, 2010) adaptada para este estudo a partir de resultados obtidos de comparações entre diferentes métodos de extração realizados por Sabino, (2017). Foram transferidos 50 mg do tecido liofilizado (folha ou colmo) para um tubo tipo eppendorf de 2 mL e, em seguida adicionou-se 500 μL de metanol – d_4 (Cambridge Isotope Laboratories) e 500 μL de tampão fosfato em água deuterada pH = 6.0 contendo 0.01% de sal de sódio do ácido trimetilsilil propiônico (TSP) (Cambridge Isotope Laboratories). Em seguida, o material foi submetido a ultrassom por 20 minutos, centrifugado por 15 minutos a 5000 rpm e coletado o sobrenadante para a análise de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) (KIM; CHOI; VERPOORTE, 2010; SABINO, 2017).

Para os metabólitos solúveis das folhas os espectros de RMN foram analisados a 20°C em espectrômetro Bruker AVANCE operando a 600 MHz na frequência do hidrogênio. O MeOD- d_4 foi usado para o chaveamento do campo magnético ("lock"). As sequências de pulsos de pré-saturação NOESYGPPR, ZGPR e ZGCPPR foram usadas para otimização das análises metabolômica e cada espectro de RMN-1H foi realizado com 64 pulsos (10min e 26 s), o tempo de aquisição = 2,72 s, largura espectral = 16 ppm, tamanho do fid = 32K, largura de pulso (P1) de 30° (10,5 μs) e atraso de relaxamento (delay-d1) de 2 s. O experimento J-resolvido foi adquirido com 32 pulsos por 8192 x 128 pontos, largura espectral = 5.208 KHz e 60 Hz acoplamento spin-spin e atraso de relaxamento= 1,5 s. O experimento COSY 1H-1H foi realizado com 32 pulsos por 2048 x 512 pontos, largura espectral = 13 ppm em ambas as dimensões com o d1 = 1,5 s. O experimento TOCSY 1H-1H foi realizado com 32 pulsos por 2048 x 512 pontos, largura espectral = 13 ppm em ambas as dimensões com o d1 = 1,5 s e tempo de mistura (d8) = 500 ms. Os experimentos HMBC 1H-13C e HSQC EDITADO 1H-13C foram realizados com 64 pulsos por 4,096 x 512 pontos,

largura espectral = 5208 KHz para 22,149 KHz ^1H e do ^{13}C com $d_1 = 1,5$ s. Os espectros foram processados com o emprego do software TopSpin versão 2.1 (Bruker), com uma linha de alargamento (lb) = 0,3 Hz e correção da fase, correção da linha de base e calibração pelo padrão interno (TSP) com sinal em 0,0 ppm. A identificação dos metabólitos foi realizada com o auxílio do programa Chenomx, análise STOCSY (foi utilizado o programa MATLAB) e o site Human Metabolome Data Base (HMDB).

Para os metabólitos solúveis do colmo os espectros foram obtidos a 25°C em espectrômetro Bruker AVANCE operando a 400 MHz na frequência do hidrogênio. Cada espectro de RMN- ^1H consistiu-se em 128 pulsos (10 min e 26 s) com tempo de aquisição de 5 s, largura do pulso de $90^\circ = 9,75$ μs , atraso (delay) de relaxamento (RD) de 2 segundos. Foi utilizada a técnica de supressão do sinal da água para reduzir a razão sinal ruído. Os decaimentos livres de indução (FID) passaram por transformadas de Fourier com um line broadening (LB) = 0,3 Hz. O espectro de J-resolvido foi adquirido com 32 pulsos por 128 incrementos em 8K pontos de dados, com comprimento espectral de 5,208 KHz e 60 Hz em acoplamento spin-spin com RD = 1,5s. O espectro COSY ^1H - ^1H foi obtido com 32 pulsos por 512 incrementos em 2K pontos de dados, com comprimento espectral de 5,208 KHz em ambas as dimensões com RD = 1,5s. Os espectros HMBC ^1H - ^{13}C e HSQC ^1H - ^{13}C foram adquiridos com 64 pulsos por 512 incrementos em 4K pontos de dados, com comprimento espectral de 5,208 KHz para o ^1H e 22,149 KHz para o ^{13}C com RD = 1,5s. Os espectros resultantes foram calibrados com o TSP como padrão interno em 0,0 ppm, usando o programa TopSpin RMN (versão 2.1, Bruker). Os espectros de RMN- ^1H otimizados foram reduzidos (δ 0,3-10,0 ppm) e divididos em regiões de largura (bucket = 0,0004 ppm), normalizados e alinhados através do programa MATLAB versão 2014a. Para os dois casos (folhas e colmo) as regiões de δ 4,7-5,0 e 3,24-3,33 δ foram excluídas da análise por causa dos sinais residuais de água e de metanol.

6.12 Análises estatísticas

Para a análise estatística dos COVs das folhas da cana-de-açúcar foi utilizado delineamento inteiramente casualizado. Após a identificação utilizou-se as áreas dos compostos pra a realização de análise de variância multivariada (MANOVA) com

intuito de se avaliar possíveis diferenças entre suas concentrações relativas para os diferentes acessos, para tal análise se utilizou o software JAMOVI (NAVARRO; FOXCROFT, 2019), As médias das áreas dos COVs identificados também foram utilizados para realizar Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise de agrupamento hierárquico (HCA) utilizando o software PAST statistical (HAMMER; HARPER; RYAN, 2001). Os boxplots foram feitos utilizando-se também as médias das áreas dos compostos identificados pela utilização da plataforma MetaboAnalyst 5.0.

Para elucidar diferença significativa nos bioensaios com e sem chance de escolha foram realizados os testes de qui-quadrado e o teste de Scott-knott respectivamente com ($P < 0,05$), utilizando o programa GENES (CRUZ, 2013).

As análises estatísticas para os dados obtidos da análise por RMN dos extratos do colmo efetuadas foram: PCA e OPLS-DA usando o software SIMCA-P (versão 14.0, Umetrics, Umeå, Suécia) com escalonamento baseado no método de única variância (UV). A identificação dos metabólitos foi realizada com o auxílio do programa Chenomx, análise STOCYSY (através do programa MATLAB), Plant Metabolome Data Base (PMDb) e o Human Metabolome Data Base (HMDB).

Os espectros de RMN-1H otimizados foram reduzidos (δ 0,3-10,0 ppm) e divididos em regiões de largura (bucket = 0,0005 ppm), normalizados e alinhados através do programa MATLAB versão 2014a. As regiões de δ 4,7-5,0 ppm e δ 3,24-3,33 ppm foram excluídas da análise por causa dos sinais residuais de água e do metanol. As análises de componentes principais (PCA) e análises discriminantes ortogonal por mínimos quadrados parciais (OPLS-DA) foram realizadas com o emprego do software SIMCA-P (versão 14.0, Umetrics, Umeå, Suécia) com escalonamento baseado no método de única variância (UV). Análise de variância (ANOVA) e o teste t pareado foram elaborados no programa excel e os boxplots foram realizados através do programa R-studio.

Para os extratos das folhas efetuadas os espectros de RMN-1H otimizados foram reduzidos (δ 0,3-10,0 ppm) e divididos em regiões de largura (bucket = 0,0005 ppm), normalizados e alinhados através do programa R. As regiões de δ 4,7-5,0 ppm e δ 3,24-3,33 ppm foram excluídas da análise por causa dos sinais residuais de água e do metanol. As análises de componentes principais (PCA) e análises discriminantes ortogonal por mínimos quadrados parciais (OPLS-DA) foram realizadas com o emprego do software SIMCA-P (versão 14.0, Umetrics, Umeå, Suécia) com escalonamento baseado no método de única variância (UV). Análise de variância

(ANOVA) o teste t pareado foram elaborados e os boxplots foram obtidos através da plataforma MetaboAnalyst 5.0.

7 RESULTADOS E DISCUÇÃO

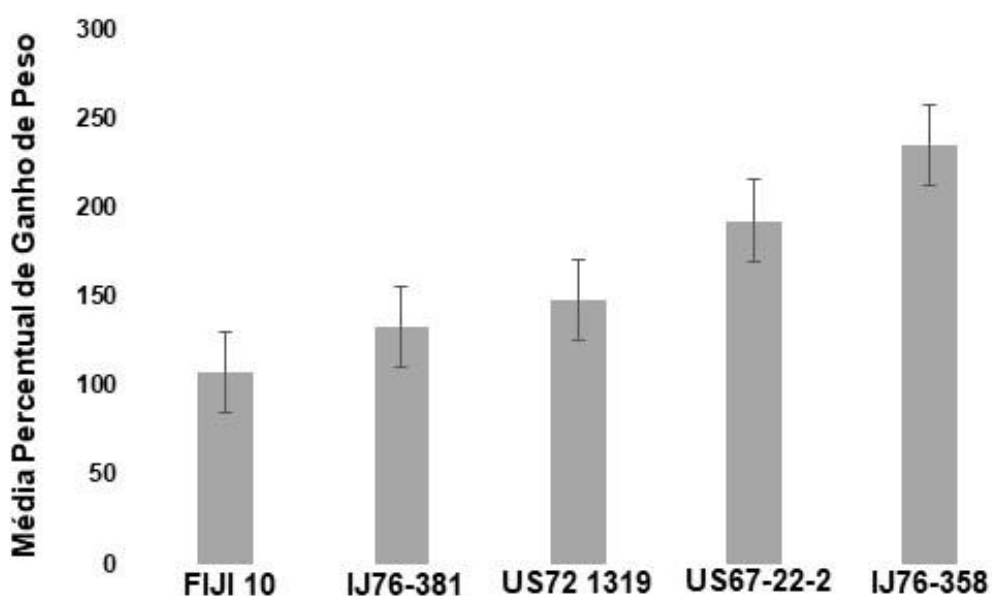
7.1 Bioensaio de antibiose

No bioensaio de antibiose foi avaliado a influência do material genético do complexo Saccharum sobre interação planta-inseto entre lagartas de *D. saccharalis* e diferentes acessos de cana-de-açúcar pertencentes ao BAG da EMBRAPA, a fim de identificar um possível efeito na defesa da planta contra o ataque desse inseto herbívoro.

Inicialmente o bioensaio foi efetuado com lagartas no terceiro instar, as quais permaneceram confinadas durante quinze dias. Foram realizados os bioensaios com cinco genótipos do BAG do complexo Saccharum. Ao final do período de testes efetuou-se análise estatística a fim de observar se havia diferença significativa no ganho de peso das lagartas.

Quando analisadas as médias de ganho de peso, observou-se que não ocorreram diferenças significativas para as médias percentuais de ganho de peso (Figura 14).

Figura 14-Ganho de peso médio de *D. saccharalis* submetidas a bioensaio sem chance de escolha com diferentes acessos do complexo saccharum durante quinze dias.

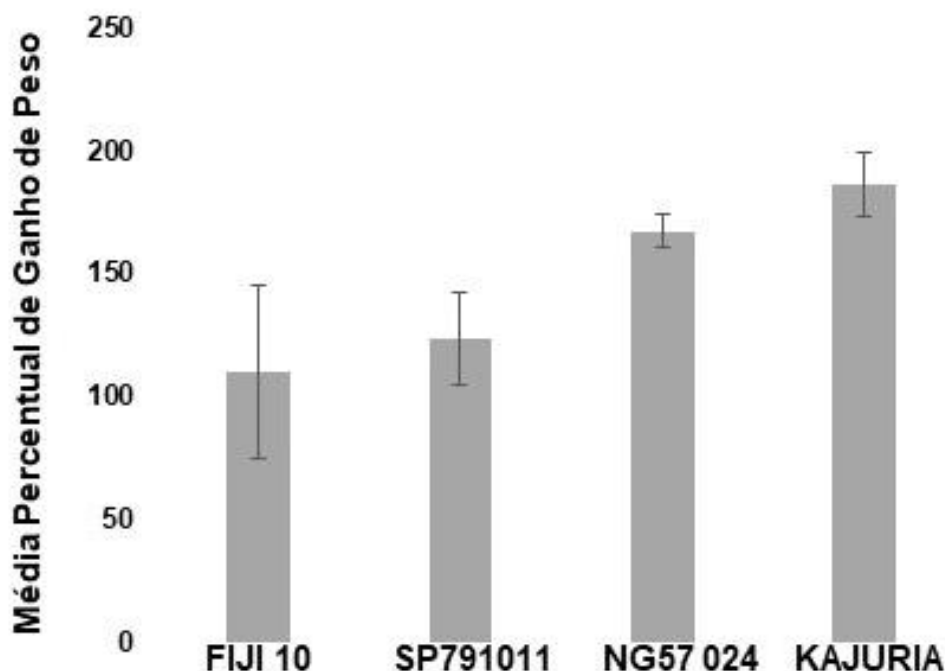


As avaliações efetuadas no bioensaio sem chance escolha mostraram que não houve diferença significativa no ao ganho de peso das lagartas de *D. saccharalis* em relação ao peso inicial, quando estas se alimentaram de plantas dos diferentes acessos.

Do mesmo modo que aos quinze dias, aos dez dias de bioensaio do foram usadas lagartas no terceiro instar, as quais permaneceram confinadas nas plantas durante todo o período de avaliação (Figura 15). Os bioensaios foram realizados com seis genótipos do BAG do complexo Saccharum. Ao final do período de testes efetuou-se análise estatística a fim de observar se havia diferença significativa no ganho de peso das lagartas.

Quando analisadas as médias de ganho de peso, observou-se também que os testes estatísticos aplicados não demonstraram diferença estatística significativa.

Figura 15- Porcentagem de ganho de peso de *D. saccharalis* submetidas a bioensaio sem chance de escolha com diferentes acessos do complexo saccharum durante dez dias.

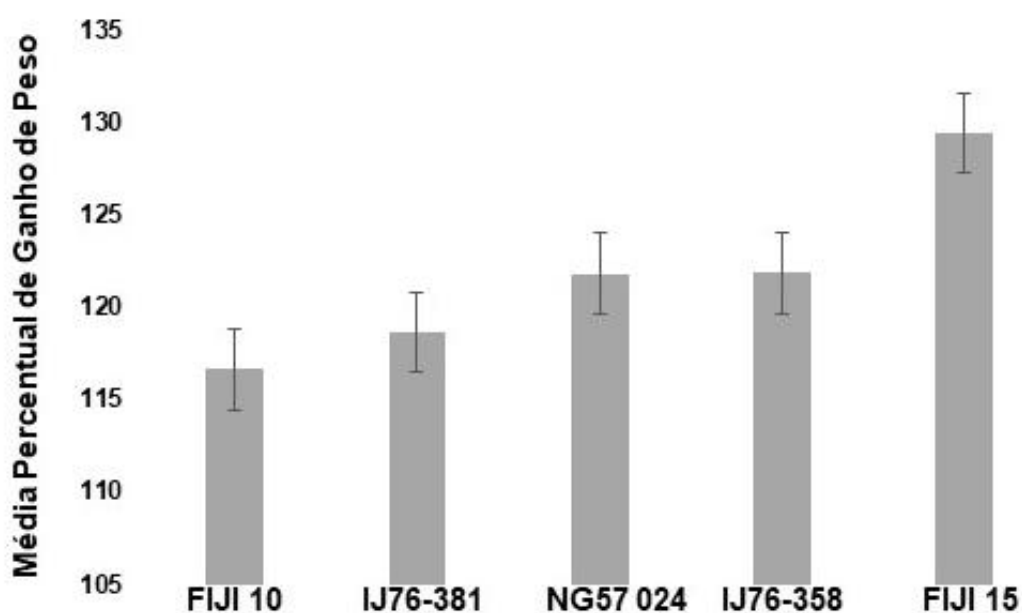


Finalmente efetuou-se o bioensaio com cinco dias de avaliação. Inicialmente o bioensaio foi efetuado com lagartas no terceiro instar, as quais

permaneceram confinadas durante o período estipulado. Foram realizados os bioensaios com cinco genótipos do BAG do complexo Saccharum. Ao final do período de testes efetuou-se análise estatística a fim de observar se havia diferença significativa no ganho de peso das em relação ao peso inicial das lagartas.

Quando analisadas as médias de ganho de peso (Figura 16), observa-se que do mesmo modo que nas avaliações anteriores os testes aplicados não demonstraram diferença estatística significativa.

Figura 16- Porcentagem de ganho de peso de *D. saccharalis* submetidas a bioensaio sem chance de escolha com diferentes acessos do complexo saccharum durante cinco dias.

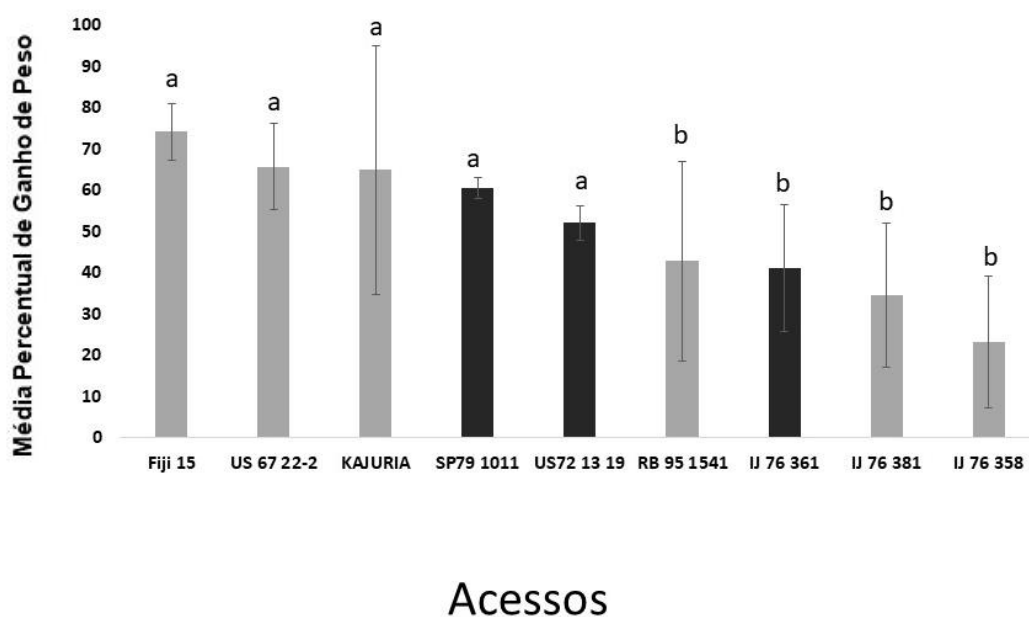


Quando foram usados os períodos de avaliações de cinco e quinze dias ocorreram diversos eventos de fugas de *D. sacharalis* do confinamento das gaiolas. Além disso, algumas mortes também foram observadas nesses períodos de avaliação. Por outro lado, o período de avaliação de dez dias foi aquele no qual se observou o menor número de eventos de morte e fugas de *D. saccharalis* devido ao confinamento usado no bioensaio. Desse modo, consideramos que a segurança para obtenção de resultados mais satisfatórios

em um novo bioensaio, utilizando todos os acessos disponíveis, seria maior usando o intervalo de tempo de dez dias para as avaliações.

Após estabelecimento do período dez dias como o ideal para o bioensaio foram então usados todos os doze acessos disponíveis para a realização do bioensaio sem chance de escolha (Figura 17).

Figura 17-Ganho de peso médio de *D. saccharalis* em bioensaio sem chance escolha com acessos do complexo saccharum (período de avaliação de dez dias). Teste Scott-Knot (comparações a 5%)



Letras iguais = médias não apresentam diferença significativa;

Letras diferentes = médias apresentam diferença significativa.

A figura só mostra o resultado para nove dos doze acessos avaliados no bioensaio de modo que os três acessos que ficaram de fora da avaliação estatística proporcionaram eventos de fuga e morte para a *D. saccharalis* e isso fez com que esses acessos não fossem considerados para a análise estatística. Além disso, o fato do acesso IJ73 414, dentre os três excluídos da análise estatística, ter proporcionado o maior número de fugas e mortes para *D. saccharalis* foi usado como critério para a escolha desse acesso para as análises de antixenose, de COVs e metabólica.

Os outros três acessos escolhidos para participarem das análises posteriores junto com o acesso IJ76 414 foram SP79 1011 (padrão de

susceptibilidade) I176 361 o acesso que proporcionou o ganho de peso à *D. saccharalis* significativamente maior do que aquele dado por SP79 1011 e US72 1319, acesso que proporcionou o ganho de peso da *D. saccharalis* estatisticamente igual aquele dado por SP79 1011, destacados na cor preta na figura 17.

Diferentes culturas agrícolas apresentam resistência do tipo antibiose (DE CASTRO et al., 2015). como soja (Bentivenha et al., 2018). trigo (Cao et al., 2015)

eucalipto (HOLTZ et al., 2010), tomate (DE OLIVEIRA et al., 2018), couve (CANASSA et al., 2021) arroz (HAIDER et al., 2021), feijão (JÚNIOR et al., 2021). maracujá (DA SILVA et al., 2020), grão-de-bico (GOLLA et al., 2018), milho (BUENO et al., 2021). Em um avaliação da resistência de cultivares convencionais de milho a *Spodoptera frugiperda* (DE MORAES et al., 2018) demonstraram que algumas dessas cultivares apresentam antibiose a *S. frugiperda*.

No presente trabalho o acesso IJ76 361 causou o menor ganho de peso nas lagartas *D. saccharalis* e menor preferência quando comparado com SP79 1011 indicando resistência do tipo antibiose e antixenose a broca da cana-de-açúcar. Estes resultados são semelhantes ao encontrados por (BUENO et al., 2021) com genótipos de trigo que demonstraram resistência do tipo antibiose e antixenose contra *Dichelops melacanthus*. Corroborando com os resultados do presente trabalho em cana-de-açúcar testes de antibiose revelaram que os parâmetros da história de vida, como a duração do período reprodutivo e a fecundidade de espécies de afídeos, foram afetados negativamente por algumas cultivares (AKBAR et al., 2010). Plantas de cana-de-açúcar também afetaram o desenvolvimento, a sobrevivência, o ganho de peso de *D. saccharalis* (TOMAZ et al., 2018). O estudo realizado por (WHITE et al., 2011) demonstrou que dois clones de cana-de-açúcar usados em seu estudo causaram baixos valores de emergência de adultos e baixos pesos larvais para a praga *Diatraea saccharalis* (F.). Assim os autores sugeriram que os clones apresentavam resistências do tipo antibiose como mecanismo de resistência *D. saccharalis*. (Dinardo-Miranda et al., 2012) trabalharam com diferentes cultivares de cana-de-açúcar objetivando avaliar o efeito de dez cultivares no desenvolvimento larval de *Diatraea saccharalis*. Esses autores observaram que algumas da cultivares

avaliadas foram mais desfavoráveis para entrada e desenvolvimento de larvas apresentando resistência à praga. (AKBAR et al., 2010) ao trabalhar com diferentes cultivares de cana-de-açúcar demonstraram que os pulgões *Melanaphis sacchari* (Zehntner), e *Sipha flava* (Forbes) (Hemiptera: Aphididae) tiveram duração do período reprodutivo e a fecundidade afetadas negativamente quando se alimentaram com duas das cultivares avaliadas. (TOMAZ et al., 2018) avaliaram o desenvolvimento, a sobrevivência, o ganho de peso de *D. saccharalis* submetidas a alimentação com variedades de cana-de-açúcar e constataram que esse inseto teve esses parâmetros afetados negativamente por algumas das variedades analisadas.

Os diferentes acessos avaliados no presente estudo apresentaram variabilidade com relação a influência no ganho de peso de *D. saccharalis* tais resultados podem estar relacionados ao fato de alguns acessos apresentarem resistência do tipo antibiose e outros não, como observado em alguns casos relatados anteriormente como os de (GOLLA et al., 2018) que estudaram os mecanismos de resistência do tipo antibiose em diferentes épocas de cultivo em diferentes acessos do grão-de-bico (cultivados e selvagens), pela avaliação sobrevivência e os pesos das larvas de *Helicoverpa armigera* e demonstraram que os parentes selvagens dessa planta exibiram altos níveis de antibiose.

Contratando com os resultados do presente trabalho (AGUIRRE et al., 2013) mostraram que algumas plantas de *Brachiaria spp*, não apresentaram resistência do tipo antibiose em adultos de cigarrinhas que se alimentam de folhagem. Para o sorgo sacarino, (BARCELOS et al., 2018) a partir dos resultados de seu trabalho observaram que as plantas não apresentaram antibiose contra *D. saccharalis* e não recomendam utilizar as cultivares avaliadas em um sistema de produção de grãos.

No presente estudo utilizou-se como inseto modelo a *D. saccharalis*, um inseto da ordem Lepidoptera, e procurou-se avaliar o ganho de peso percentual desse inseto alimentado com diferentes acessos de cana-de-açúcar. A partir da figura 17 observa-se que o acesso IJ76 361 proporcionou menor ganho de peso para *D. saccharalis* quando comparado ao ganho de peso obtido pela *D. saccharalis* alimentada com SP79 1011. Provavelmente este resultado se deve ao fato do acesso IJ76 361 apresentar resistência do tipo antibiose contra essa praga. Resultados semelhantes aos apresentados no presente estudo

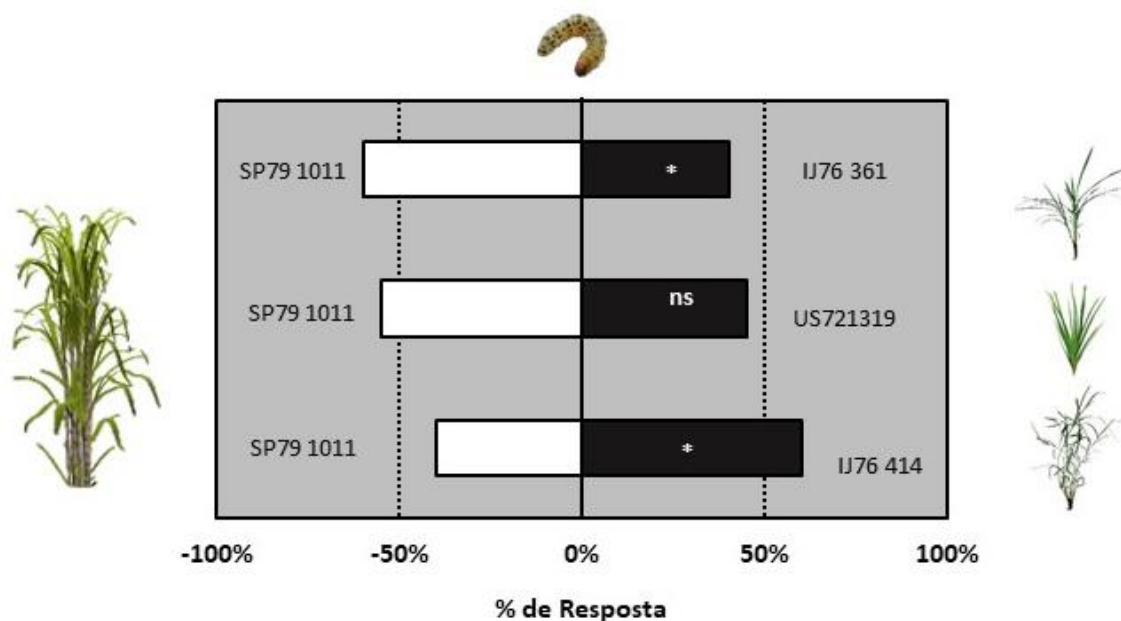
demonstraram que a cultura da cana-de-açúcar, alguns trabalhos tem demonstrado resistência antibiótica contra pragas da ordem Lepidoptera (BERNAL; SÉTAMOU, 2003) inclusive contra a *Diatraea saccharalis* (WHITE et al., 2011). Em plantas de milho a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) teve sua a biologia afetada (SILVA et al., 2016). Em trabalho com genótipos de *Brassica oleracea* var. *acephala* (SANTOLAMAZZA-CARBONE et al., 2016) mostraram que *Mamestra brassicae* (Lepidoptera, Noctuidae) *Pieris rapae* (Lepidoptera, Pieridae), foram afetados devido a antibiose.

Outros trabalhos demonstraram resultados que são contrastantes com os do presente estudo. Para o sorgo sacarino, por exemplo, (BARCELOS et al., 2018) observaram que a *Diatraea saccharalis* (F.) (Lepidoptera: Crambidae), apesar completou seu desenvolvimento em todas as cultivares por eles avaliadas. Trabalhando com planta de grão de bico (*Cicer arietinum*) (GOLLA et al., 2018) mostraram que *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) teve sua sobrevivência afetada negativamente devido a antibiose das plantas.

7.2 Bioensaio de antixenose

No bioensaio de antixenose avaliamos a preferencia da *D. saccharalis* A diferentes acessos de cana-de-açúcar. Foram feitas análises pareadas utilizando como padrão o acesso SP79 1011. Os pares avaliados individualmente sendo compostos pelos acessos : SP 791011 x IJ 76414 ; SP 791011 x US 721319 e SP 791011 x IJ 76 361 (Figura 18).

Figura 18-Avaliação da preferência da *Diatraea saccharalis* entre acesos em estudo. Pares avaliados: SP 791011 x IJ 76414; SP 791011 x US 721319 e SP 791011 x IJ 76 361. Teste $X^2 = 4,0$; $P < 0,05$, Teste $X^2 = 1,0$; $P > 0,05$ Teste $X^2 = 4,0$; $P < 0,05$



*=diferença significativa

Nesse bioensao foi observado variabilidade com relação a preferência de *D. Saccharalis* pelos diferentes acessos trabalhados e em algumas das comparações avaliadas ocorreram diferença significativa com relação preferência das lagartas.

A partir da figura 18 percebe-se que a *D. saccharalis* foi significativamente mais atraída pelo acesso SP79 1011 (padrão de susceptibilidade) quando esse foi comparado ao acesso IJ76 361. Para a comparação entre SP79 1011 e US72 1319 não ocorreu diferença significativa. Diferença significativa também foi observada na preferência de *D. saccharalis* pelo acesso IJ76 414 em comparação com SP79 1011.

Diversas culturas apresentam a antixenose como um mecanismo de resistência (CANASSA et al., 2017). Em culturas como Zhang et al., (2015) observaram que plantas de *Caragana brachypoda* demonstraram repelência ao herbívoro *Chlorophorus caragana*. Milho (Bueno et al., 2021), tomate (de Oliveira et al., 2018), cana-de-açúcar (FARTEK et al., 2012) já demonstraram resistência do tipo antixenose. (BUENO et al., 2021) avaliaram a existência de resistência do tipo antixenose em plantas de milho contra *Dichelops melacanthus* e demonstraram que 3 dos 16 genótipos foram menos preferidos por *D. melacanthus* em relação aos demais genótipos de milho. Le Roux et al., (2014)

caracterizaram a resistência batatas selvagens e determinaram que essa cultura apresenta resistência do tipo antixenose com os pulgões. De acordo com (BALDIN; BENEDUZZI, 2010) variedades de abóbora diferiram significativamente em sua atratividade para adultos de *Bemisia tabaci*. Já (CANASSA et al., 2017) mostraram que acessos de soja de maturação tardia foram menos atraentes para percevejos.

No presente trabalho quatro acessos de cana-de-açúcar foram avaliados com o intuito de se determinar possíveis fontes de resistência do tipo antixenose contra a broca da cana *Diatraea saccharalis*. Quando se comparou os acessos SP79 1011 (padrão de susceptibilidade) com o acesso IJ76 361 percebeu-se que a *D. saccharalis* foi significativamente mais atraída pelo acesso SP79 1011 (padrão de susceptibilidade). De modo contrário, quando se comparou os acessos SP 79 1011 e US 76414 foi possível observar que a *D. saccharalis* preferiu em média o acesso US 76414.

Corroborando com os resultados do presente trabalho, com relação a comparação entre IJ76 361 e SP79 1011 em um estudo com duas cultivares de cana-de-açúcar sendo uma resistente e outra susceptível (FARTEK et al., 2012) verificaram que a cultivar resistente apresentou características antixenóticas contra *Melanaphis sacchari* em ensaios de campo e de laboratório.

A *D. saccharalis* é uma praga da ordem Lepidoptera e o intuito do presente trabalho foi verificar possíveis fontes de resistências à essa praga. Desse modo, reforçando ainda mais os achados do presente trabalho, com relação a pragas dessa ordem, a resistência do tipo antixenose também foi observada em cultivares de cana-de-açúcar contra a broca-do-caule, *Chilo sacchariphagus* (Bojer) (Lepidoptera: Pyralidae) (NIBOUCHE; TIBERE, 2010). Entre dez cultivares de cana-de-açúcar avaliadas (Dinardo-Miranda et al., 2012) observaram que ao menos duas destas foram as menos preferidas por *D. saccharalis*. Os resultados de (Sturza et al., 2020) mostraram que cana-de-açúcar apresenta antixenose contra a oviposição de *D. saccharalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae).

Com relação a comparação entre IJ76 414 e SP79 1011, alguns resultados da literatura, ainda que para outras culturas que não a cana-de-açúcar, apresentaram resultados semelhantes. O trabalho de (SILVA et al., 2014), por exemplo, demonstrou que para alguns dos acessos de soja não

houve diferenças na atratividade, porém, outros acessos foram menos atrativos para adultos de *Piezodorus guildinii* quando comparados ao padrão (Coodetec 208). Ao trabalhar diferentes cultivares de tomateiro e uma espécie de tomateiro selvagem (PROFFIT et al., 2011) observaram que *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera, Gelechiidae) preferiram as cultivares em relação a espécie selvagem. de Oliveira et al., (2018) observaram que plantas selvagens de tomate apresentam variações e foram menos preferidas do que plantas cultivadas.

O acesso IJ 76414 foi avaliado no bioensaio de antibiose e uma vez que esse acesso causou eventos de fuga e morte a *D. saccharalis* os dados obtidos não entraram na análise estatística. Como esses eventos poderiam estar ocorrendo por conta de algum traço de resistência esse acesso foi então escolhido para participar das avaliações para resistência do tipo antixenose, para análise de metabólitos voláteis e de metabólitos solúveis.

A partir do bioensaio de antixenose do presente trabalho percebeu-se que *D. saccharalis* demonstrou maior preferência por IJ 76414 em comparação com SP79 1011. A mistura de COVs emitida por IJ 76414 continha apenas 1- Docosanol e Decanal e pelo menos um desses COVs demonstrou ser atrativo para alguns insetos praga (BENGTSSON et al., 2006; KNUDSEN; NORLI; TASIN, 2017) poderia estar influenciando o comportamento de *D. saccharalis* observado nesse bioensaio.

A comparação entre US72 1319, no presente trabalho, mostrou que não houve diferença significativa com relação a preferência de *D. saccharalis* para nenhum dos dois acessos. Trabalhos anteriores mostraram tendências semelhantes a essas. Por exemplo, ao avaliar a resistência de seis cultivares comerciais de batata contra pulgão verde do pessegueiro (*Myzus persicae* Sulzer) (MOTTAGHINIA et al., 2011) observaram que no experimento de antixenose não ocorreu nenhuma diferença significativa na preferência do afídeo pelas cultivares analisadas. Com base em um índice de atratividade (SILVA et al., 2014) mostraram que os acessos IAC 17 e IAC 23 foram classificados como neutros, com taxas de atratividade a para *Piezodorus guildinii* (Westwood) (Hemiptera: Pentatomidae) semelhantes às do padrão. Mottaghinia et al., (2011) observaram que no experimento de antixenose não ocorreu nenhuma diferença significativa na preferência do afídeo pelas cultivares analisadas.

As plantas podem apresentar resistência do tipo antixenose devido à presença de fatores morfológicos e / ou compostos químicos (BOUAGGA et al., 2018). Para os resultados do presente trabalho diferenças quantitativas e qualitativas mostrada nas misturas de COVs, que continha alcanos, GLV, e terpenos, emitidas pelo acessos do presente trabalho poderiam explicar a atração diferencial de *D. saccharalis* mediada por essas plantas como também foi observado no trabalho realizado por (BIRKETT et al., 2006) no qual foi demonstrado que a mistura de COVs emitida por plantas milho, sorgo, e dois capins selvagens, *Pennisetum purpureum* e *Tamba Hyparrhenia* (Steud.) Stapf podiam influenciar o comportamento de *Busseola fusca*. Além disso, a atividade de inimigos naturais é afetada devido a antixenose de plantas. Ou na mistura de COVs liberada por plantas de pimentão atacadas por *Nesidiocoris tenuis* (Reuter), *Macrolophus pygmaeus* (Rambur) que atraiu a mosca-branca parasitóide *Encarsia formosa* (BOUAGGA et al., 2018). Assim provavelmente a mistura de COVs emitida pelos acessos esteja influenciando o comportamento de *D. saccharalis* no entanto, para confirmar essas hipóteses, novos estudos devem ser realizados.

7.3 Perfis de COVs dos acessos do tratamento controle

Analisamos diferentes acessos do BAG da EMBRAPA com o intuito de tentar identificar diferenças na emissão de possíveis COVs biomarcadores de resistência na cultura da cana-de-açúcar. Realizamos análise de componentes voláteis em um grupo composto de quatro acessos apenas para o tratamento controle. O grupo era composto pelos acessos SP 79 1011 (padrão de susceptibilidade), susceptível ao ataque de *D. saccharalis*, US 721319, IJ 76414 e IJ 76361. O período de extração dos COVs foi de 48 horas, esse tempo foi escolhido, pois observamos que em tal período as plantas eram capazes de liberar compostos em maiores quantidades e diversidade.

Diferentes classes químicas de metabólitos compunham a mistura de COVs liberada pelas plantas e posteriormente analisada. Essas classes eram alcanos (de cadeia linear e ramificados), aldeídos, álcoois, entre outras classes de compostos. Além disso, os acessos apresentaram perfis cromatográficos

distintos, variando tanto em número como e identidade de COVs emitidos. O acesso IJ 76361 emitiu o maior número de COVs, sendo 9 no total seguido pelo acesso SP 79 1011 que emitiu 7 COVs. Em contraste a esses números os acessos US 721319 e IJ 76414 emitiram apenas 2 COVs cada como mostrado na tabela 2.

Tabela 2-Composto orgânicos voláteis identificados na mistura emitida pelos quatro acessos do tratamento controle

Compostos	(IR)	Tempos de Retenção			
		SP 791011	US 721319	IJ 76414	IJ 76361
1 D-Limoneno	1011	13.575	0,00	0,00	0,00
2 Nonanal	1068	14.959	14.938	0,00	14.933
3 Decanal	1162	17.07	17.041	17.077	17.039
4 Tetradecano	1356	20.935	0,00	0,00	20.908
5 Pentadecano	1446	22.553	0,00	0,00	0,00
6 1,1'-oxybis-octano	1589	24.93	0,00	0,00	24.901
7 3,7,11,15-Tetrametil-2-hexadecen-1-ol	1791	27.972	0,00	0,00	0,00
8 1-Docosanol	1959	0,00	0,00	30.289	0,00
9 2-etil-1-Hexanol	1003	0,00	0,00	0,00	13.38
10 Y-Cadineno	1460	0,00	0,00	0,00	22.795
11 α -Cadineno	1481	0,00	0,00	0,00	23.153
12 Docosano	1716	0,00	0,00	0,00	26.887

Os COVs foram identificados com base no espectro de fragmentação e comparação de índice de retenção linear. O tempo de retenção igual zero significa ausência do COV na mistura emitida pelo acesso.

Entre estes COVs estavam alcanos, aldeídos, álcoois e terpenos, classes químicas anteriormente citadas como parte da mistura de voláteis emitida por plantas saudáveis e/ou que sofreram algum tipo de estresse de origem biótica ou abiótica. Em plantas de sorgo, por exemplo, diferentes COVs foram identificados a partir da mistura volátil emitida tanto em plantas intactas quanto em plantas infestadas por *Melanaphis sacchari* (PARK et al., 2020). Os COVs podem ser usados no controle biológico de pragas (TURLINGS; ERB, 2018) e como pistas químicas esses compostos podem ser usados por diversos predadores/parasitóides de pragas e esses inimigos naturais usam os COVs para a identificação de plantas infestadas. Em cana-de-açúcar, por exemplo, nematóides utilizam os COVs emitidos pelas raízes de plantas infestadas por *Mahanarva fimbriolata* como pistas (TONELLI et al., 2016). Em outro caso o parasitóide larval *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae) utilizaram os voláteis emitidos por plantas de cana-de-açúcar infestadas por *D. saccharalis* como guia para identificar plantas atacadas por esses herbívoro e utiliza-lo para sua reprodução, atuando no controle natural (TONELLI et al., 2016).

COVs são metabólitos emitidos constitutivamente (DEGENHARDT et al., 2010) em diversidade e quantidades diferentes podendo atuar na defesa de plantas contra uma série de estresses de ordem biótica e abiótica. Esses compostos são liberados em grandes quantidades por meio de trocas gasosas e medeiam as interações tritróficas entre plantas, insetos herbívoros e seus predadores/parasitoides (TURLINGS; ERB, 2018). A atração causada por COVs sobre predadores/parasitóides foi demonstrada em cana de açúcar, infestada por *D. saccharalis*, que ao emitir o E-cariofileno atraiu *Cotesi flavips* inimigo natural dessa praga (RIFFEL et al., 2021). A interação entre diferentes partes de uma planta atacada e a comunicação entre plantas vizinhas também são mediadas por esses COVs (BALDWIN, 2010).

Os COVs identificados no presente trabalho foram classificados em diferentes grupos tais como, alcanos, aldeídos e álcoois voláteis de folhas verdes envolvendo a via de biossíntese de ácidos graxos/ lipoxigenase, terpenos (via isoprenóide) e MeSA (via do ácido chiquímico).

7.4 Análise de componentes principais com base nas áreas dos COVs

Com o intuito de observar agrupamentos naturais entre os acessos formados a partir das misturas de COVs, dados de áreas dos voláteis emitidos pelos quatro acessos do tratamento controle foram submetidos a uma PCA. A análise de componentes principais é principalmente usada quando o intuito da análise é observar agrupamentos intrínsecos de amostras, usando para isso, a projeção dos dados originais multidimensionais em diferentes componentes principais (PCs), dadas pela combinação linear entre as variáveis do conjunto de dados e seus autovalores (GRANATO et al., 2018).

A análise de PCA explicou 92,37% da variação total da emissão de COVs entre os acessos do presente estudo, sugerindo que cada tipo de acesso emite diferentes misturas de COV. A análise do gráfico de escores (Figura 19) revela separação entre as amostras devido a formação de agrupamentos oriundos dos diferentes perfis de COVs emitidos pelos quatro acessos. Com base nessas observações os acessos foram divididos três grupos distintos. O acesso IJ 76361 compõe o primeiro dos três grupos, o acesso SP79 1011 compõe o segundo grupo e os acessos US 1319 e IJ 76 414 compõem o terceiro grupo. O primeiro componente, explica 56,50% da variância, separando principalmente o primeiro grupo formado acesso IJ 76361 (círculo azul) dos outros dois grupos de acessos.

O segundo componente explica 35,87 % da variação e é responsável por demonstrar a separação entre o grupo formado pelos acessos SP79 1011 (círculo vermelho) do grupo formado pelos acessos US 1319 e IJ 76 414 (círculo verde).

A análise do gráfico de loading plot (cargas) revelou quais são os compostos responsáveis pela separação entre as amostras (Figura 120). Os compostos mais relevantes para o primeiro componente (PC1) foram os COVs alfa-cadineno, gama-cadineno, docosano e 2-etil-1-exanol contribuindo para a formação do grupo composto pelo acesso IJ76 361. Além desses, o monoterpene limoneno, os aldeídos nonanal e decanal, os alcanos tetradecano e pentadecano, 3,7,11,15-Tetrametil-2-hexadecen-1-ol e 1,1-oxybis-octano também foram relevantes para o primeiro componente (PC1) todos contribuindo para a formação do grupo composto pelo acesso SP79 1011. Ainda para o primeiro componente o 1-docosanol foi o COV responsável pelo agrupamento

entre os acessos 1319 e IJ76 414. Todos esses COVs foram responsáveis pelos agrupamentos, observado em PC1, que separaram os acessos SP79 1011 e IJ76 361, grupos 1 e 2 respectivamente (porção positiva do eixo X), do grupo formado pelos acessos US72 1319 e IJ76 414, grupo 3 (porção negativa do eixo X) (Figura 20).

No segundo componente (PC2) foi possível observar separação entre o acesso IJ76 361 e SP79 1011 (grupos 1 e 2 respectivamente). Os COVs alfa-cadineno, gama-cadineno, docosano, 1,1-oxybis-octano e 2-etil-1-exanol contribuíram para a formação do grupo composto pelo acesso IJ76 361 (porção positiva dos eixos Y). Já os COVs limoneno, os aldeídos nonanal e decanal, os alcanos tetradecano e penatadecano e além desses os COVs 3,7,11,15-Tetrametil-2-hexadecen-1-ol e 1,1-oxybis-octano contribuíram para a formação do grupo composto pelo acesso SP79 1011 (porção negativo do eixo Y) (Figura 20).

7.5 Análise de agrupamento hierárquico

Análise de Agrupamento Hierárquico (HCA) é um método de agrupamento que explora a organização de amostras em grupos e entre grupos que representam uma hierarquia. O resultado do HCA é geralmente apresentado em um dendrograma, um gráfico que mostra a organização das amostras e suas relações em forma de árvore (GRANATO et al., 2018).

Como complemento para os resultados obtidos pela PCA um dendrograma HCA foi produzido pelo método Ward utilizando como medida de dissimilaridade a distância Euclidiana (Figura 21) a partir da média das áreas dos COVs emitidos pelos quatro acessos de cana-de-açúcar, mostrados na Tabela 1. Os resultados mostrados por esse gráfico confirmam a formação de três grupos de acessos separando os quatro acessos em três diferentes grupos. O grupo 1 foi formado pelos acessos SP79 1011 9 (círculo vermelho), o grupo 2 pelo acesso IJ76 361 (círculo azul) e o grupo 3 formado pelos acessos US72 1319 e IJ76 414 (círculo verde).

Figura 19-Gráfico de scores das amostras obtido por PCA, mostrando agrupamento dos acessos do tratamento controle, o qual levou a formação de quatro grupos. Grupo 1 (círculo vermelho); Grupo 2 (círculo verde); Grupo 3 (círculo azul)

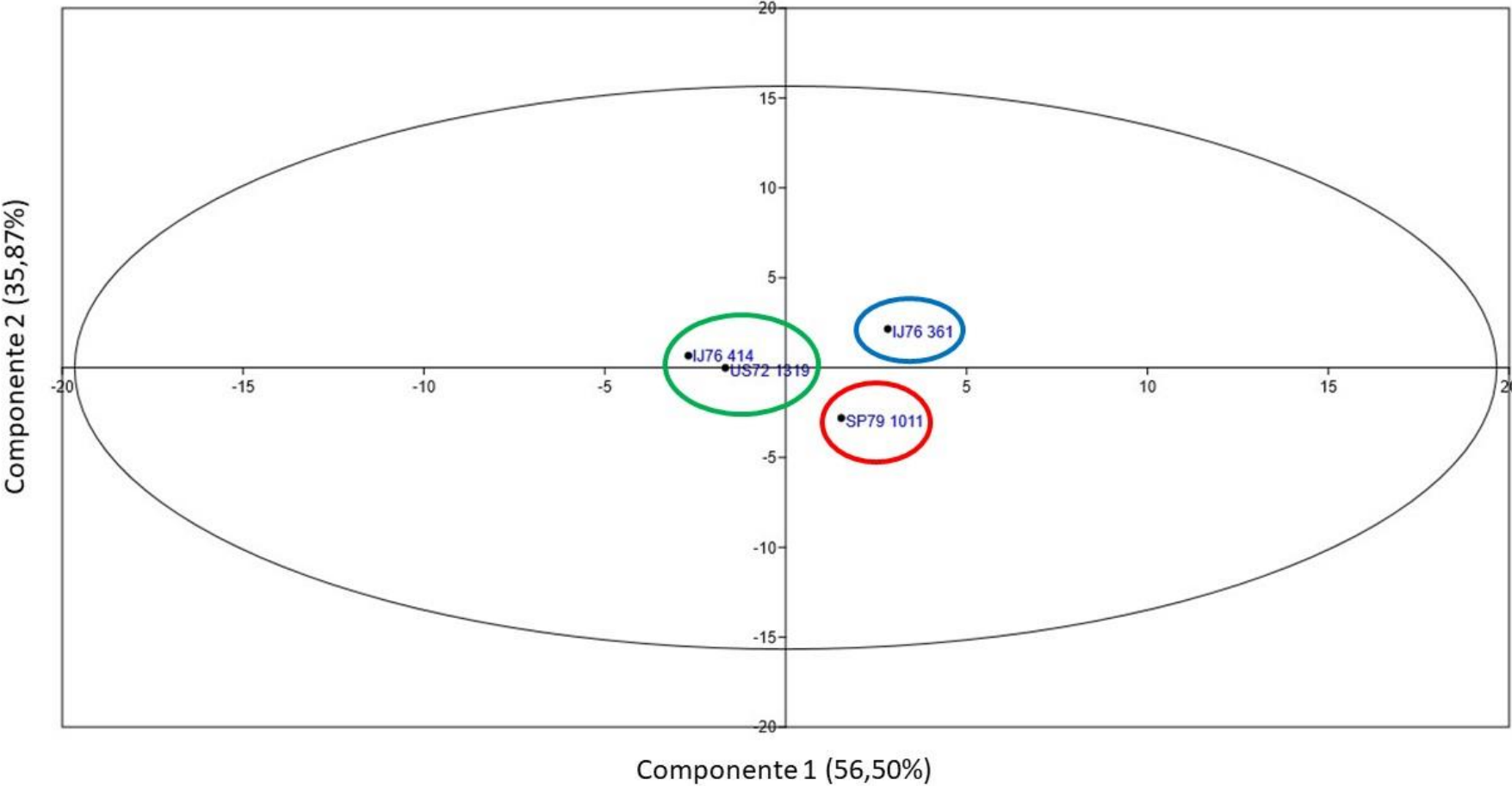


Figura 20-Gráfico de bit-plot dos voláteis dos quatro acessos de cana-de-açúcar do tratamento controle.

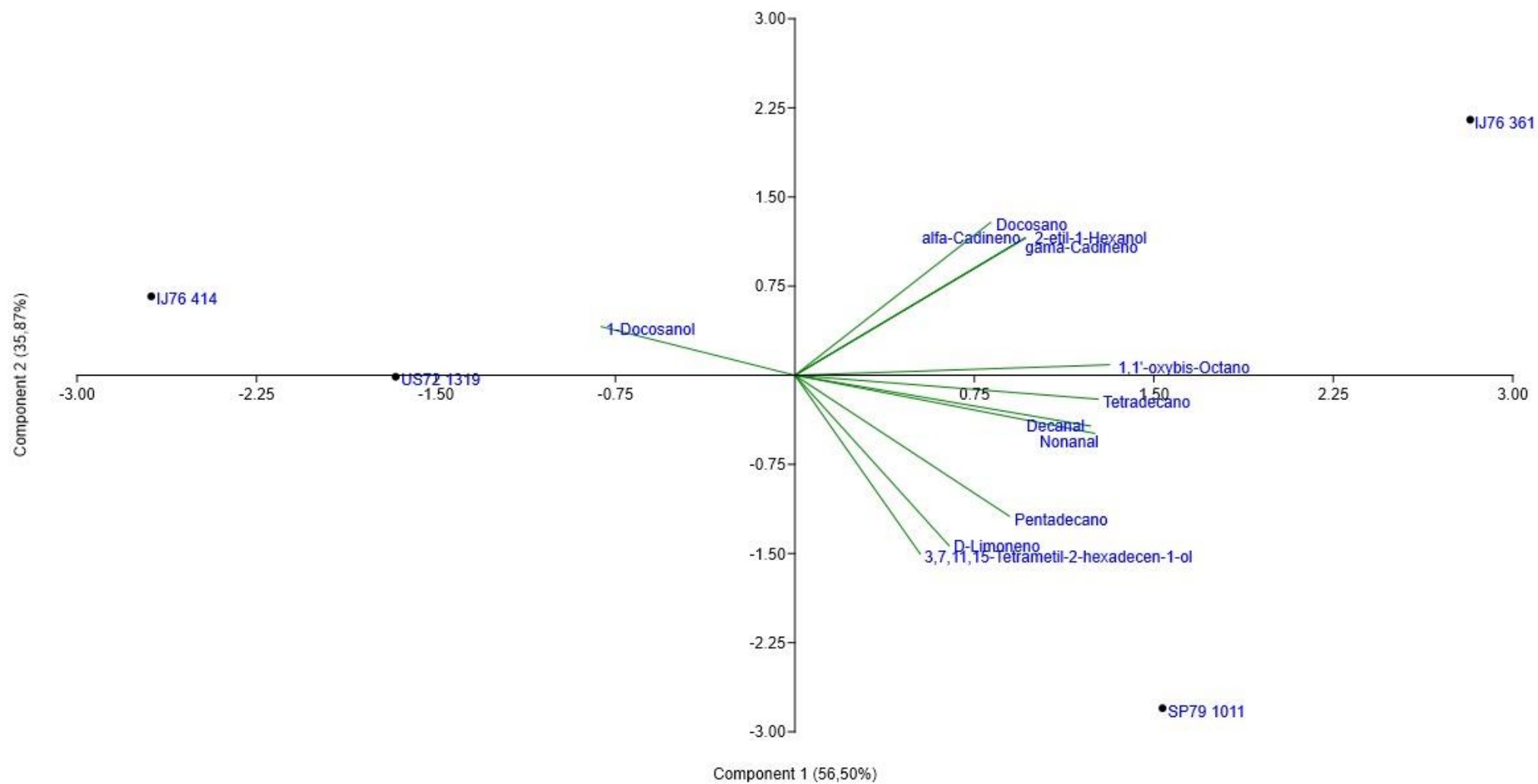
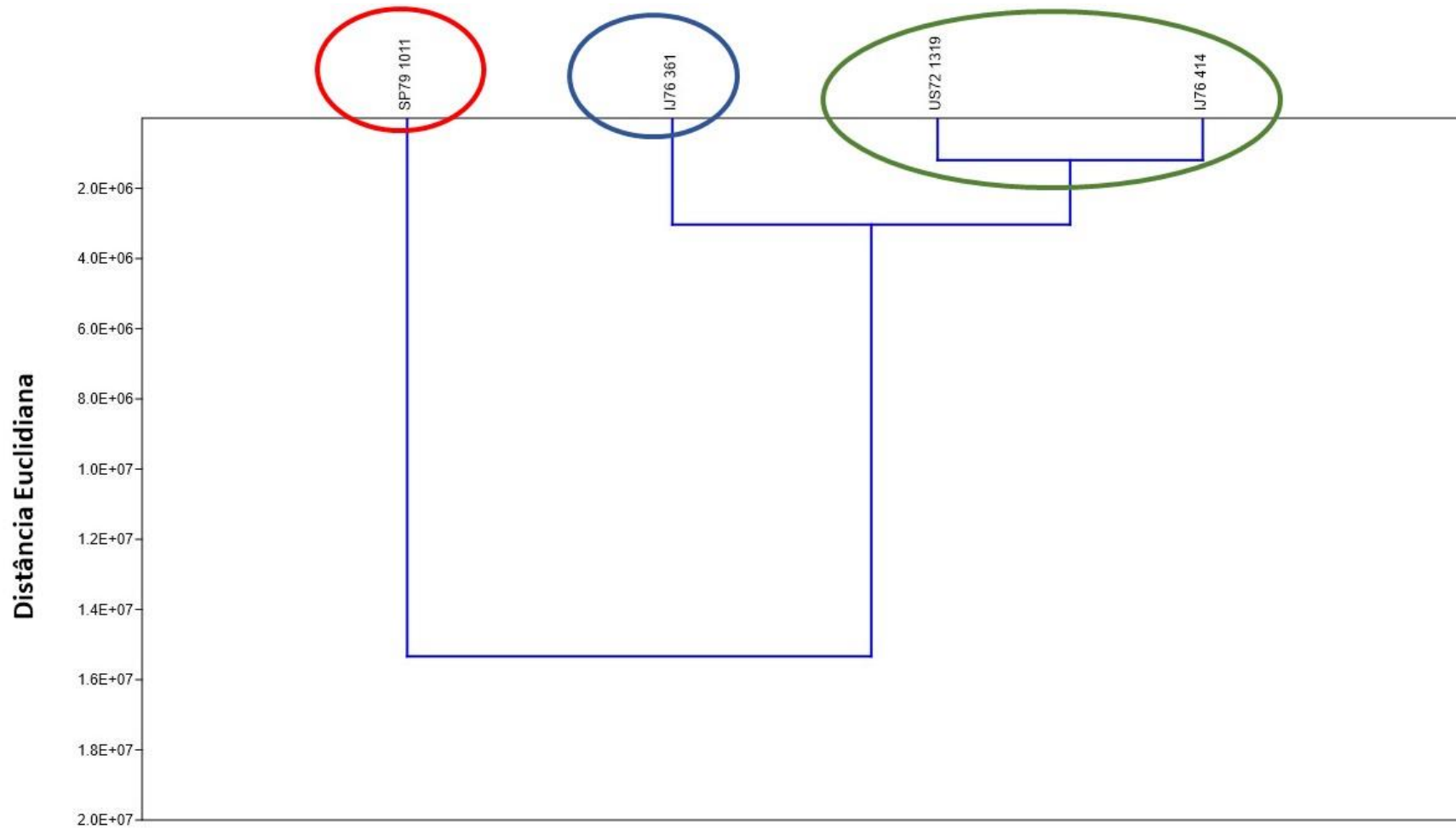


Figura 21-Dendrograma mostrando o agrupamento de quatro acessos de cana-de-açúcar de acordo com as áreas dos COVs no tratamento controle.



Os resultados do presente trabalho para a análise de componentes principais (PCA) baseada em COVs emitidos constitutivamente por diferentes acessos de cana-de-açúcar do tratamento controle demonstram uma clara separação entre os acessos trabalhados. A partir dessa análise ao menos três grupos foram formados sendo um deles composto por dois dos quatro acessos. O grupo 1 era composto pelo acesso SP79 1011, o grupo 2 pelo acesso IJ760361 e o grupo 3 pelos acessos IJ76 414 e US72 1319.

A mistura de COVs emitido por plantas de cana-de-açúcar já havia sido usada para a distinção entre plantas intactas e sob infestação em trabalho realizado por (PEÑAFLORES et al., 2017). Silva et al., (2021) foram capazes de diferenciar entre seis variedades de cana-de-açúcar a partir da análise de voláteis oriundos do caldo extraído o colmo dessas plantas.

Para outras culturas resultados semelhantes aos do presente trabalho também foram observados. RIBEIRO (2020) ao trabalhar com plantas de mandioca (*Manihot esculenta*) foi capaz de distinguir entre variedades a partir da mistura de voláteis emitidas por aquelas plantas. Esses autores mostraram distinção entre as variedades tanto para plantas intactas quanto para infestadas. Ao composições de voláteis de aroma de 13 variedades de tangerina (GOLDENBERG et al., 2016), usando análise de agrupamento hierárquico e PCA, foram capazes de distinguir entre variedades e argumentaram que tais diferenças ocorriam devido aos níveis diferentes de limoneno e outros terpenos.

Contrastando com os resultados do presente trabalho Jacob et al., (2021) trabalharam com diferentes acessos de cana-de-açúcar de *Eriantus arundinaceus* com o intuito de verificar diferenças entre esses acessos com base nas suas misturas de voláteis. Além disso, esses autores ainda verificaram quais desses COVs eram capazes de provocar resposta olfativas e comportamentais de *Chilo sacchariphagus* (Bojer) (Lepidoptera: Crambidae). Como resultado desse trabalho os autores mostraram que os COVs dos acessos não eram suficientes para discriminar entre os acessos de *E. arundinaceus* e cana-de-açúcar, contrastando com nossos resultados. Por outro lado, nesse mesmo trabalho os autores mostraram que foi possível discriminar entre os acessos de *E. arundinaceus* com base nas suas misturas de COVs.

No presente trabalho encontramos diferentes COVs na mistura emitida pelos acessos e esses compostos pertenciam a diferentes classes orgânicas tais como: hidrocarbonetos de cadeia linear, aldeídos, álcoois terpenos. Diferentes classes de compostos orgânicos voláteis podem ocorrer na mistura de COVs emitida constitutivamente por um determinada cultura (LEPPIK; TAMMARU; FRÉROT, 2014). Além disso, mistura de COVs de plantas não danificadas pode variar de acordo com o genótipo das plantas e os insetos podem usar esses COVs para distinguir os hospedeiros mais adequados (PROFFIT et al., 2011).

Hidrocarbonetos foram encontrados em diferentes culturas (SCHRÖDER et al., 2015) como em tomate (NASELLI et al., 2017), em voláteis de maçã, (BENGTSSON et al., 2001), em folhas de mandioca (RIBEIRO, 2015) trigo (WADOOD et al., 2020). Estes COVs também são encontrados em raízes de plantas (LAWO et al., 2011).

Alcanos

No presente trabalho foram encontrados os alcanos tetradecano, pentadecano e docosano. O trabalho de (YANG, DONG, et al., 2019) demonstrou que alcanos de cadeia linear foram emitidos por plantas intactas de *Rosa chinensis* Jacq.

O pentadecano foi emitido em maior concentração em plantas de batata (batata Ipomoea) infestada por larvas de *Spodoptera litura* quando comparadas a plantas intactas (Meents et al., 2019). Ao trabalhar com plantas de cinco espécies de Caragana (Zhang et al., 2015) verificaram que o pentadecano foi um dos n-alcanos emitidos por duas das espécies de caragana. Nesse trabalho a atratividade das plantas para *Chlorophorus caragana* foi verificada com olfatometro de tubo em Y por e os autores observaram que em duas das cinco espécies, *Caragana brachypoda* e *Caragana ordosica*. o herbívoro *Ch. caragana* foi repelido preferindo ar filtrado. Os autores mostraram ainda que um dos componentes responsáveis por essa repelência era o pentadecano (Zhang et al., 2015).

Docosano pode ser encontrado em *Rosa hybrida* L. (Araújo et al., 2020), nas folhas do tomateiro (*Solanum lycopersicum* Mill.) (Fernandes et al., 2012), em pimentão (*Capsicum annum*) (Shivaramu et al., 2017). Pentadecano, tetradecano e docosano assim como outros hidrocarbonetos de cadeia longa podem ser usados como agentes de controle biológico (kairomônios) para controle de pragas devido sua

ação na atração de inimigos naturais dessas pragas (MURALI-BASKARAN et al., 2018).

Álcoois e Aldeídos

Nos resultados do presente trabalho foram encontrados o álcool 2-etil-1-exanol e o aldeído nonanal, voláteis de folhas verdes além do decanal.

Os voláteis de folhas verdes (GLV) são compostos já foram encontrados em na mistura volátil emitidas por plantas (SCHRÖDER et al., 2015). A biossíntese desses compostos pode ocorrer devido a ferimento mecânico causados a plantas ou ataque de herbívoros pela ativação da via da oxilipina. GLVs desencadeiam a expressão de genes relacionados à defesa, maximizando as defesas indiretas das plantas além de atrair inimigos naturais dos herbívoros (FÜRSTENBERG-HÄGG; ZAGROBELNY; BAK, 2013b).

Essa classe de COVs compreende os derivados de ácidos graxos poli-insaturados (ácidos linoleico e linolênico), dependem de acetil-CoA plastidial gerado a partir de piruvato da glicólise, para que sejam convertidos, ao final da via, em aldeídos e álcoois. Para a biossíntese desses COVs os ácidos graxos poli-insaturados entram na via da lipoxigenase (LOX) são oxigenados estereoespecificamente formando dois intermediários o 9-hidroperoxi e 13-hidroperoxi e esses intermediários, por sua vez, são metabolizados por meio dos dois ramos da via das oxilipinas composta de dois ramos distintos. Os ácidos graxos poli-insaturados sofrem a ação de lipases e são liberados no cloroplasto. Em uma etapa seguinte os ácidos (linolênico e linoléico), liberados devido a ação de lipases (após estresse, por exemplo), tornam-se substratos para enzimas C13 e C9-lipoxigenases (13-LOX). Essas enzimas catalisam reações que levam a produção de 13-hidroxiperoxi e 9-hidroxiperoxi. Estes compostos convertidos a uma série de outros composto. Devido a ação de aleno óxido sintase e aleno óxido ciclase o 13-hidroxiperoxi pode ser convertido a ácido jasmônico. A ação da hidroperóxido-liase converte 13-hidroxiperoxilinolênico em aldeídos C6 e C9. Os aldeídos produzidos por essa via posteriormente podem ser reduzidos a álcoois por ação da enzima álcool desidrogenases (ADH). O 9-hidroxiperoxilinolênico é convertido em nonanal devido a ação das enzimas .Esses aldeídos e álcoois C 6 / C 9 saturados e insaturados são conhecidos como voláteis de folhas compostos que podem ajudar na defesa das plantas contra organismos patogênicos insetos

herbívoros, além de serem usados na comunicação entre planta (DUDAREVA et al., 2013; GOSSET et al., 2009; UL HASSAN; ZAINAL; ISMAIL, 2015).

Nonanal e decanal eram integrantes da mistura volátil emitida por *Caragana brachypoda* e *Caragana ordosica* reponsável por repelir *Chlorophorus caragana brachypoda* (ZHANG et al., 2015). Esses compostos foram também encontrados na mistura de voláteis emitida por plantas de fava (*Vicia faba* var. Nintoku Issun) intactas e infestadas com *Acyrtosiphon pisum* e *Aphis craccivora* (TAKEMOTO; TAKABAYASHI, 2015). O nonanal faz parte dos voláteis de folhas verde (UL HASSAN; ZAINAL; ISMAIL, 2015). De acordo com (GOSSET et al., 2009) esse COV foi emitido por plantas de batata (*Solanum tuberosum* L. cv. Désirée) infestadas com o besouro da batata do Colorado (*Leptinotarsa decemlineata* Say), um herbívoro mastigador, ou com o pulgão verde do pêsego (*Myzus persicae* Sulzer) um inseto sugador/perfurador. Nesse trabalho os autores argumentam que ocorreram variações na concentração do nonanal emitido pelas plantas devido aos diferentes tratamentos. As plantas infestadas com os besouros apresentaram a maior concentração desse COV seguidas das plantas infestadas com os pulgões. Além disso, corroborando com os resultados apresentados no presente estudo, esses mesmos autores mostraram que plantas intactas também emitiram o nonanal, porém, entre os diferentes tipos de tratamentos usados (plantas intactas e com diferentes infestações) as plantas as plantas intactas foram as que apresentaram a menor concentração desse composto (GOSSET et al., 2009). O nonanal pode fazer parte de misturas voláteis que atraem parasitóides/predadores de herbívoros (YU et al., 2010). Em um trabalho com feijão-caupi, (*Vigna unguiculata* L.) (SOBHY; BRUCE; TURLINGS, 2018) mostraram que o nonanal era integrante de uma mistura de COVs, emitida por essas plantas, responsável por atrair os parasitóides *Cotesia marginiventris* (Cresson), *Microplitis rufiventris* (Kok.) (Hymenoptera: Braconidae). Nesse mesmo trabalho os autores mostraram que uma série de outros compostos faziam parte da mistura atrativa para os parasitóides dentre os quais o decanal também estava presente (Sobhy et al., 2018). Em experimentos usando olfatometros de tubo em Y (YANG et al., 2016) demonstraram que o nonanal foi individualmente atarativo para o parasitóide *Cotesia plutellae* quando usado em uma m a concentração de 100 μ L / mL. Esses autores mostraram ainda que quando uma mistura que continha nonanal como um dos seus constituintes era oferecida o parasitóide a atratividade era mis acentuada do que quando era oferecido qualquer composto individual (YANG et al., 2016).

O 2-etil-1exanol estava presente na mistura de COVs emitida por plantas de arroz tratadas com silício e infestadas por *Cnaphalocrocis medinalis*. Além disso, a mistura de COVs emitida por essas plantas foi mais atrativa para o parasitóide *Trathala flavoorbitalis* e *Microplitis mediator* Haliday (LIU et al., 2017).

Terpenos

No presente trabalho os terpenos limoneno, γ -cadineno e α -cadineno também foram encontrados na mistura de COVs emitida pelos acessos. Estes compostos são monoterpenos formados pela união de duas unidades de isoprenos C_5 , formando compostos com dez unidades de carbono (DUDAREVA et al., 2013).

Os terpenos são emitidos por diversas espécies de planta diferentes (SCHRÖDER et al., 2015). Compostos desse tipo constituem uma classe de metabólitos grande e estruturalmente diversificada que podem desempenhar papéis significativos na defesa e desenvolvimento em inúmeras espécies de plantas (BLOCK et al., 2019). Os terpenos podem indicar a presença de outros insetos herbívoros em uma planta, atuar na atração de inimigos naturais desses insetos herbívoros ou ainda repelir esses insetos herbívoros (FÜRSTENBERG-HÄGG; ZAGROBELNY; BAK, 2013b). Esses COVs são emitidos por plantas saudáveis para realização de funções vitais, como proteger as plantas dos estresses bióticos e abióticos; ou são tratados como moléculas de sinalização, como na atração de polinizadores entre outras funções (SINGH; SHARMA, 2015), podendo ainda serem emitidos devido a oviposição de insetos herbívoros (ANASTASAKI et al., 2015).

No trabalho com plantas de tomateiro realizado por (DE BACKER et al., 2015) verificou-se que plantas intactas e infestadas por *Tuta absoluta* são capazes de liberar COVs terpenicos e que a quantidade de monoterpeno liberada foi mais elevada em plantas infestadas. O trabalho realizado por (LEPPIK; TAMMARU; FRÉROT, 2014) demonstrou que plantas de milho intactas liberam uma mistura de COVs composta, dentre outros voláteis, por limoneno, alfa-cadineno e gama-cadineno.

O limoneno foi um dos terpenos encontrados em plantas de batata, porém esse composto não apresentou qualquer efeito sobre o comportamento de *Rhopalosiphum padi* (SCHRÖDER et al., 2015). Em plantas de tomate tratadas com salicilato de metila *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) fortemente repelida e tal repelência ocorreu devido a atuação de limoneno (SHI et al., 2016). O limoneno,

decanal e nonanal foram encontrados em plantas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) e em cana-de-açúcar (QUINTANA-RODRIGUEZ et al., 2015; SILVA FILHO, 2014). O composto 3,7,11,15-Tetrametil-2-hexadecen-1-ol foi encontrado em diversas plantas (KALE, 2015; ZAYED; SAMLING, 2016).

O trabalho realizado por (SUN et al., 2017) com diferente linhagens de arroz transgênico mostrou que *Rhopalosiphum padi* (Linnaeus) preferiu infestar as linhagens de arroz tps 46-Ri que não apresentavam em suas misturas voláteis o limoneno e (E) - β -farneseno (E β f). Em experimentos realizados em condições de estufa mostrou-se que limoneno emitido a partir de dispensadores artificiais repeliu a mosca-branca *Trialeurodes vaporariorum* Westwood) em todos os estágios do ciclo de vida testados. *Helicoverpa armígera* (Lepidoptera: Noctuidae) teve crescimento significativamente menor, alta mortalidade quando alimentadas com dietas contendo limoneno (SINGH et al., 2014). Esse composto foi também encontrado na mistura de voláteis emitida por plantas de fava (*Vicia faba* var. Nintoku Issun) intactas e infestadas com *Acyrtosiphon pisum* e *Aphis craccivora* (TAKEMOTO; TAKABAYASHI, 2015). Esses mesmos autores demonstraram que α -Cadineno estava presente na mistura de compostos emitida pelas plantas infestadas (TAKEMOTO; TAKABAYASHI, 2015).

O 3,7,11,15-Tetrametil-2-hexadecen-1-ol (fitol) foi identificado em extrato de plantas *Annona muricata* (SHIBULA; VELAVAN, 2015) e nos constituintes voláteis de *Gynandris Sisyrrinchium* (AL-QUDAH; MUHAIDAT; TRAWENH, 2012) e pode atuar como um composto de defesa em plantas de arroz infestadas por *Nilaparvata lugens*.

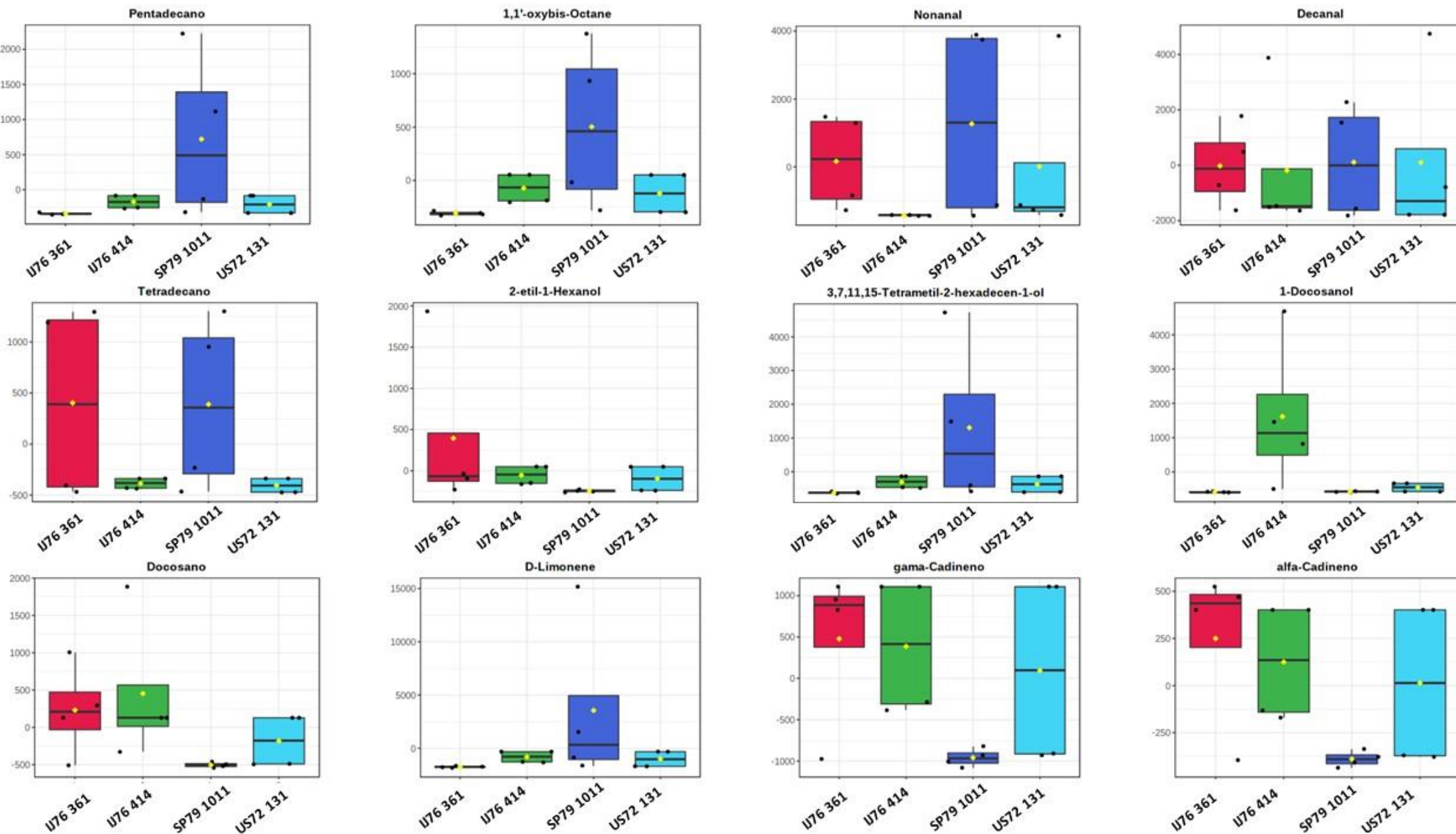
7.6 Variação nos níveis dos COVs emitidos

Os dados de áreas dos COVs foram submetidos a uma análise de variância multivariada (MANOVA) e de forma mais geral, observou-se que não houve diferença significativa nos padrões quantitativos de emissões de voláteis entre os quatro acessos testados aos pares (MANOVA, $P > 0,05$), porém, sabe-se que tanto a quantidade quanto a qualidade de voláteis emitidos por uma determinada planta pode variar (SHI et al., 2016) tal variação pode ocorrer constitutivamente (LEPPIK; TAMMARU; FRÉROT, 2014) ou devido a outros fatores (LORETO; SCHNITZLER, 2010), como a herbivoria por insetos (DEGEN et al., 2004).

A partir dos resultados do presente trabalho pode-se perceber que o número e a identidade dos COVs da mistura variaram entre as misturas de COVs emitidas pelos

acessos. Tal constatação está de acordo com dados da literatura que mostraram que diferenças qualitativas e quantitativas na composição da mistura de voláteis podem ser observadas em cultivares diferentes de uma mesma espécie (DA COSTA et al., 2011), por exemplo em cana-de-açúcar (TAVARES, 2016), milho (SCHNEE et al., 2002). A emissão de diferentes COVs entre as cultivares da mesma espécie podem estar associados à resistência ou a uma maior atração aos insetos herbívoros, esses compostos emitidos podem ser de classes diferentes e quando são de classes iguais podem ser emitidos em quantidades diferentes.

Figura 22-Boxplot das concentrações relativas dos metabólitos voláteis liberados pelos quatro acessos de cana-de-açúcar



7.7 Influência dos COVs sobre a preferência de *D. sacharalis*

Quando analisamos os COVs presente na mistura emitida por cada um dos acessos (Figura 22) percebemos que a identidade dos compostos presentes nas misturas emitias pelos acessos são variáveis. Como compostos químicos de plantas podem influenciar resistência do tipo antixenose (BOUAGGA et al., 2018) os COVs encontrados no presente trabalho provavelmente estão influenciando o comportamento de *D. saccharalis* mostrado a partir dos resultados do bioensaio de antixenose.

Quando se comparou os acessos IJ76 361 e SP79 1011 percebeu-se que a *D. saccharalis* preferiu o padrão de susceptibilidade. Tais observações podem ser explicada devido a diferenças na mistura COV pelos respectivos acessos. A presença de COVs na mistura emitida por IJ76 361, tais como alfa-cadineno, gama-cadineno e 2-ethyl-1-Hexanol (BANOŽIĆ et al., 2021; SHIVARAMU et al., 2017) na mistura de COVs de IJ76 361 poderiam explicar os resultados observados no bioensaio de antixenose. Esse acesso foi o que emitiu o maior número de voláteis em sua mistura, oito no total, (Figura 18).

O acesso IJ76414 emitiu a menor quantidade de COVs em sua mistura, dois no total quando comparado ao acesso SP79 101 que emitiu sete no total. O acesso SP79 1011 foi usado como padrão de susceptibilidade no presente estudo sendo o menos preferido pela *D. saccharalis* no bioensaio de antixenose quando comparado ao acesso IJ76 414, como mostrado anteriormente (Figura 18), além de ter sido segundo acesso que emitiu o maior número de voláteis em sua mistura.

Corroborando com os resultados do presente trabalho estudos anteriores mostram que os insetos herbívoros podem perceber a mistura de COVs emitido pelas plantas e serem influenciados por esses compostos e que as proporções entre os COVs que compõem uma mistura tem uma influência maior no comportamento de insetos do que presença ou ausência desses compostos individuais (BRUCE; PICKETT, 2011; SHIVARAMU et al., 2017). Além disso, quando usados individualmente os COVs podem desencadear comportamentos opostos aqueles observados quando esses compostos estão presentes em uma dada mistura (WEBSTER et al., 2010).

Um estudo realizado por (MOLNÁR et al., 2015) investigou quais voláteis de milho poderiam desempenhar um papel na localização de plantas hospedeiras em fêmeas *Ostrinia nubilalis* Hübner (Lepidoptera: Crambidae). Seus resultados confirmaram que as fêmeas adultas *O. nubilalis*, foram atraídas por uma mistura de dois compostos na proporção encontrada no milho em um experimento usando túnel de vento. A partir de análise realizada por GC-EAD e GC / MS esses autores mostraram que o nonanal e o decanal eram detectados de forma consistente pela antena da fêmea *O. nubilalis* e que uma mistura desses dois compostos na proporção encontrada no milho era altamente atrativa para esses insetos nos ensaios em túnel de vento.

No estudo realizado por (SHIVARAMU et al., 2017) a partir de ensaios em olfatometros de múltipla escolha (quatro braços) esses autores avaliaram a atratividade de voláteis liberados *Capsicum annum* (pimentão) no comportamento da sua praga, fêmeas adultas de *Scirtothrips dorsalis*. Esses autores constataram que o docosano foi um dos compostos liberados pela planta que demonstrou ser atrativo para *Scirtothrips dorsalis*.

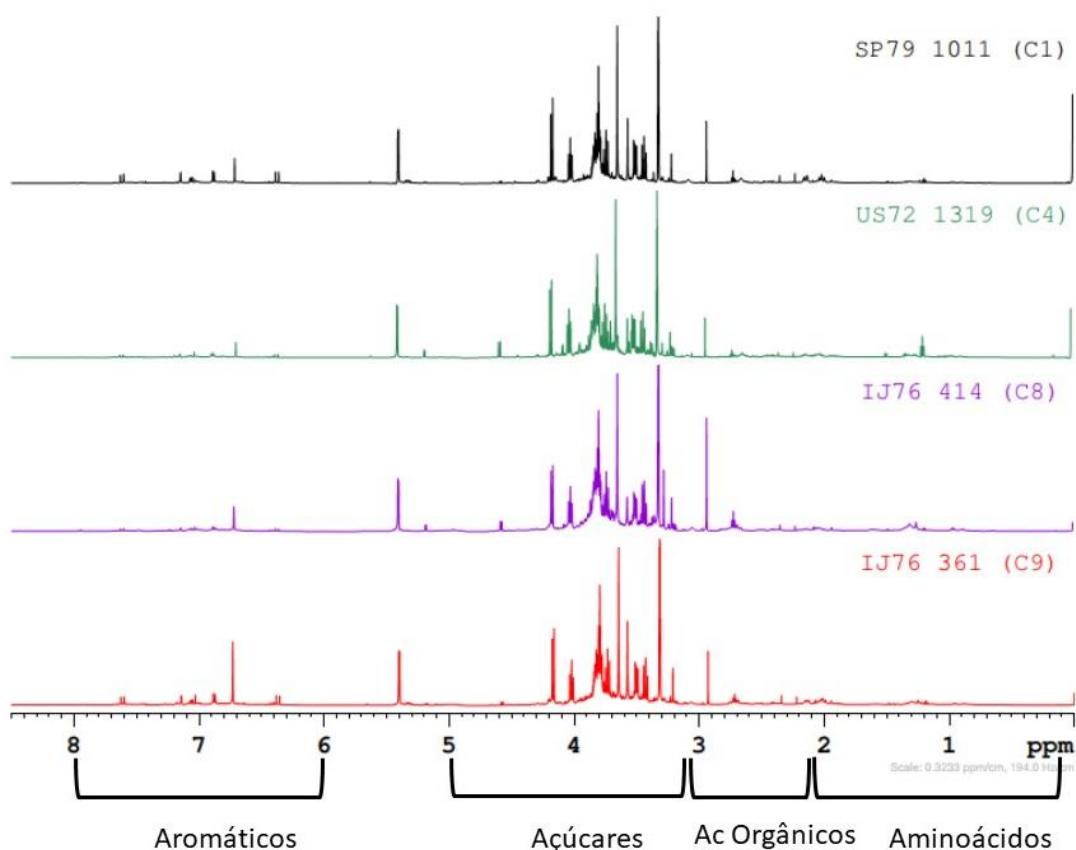
7.8 Análises multivariada dos dados de RMN de extratos de folhas dos acessos

Metabólitos de diferentes classes foram identificados como discriminantes a partir da comparação entre os acessos. As comparações foram restritas as plantas de um determinado tratamento, ou seja, plantas do controle foram comparadas entre elas e plantas infestadas foram comparadas entre elas. Análises OPLS-DA foram construídas a partir de dados obtidas das análises de RMN- ^1H e permitiram tais comparações. Os acessos US 721319, IJ 76414 e IJ76 361 foram comparados a um padrão, o acesso SP79 1011 (susceptível a *D. saccharalis*). As comparações foram efetuadas de modo pareado e os pares usados foram US 721319 e SP79 10110, IJ 76414 e SP79 10110 e por fim IJ76 361 e SP79 10110. Assim, de agora em diante quando for citado que um determinado metabólito teve níveis mais ou menos elevados essas variações serão sempre com relação ao acesso SP79 10110 tanto para as comparações entre os acessos do tratamento controle quanto para os acessos do tratamento infestado.

7.9 Análises multivariada dos dados de RMN de extratos de folhas dos acessos do grupo controle

O espectro de RMN-1H dos extratos de plantas geralmente é dividido em 4 regiões características de deslocamentos químicos: aminoácidos (0.5 – 2 ppm), ácidos orgânicos (2 – 3 ppm), açúcares (3 – 5 ppm) e compostos aromáticos (6 – 8 ppm). A Figura 23 mostra a comparação entre os espectros de RMN-1H dos acessos do grupo controle composto pelos acessos IJ 76361 (Vermelho), IJ 76414 (Roxo), US 721319 (Verde) e do acesso SP 791011 (Preto). A análise desses espectros utilizando somente o experimento de hidrogênio unidimensional é muito complexa devido à sobreposição de sinais de dezenas de metabólitos e tal fato dificulta a identificação desses metabólitos. Desse modo, para a identificação dos metabólitos discriminantes dos acessos do controle foram executadas análises de dados de ressonância magnética nuclear em duas dimensões.

Figura 23-Comparação dos espectros de RMN-1H de extrato de folhas dos acessos (Controle) com as regiões características de algumas classes de metabólitos



7.10 Análise de componentes principais dos extratos das folhas dos acessos do controle.

Antes de efetuarmos as comparações utilizando OPLS-DA, para visualizar as tendências gerais de agrupamento entre os acessos dos grupos controle, foram realizadas a análise de componentes principais (PCA) (do inglês Principal Component Analysis) e a análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA). Tais técnicas foram aplicadas aos dados de RMN obtidos de extratos das folhas das plantas.

A PCA para identificação de outliers e tendências de agrupamentos, foi aplicada em uma matriz de dados formada a partir dos dados espectroscópicos oriundos da análise de extratos das folhas dos acessos do grupo controle composta de amostras nas linhas e variáveis nas colunas como também uma matriz de dados formada a partir dos dados espectroscópicos oriundos da análise de extratos das folhas dos acessos do grupo infestado. O conjunto de variáveis foi pré-processado usando o método de escalonamento de Pareto para reduzir a importância de valores altos das variáveis e preservar parcialmente a estrutura dos dados (WORLEY; POWERS, 2013). Posteriormente os dados foram submetidos a análise de componentes principais. Esse procedimento tornou possível a redução da dimensionalidade do conjunto de dados com perda mínima de informações além de possibilitar a visualização de tendências de agrupamento, de modo a permitir uma melhor interpretação desses dados.

Os componentes principais 1 e 2 representaram 40,4 e 15,8%, respectivamente, da variabilidade do conjunto de dados e juntos representaram 56,2% da variabilidade total para as amostras do grupo controle. O gráfico bidimensional de escores (pontuação) (Figura 24) demonstra a formação de agrupamentos a partir dos 4 acessos do grupo controle. Os pontos relativamente agrupados indicam que os metabolomas das amostras foram semelhantes, porém foi possível, a partir da PCA, observar a formação de agrupamentos ocorrendo entre os acessos de SP79 1011 (C1) e US 721319 (C4) (pontos vermelhos e amarelos respectivamente) indicando que os metabolomas desses dois acessos são semelhantes entre si. Além disso, foi possível observar a formação de agrupamento de pontos entre os acessos de IJ 76414 (C8) e IJ 76361 (C9) indicando que o metaboloma desses acessos são semelhantes

entre si, porém diferentes dos metabolomas dos acessos C1 e C4. Os pontos de dados foram separados de acordo com a ponderação das variáveis (features). Variáveis correlacionadas positivamente têm aproximadamente o mesmo valor de ponderação e, portanto, aparecem próximas umas das outras, enquanto variáveis correlacionadas negativamente aparecem diagonalmente opostas uma à outra.

Os cinco primeiros componentes principais (PC1 a PC5) foram calculados com base na variação dos metabólitos oriundos dos acessos do grupo controle demonstrando que essas cinco primeiras componentes foram responsáveis por explicar 79,6 % da variância dos dados (Figura 25).

O modelo apresentou coeficientes de variação observada ($R^2 = 0,78$) e variação prevista ($Q^2 = 0,66$) que estavam dentro dos limites ($R^2 \geq 0,7$ e $Q^2 \geq 0,4$) considerados aceitáveis para a qualidade de tendência em sistemas biológicos (VEERASAMY et al., 2011).

Figura 24-Escores oriundos de PCA realizada a partir dos espectros de RMN-¹H de extratos de folhas dos acessos do grupo controle

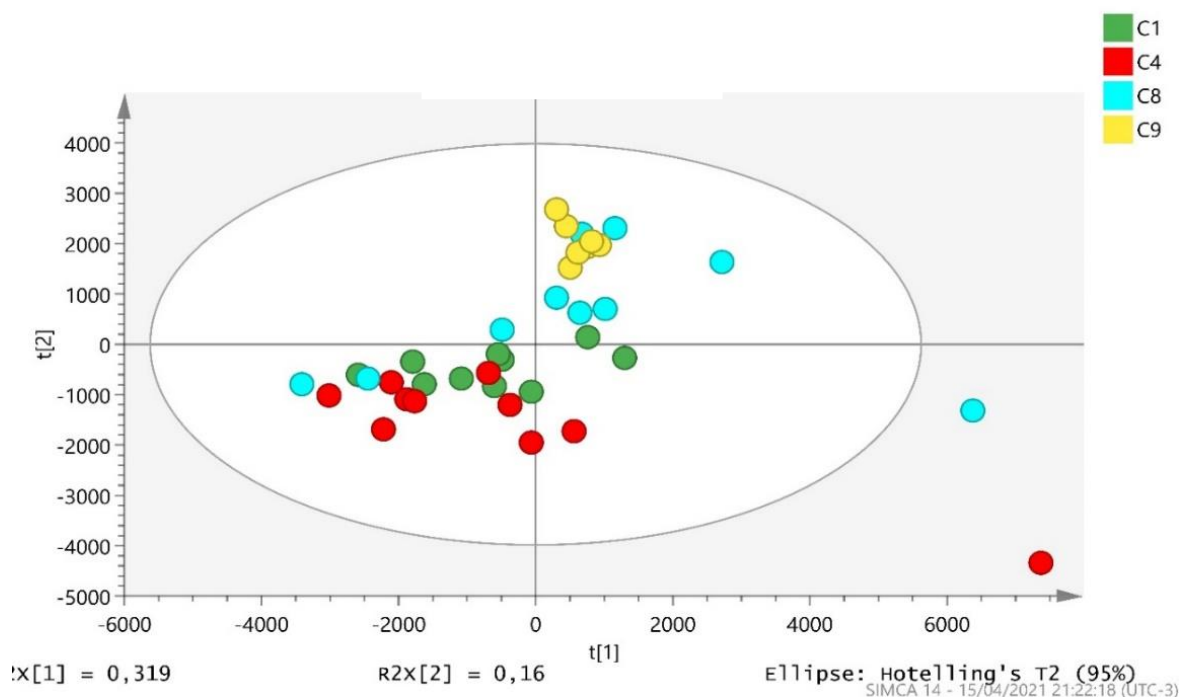
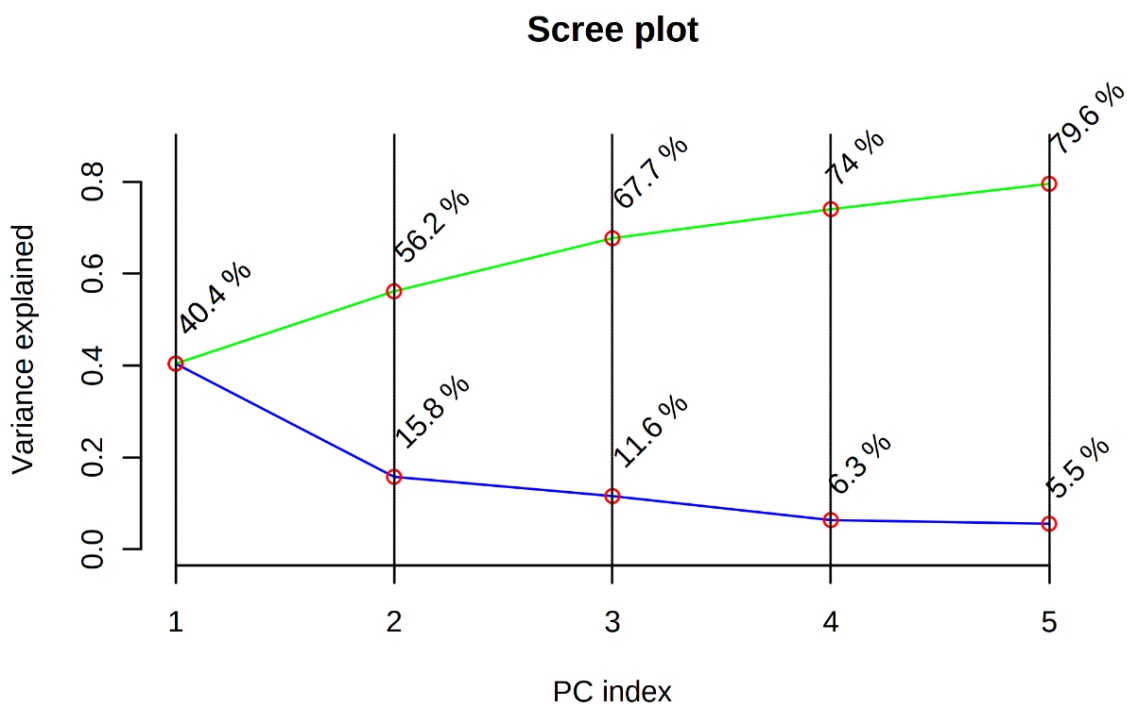


Figura 25-Valor individual dos cinco primeiros componentes principais (azul), e



o valor acumulado dos cinco primeiros componentes principais (verde)

7.11 Análise discriminante por mínimos quadrados parciais PLS-DA dos extratos das folhas dos acesso do controle

Para tentar capturar variações nos dados não observadas a partir da PCA o modelo PLS-DA foi conduzido entre os acessos C1, C4, C8 e C9. O gráfico de escores da PLS-DA, (Figura 26), mostrou uma discriminação significativa entre esses quatro acessos com base no modelo de escalonamento de Pareto.

A validação cruzada total foi utilizada para a validação do modelo fornecendo os valores $R^2 = 0,79136$ e $Q^2 = 0,68281$. Os parâmetros estatísticos R^2 e Q^2 , são apresentados na figura 21. R^2 reflete a quantidade de variabilidade da condição dos acessos explicada pelo modelo foi de 0,79136 e Q^2 a habilidade preditiva do modelo foi de 0,68281. Nesse caso o modelo foi considerado aceitável já que $R^2 > Q^2$ e a diferença entre os dois coeficientes foi menor que 0,3. Além disso, ($Q > 0.5$ indica um bom poder preditivo) (VEERASAMY et al., 2011).

A análise de permutação também foi usada para validação do modelo. Nesse tipo de análise inicialmente os valores de R^2 e Q^2 são usados para verificar a exatidão do modelo. A matriz de resposta é então permutada aleatoriamente, um dado número de vezes, mantendo-se a matriz de dados X fixa são estimados a partir da matriz de dados original. A análise de permutação envolveu 400 permutações da variável de classe e o gráfico (Figura 27) demonstra os valores de R^2 e Q^2 em relação ao coeficiente de correlação entre a resposta real e a resposta da permutação demonstra e como a posição relativa da exatidão do modelo com as classes originais é diferente em comparação com aquelas obtidas com as classes permutadas, o valor de p foi menor do que 0,1% indicando que a exatidão do modelo de PLS-DA permutado raramente seria melhor do que para o modelo ajustado com os dados originais. Logo, como os valores de R^2 e Q^2 obtidos a partir das permutações ($R^2 = 0,497$, $Q^2 = -1,06$) são menores que os originais o modelo é válido.

Figura 26-Escores oriundo de PLS-DA realizada a partir dos espectros de RMN- ^1H de extratos de folhas dos acessos do grupo controle

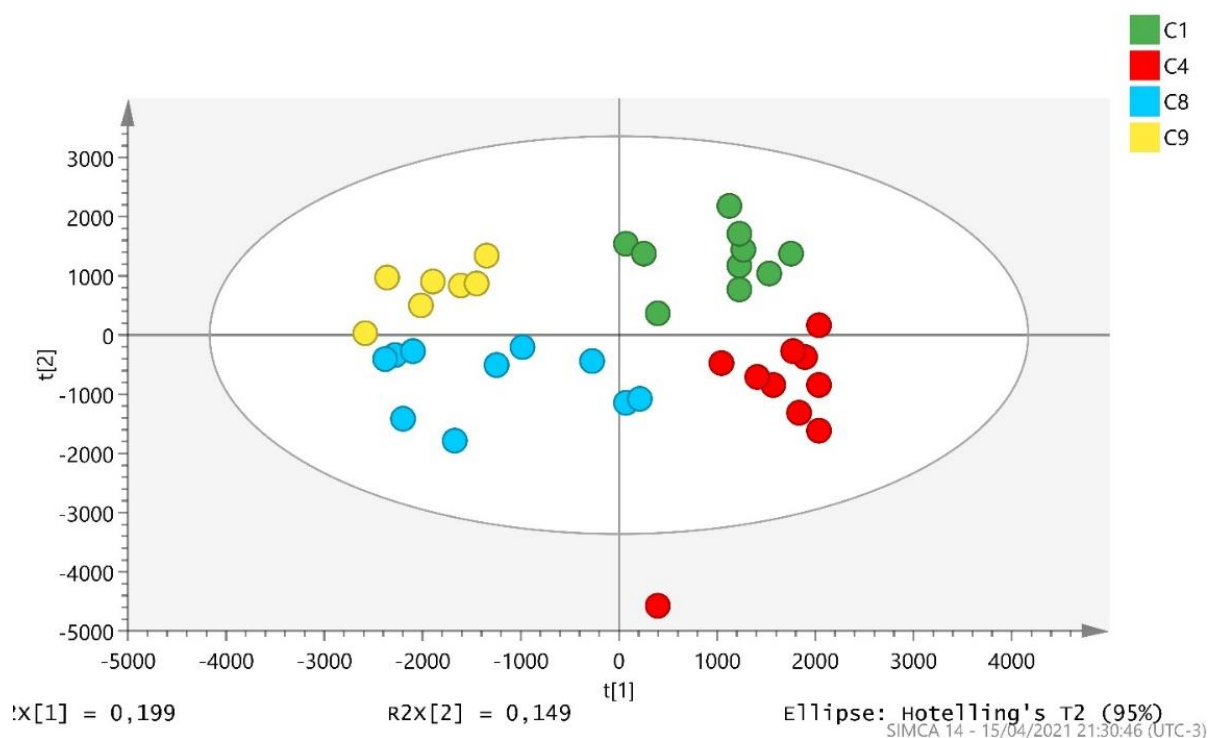
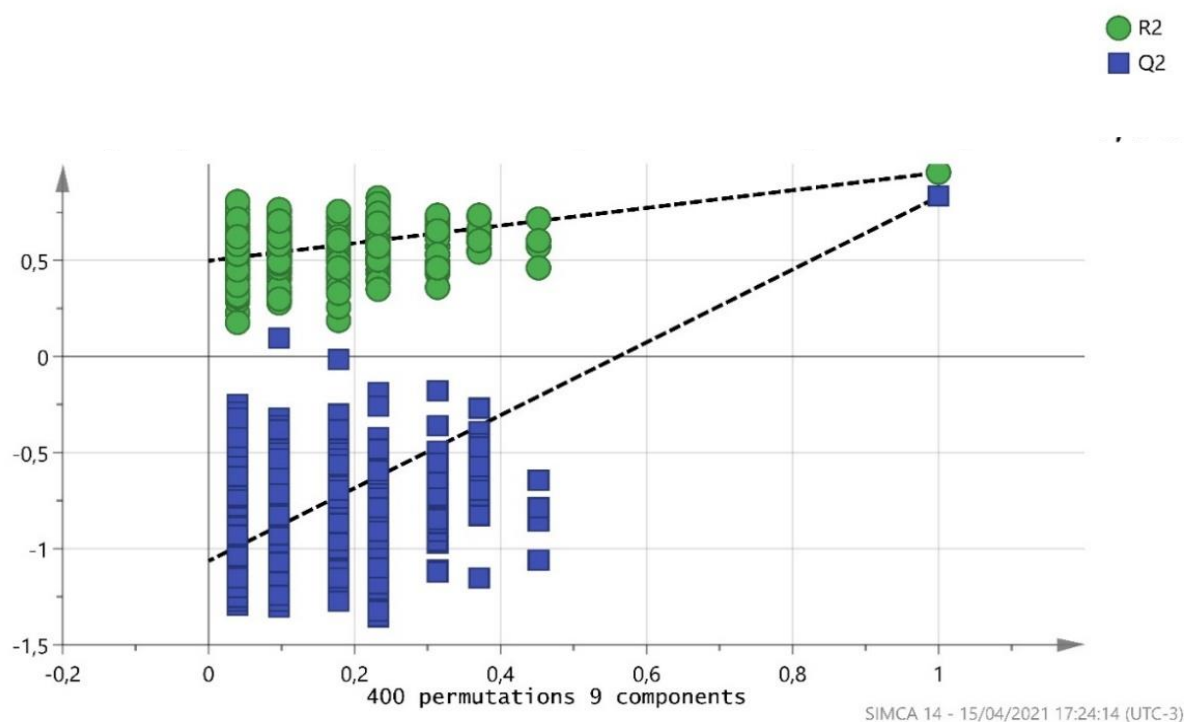


Figura 27-Estatísticas do teste de permutação com 400 permutações com o valor



observado para a exatidão do modelo de predição com $p < 0,001$

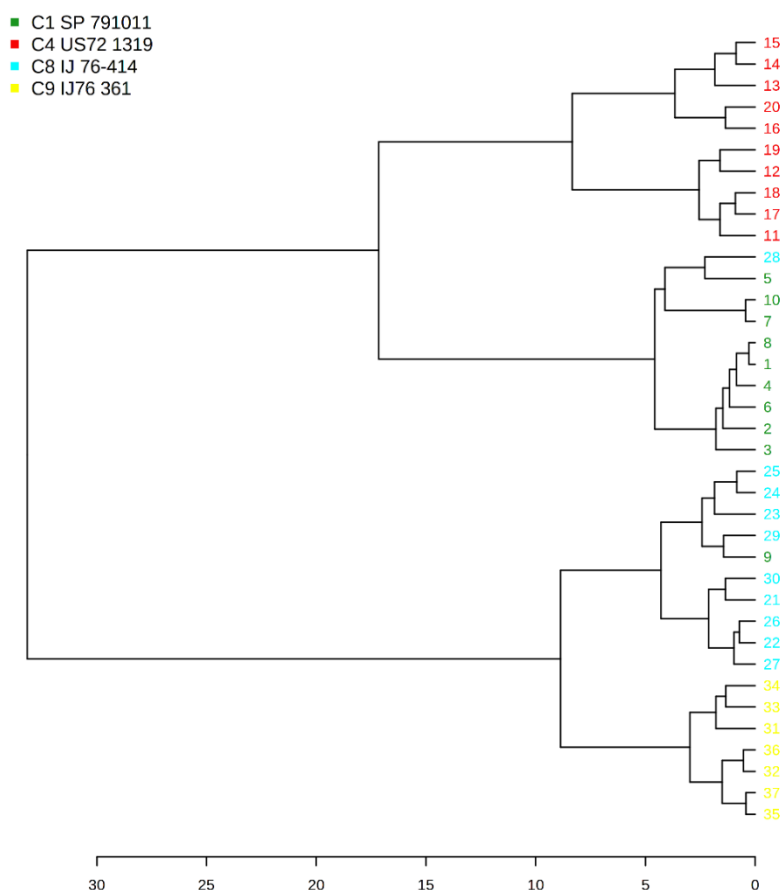
7.12 Análise de agrupamento hierárquico (HCA)

Para tentar capturar tendências de agrupamento de modo a complementar os resultados obtidos a partir da PCA efetuou-se a análise de agrupamento hierárquico (HCA). O HCA é um processo hierárquico no qual, em cada passo a matriz de dados é diminuída em uma dimensão, pela reunião de pares semelhantes, até a reunião de todos os pontos em um único grupo. O HCA exibe os dados em um espaço bidimensional de dando ênfase aos seus agrupamentos e padrões naturais. A distância entre os pontos (amostras ou variáveis) reflete a similaridade de suas propriedades, sendo útil para determinar a semelhança entre amostras (PANERO et al., 2009).

A análise de agrupamento hierárquico produziu o dendrograma HCA usando o método Ward usando como métrica a distância euclidiana (Figura 28) ilustrou a formação de quatro principais grupos de amostras dividindo esses grupos em dois subgrupos, mostrando que IJ76 361 (C9) e IJ76 414 (C8) estão mais próximos entre

si formando um grupo o qual está mais afastado do grupo formado por SP79 1011 (C1), US72 1319 (C4) mais próximos entre si.

Figura 28-Dendrograma obtido para as 4 PCs com o método de Ward de agrupamento



7.13 Perfil metabólico dos extratos de folhas dos acessos do grupo controle

A identificação dos metabólitos foi realizada pela análise dos dados de RMN, com base na inspeção direta dos espectros comparando-se com dados da literatura (HMDB, 2020), software Chenomix[®], para confirmação dos metabólitos foi utilizado uma combinação dos experimentos J-resolvido, COSY (acoplamento homonuclear $^1\text{H} - ^1\text{H}$), HSQC (acoplamento heteronuclear $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ J^1) e HMBC (acoplamento heteronuclear $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ $J^{2,3}$) que são importantes para a confirmação dos metabólitos.

A Tabela 3 mostra todos os metabólitos encontrados nos acessos SP79 1011 (C1), US72 1319 (C4), IJ 76414 (C8) e IJ 76361 (C9) identificados através dos S-line

gerado a partir da OPLS-DA utilizando o software SIMCA, no qual os compostos com maior poder discriminante estão nas extremidades do gráfico.

Tabela 3-Metabólitos solúveis de extratos de folhas de acessos do grupo controle

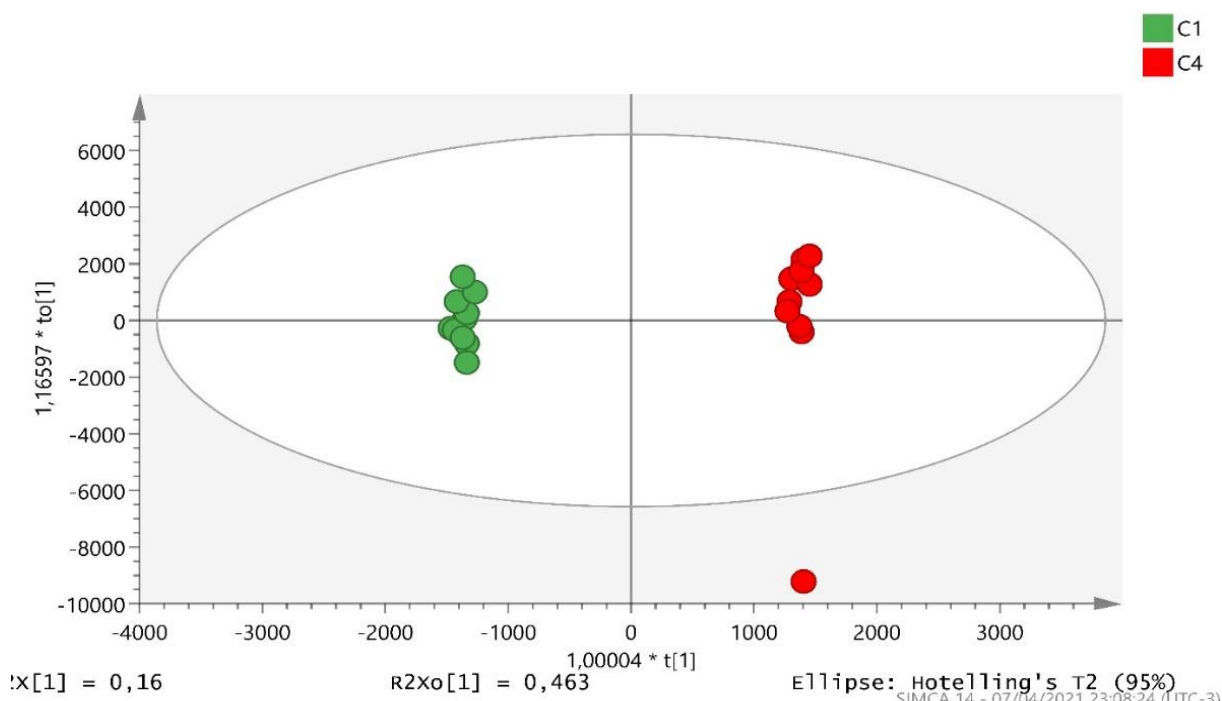
Número	Metabólito	δ (ppm)	Multiplicidade	J (Hz)
1	Glicina	3.56	s	
2	Betaína	3,26	s	
3	Dimetilglicina	2.93; 2.71	s	
4	Ácido Gálico	7.03	s	
5	Maltose	5.40; 3.84; 3.41	d, d, m, t	3.8
6	Acetato	1.94	s	
7	Ácido aconítico	E- 3.57; 6.63	s, s	
8	α -Glicose	5.18		
9	Glicose-6- fosfato	3.97, 5.18	d, d	7.2, 3.8
10	Valina	3.59, 1.01, 1.06, 1.18, 1.22,	d, d, d, d, m,	12, 7, 7
11	Colina	2.21	s	
12	α -Alanina	1.48, 3.74	d,m	H-3 7.3
13	Tirosina Ácido Clorogênico	6.89, 7.15 7.62, 7.17, 7.06, 6.37, 5.31, 3.8, 2.01	d, d d, d, dd, d, m, d, m	8.2, 1.8 (H-7', 16), (H-14), (H-2, 2,1), (H-8, 16), (H-5), (H- 3), (H-4), (H-6, H-2)
14	D-Xilose	4.59, 3.51, 3.44, 3.95,	d, dd, t, dd	7.9, (9.8, 4), (9.7 (x2)), (4.3, 2.5),

15	Sacarose	5.41, 4.18, 4.04, 3.74, 3.66, 3.52	d, d, t, t, s, dd,	(H-1, 3.8), (H-3, 8.8), 8.4 (x2), 9.5 (x2), (10, 3.8)
16	Etanol	1.19	t	7 (x2)
17	Piruvato	2.35	s	
18	Ác. Succinico	2.44	s	
19	Fumarato	6.71	s	

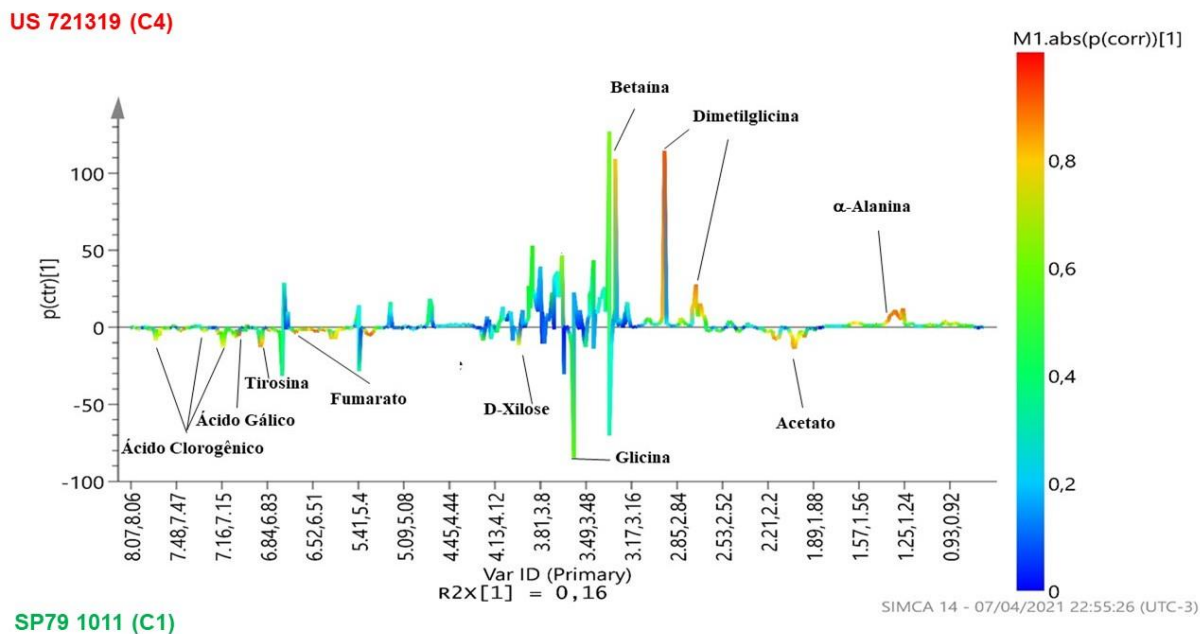
7.14 Análise multivariada de extratos de folhas dos acessos SP79 1011 (C1) e US72 1319 (C4) controles

A OPLS-DA é um método estatístico supervisionado que tem como objetivo a identificação dos biomarcadores relacionados ao estudo. Neste trabalho, foram realizados modelos de OPLS-DA analisando os acessos dois a dois comparando o acesso SP79 1011 individualmente com cada um dos outros diferentes acessos. A figura 29 demonstra o gráfico de escore da OPLS-DA a partir da comparação entre os acessos SP 791011 (C1) e US72 1319 (C4). A partir do gráfico de escore da OPLS-DA pode-se observar as duas primeiras componentes (ou variáveis latentes) demonstrando que o modelo OPLS-DA foi capaz de discriminar os grupos estudados.

Figura 29-A) Escores da OPLS-DA dos acessos do grupo controle SP 791011 (C1) e US72 1319 (C4)

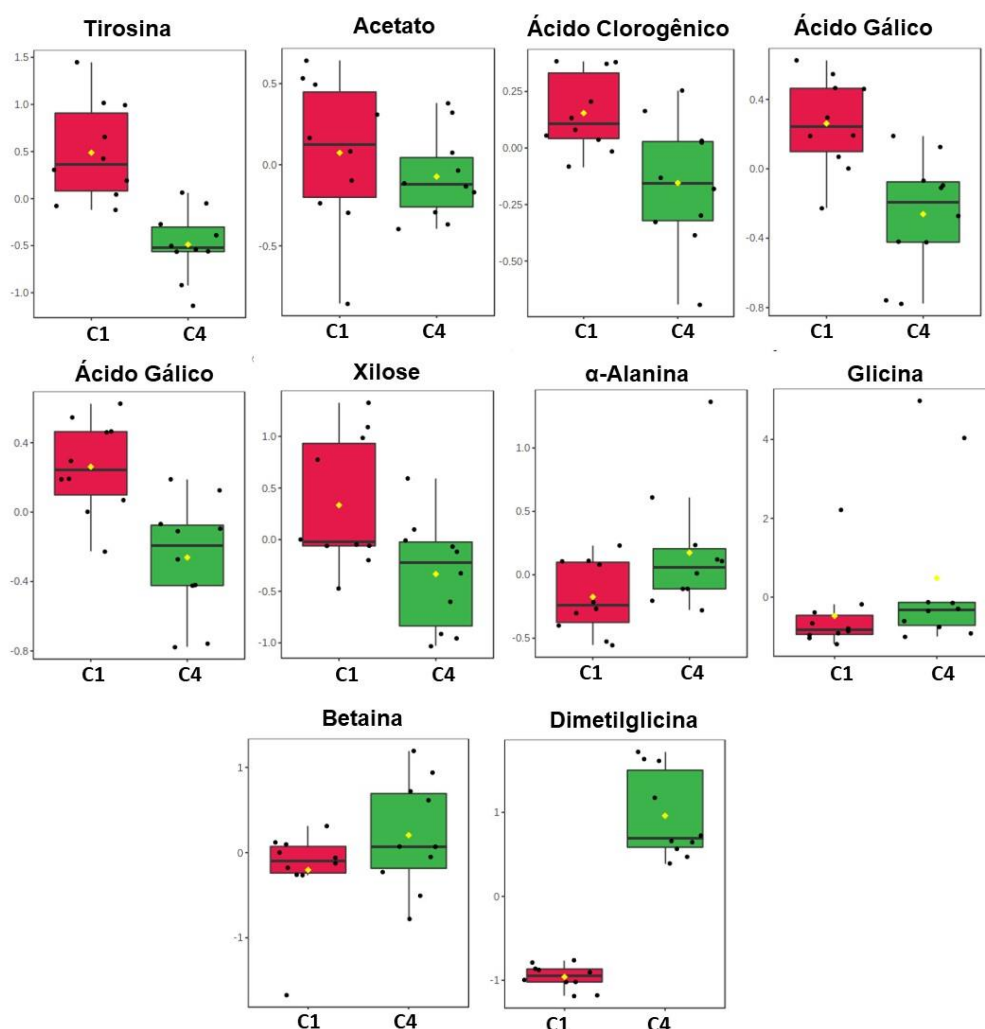


B)-Gráfico S-line mostrado os metabólitos discriminantes dos acessos SP 791011 (C1) e US72 1319 (C4)



A Figura 30 apresenta o comportamento dos níveis dos metabólitos discriminantes nas folhas dos acessos SP79 1011 (C1) e US72 1319 (C4) por meio do gráfico boxplot construído através das integrais das áreas dos sinais de RMN processados no software MetaboAnalist. Estes metabólitos apresentaram variância significativa (ANOVA) com valor de $p < 0,05$.

Figura 30-Boxplot das concentrações relativas dos metabólitos discriminantes presentes nos extratos de folhas dos SP79 1011 (C1) e US72 1319 (C4) controle. (Teste t, $p < 0,05$).

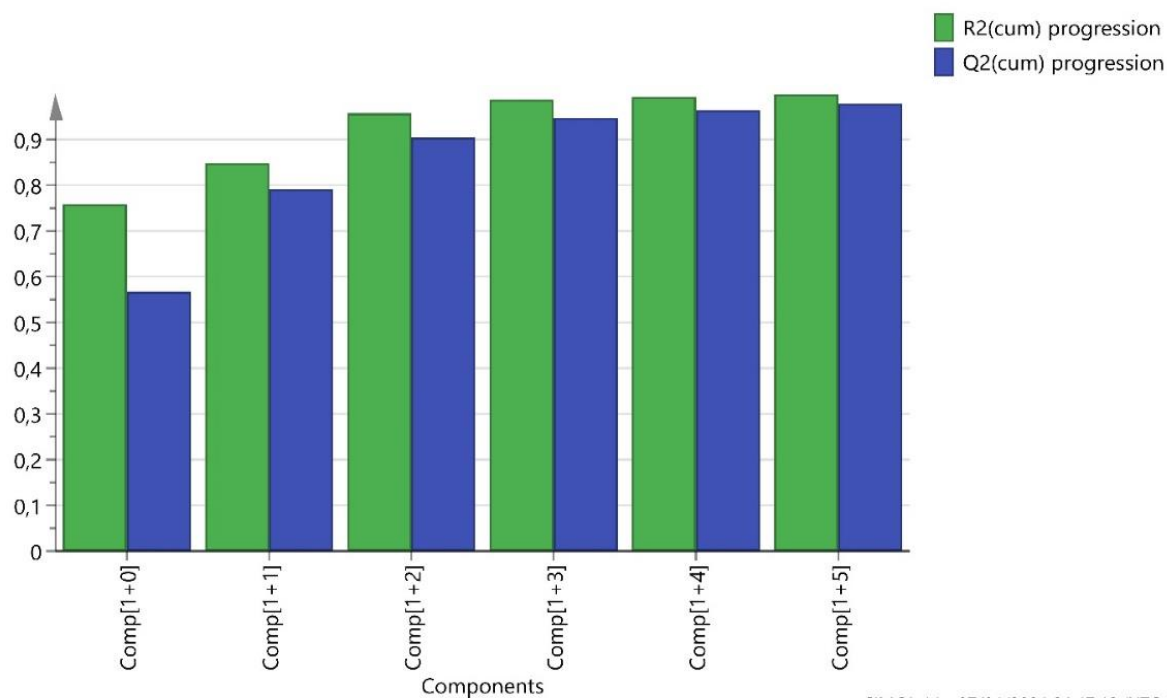


Ao analisar os gráficos boxplots observou-se aumento nos níveis dos metabólitos tirosina, acetato, ácido clorogênico, ácido gálico e D-xilose e uma tendência de diminuição nos níveis de alanina, glicina, betaina e dimetilglicina para o acesso SP79 1011 (C1).

O método de validação cruzada leave-one-out foi usado para a comparação entre SP79 1011 (C1) e US72 1319 (C4) a partir do modelo OPLS-DA e forneceu os valores $R^2 = 0.996$; $Q^2 = 0.946$ (Figura 31). No caso geral, a qualidade preditiva de um modelo é considerada aceitável quando $R^2 > Q^2$ e a diferença entre os dois coeficientes é menor que 0,3. Diferenças maiores entre R^2 e Q^2 indicariam que o

modelo sofreu manipulação (VEERASAMY et al., 2011), mas, uma diferença $<0,3$ foi observada no presente estudo.

Figura 31-Gráfico com valores cumulativos de R2 e Q2 para cada componente obtidos para o modelo OPLS-DA após a validação cruzada (LOOCV).



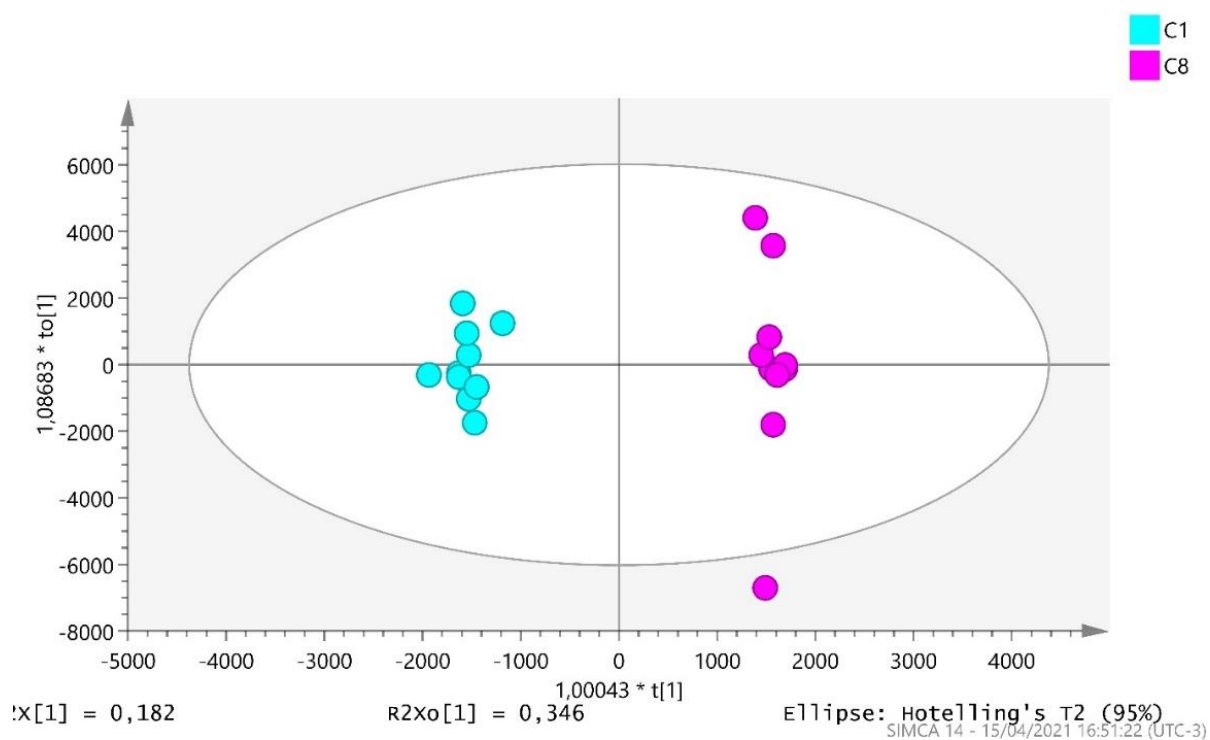
SIMCA 14 - 07/04/2021 21:47:12 (UTC-3)

7.15 Análise multivariada de extratos de folhas dos acessos SP79 1011 (C1) e IJ 76414 (C8) controles

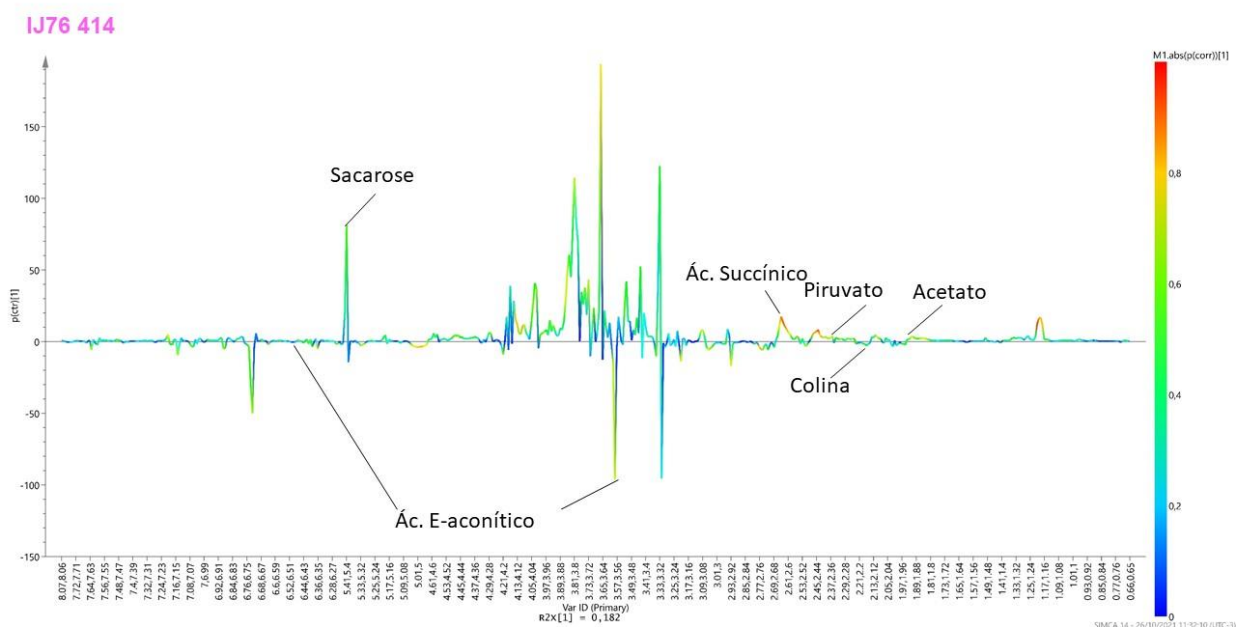
Os acessos C1 SP79 1011 e os acessos IJ 76414 (C8), também foram comparadas através da OPLS-DA para verificar quais os metabólitos contribuíam para a discriminação entre estes dois grupos. Os grupos foram formados pelos acessos SP79 1011 (C1) (pontos em vermelho) e acessos IJ 76414 C8 (pontos em verde) (Figura 32a) e os metabólitos discriminantes foram identificados a partir do gráfico S-line (Figura 32b).

A figura 33 apresenta o comportamento dos níveis dos metabólitos discriminantes nas folhas dos acessos C1 e C4 por meio do gráfico boxplot construído através das integrais das áreas dos sinais de RMN processados no software MetaboAnalyst. Estes metabólitos apresentaram variância significativa (ANOVA) com valor de $p < 0,05$.

Figura 32-Escores da OPLS-DA dos acessos do grupo controle SP 791011 (C1) e IJ 76414 (C8)



B)-Gráfico S-line mostrado os metabólitos discriminantes dos acessos SP79 1011 (C1) e IJ 76414 (C8)

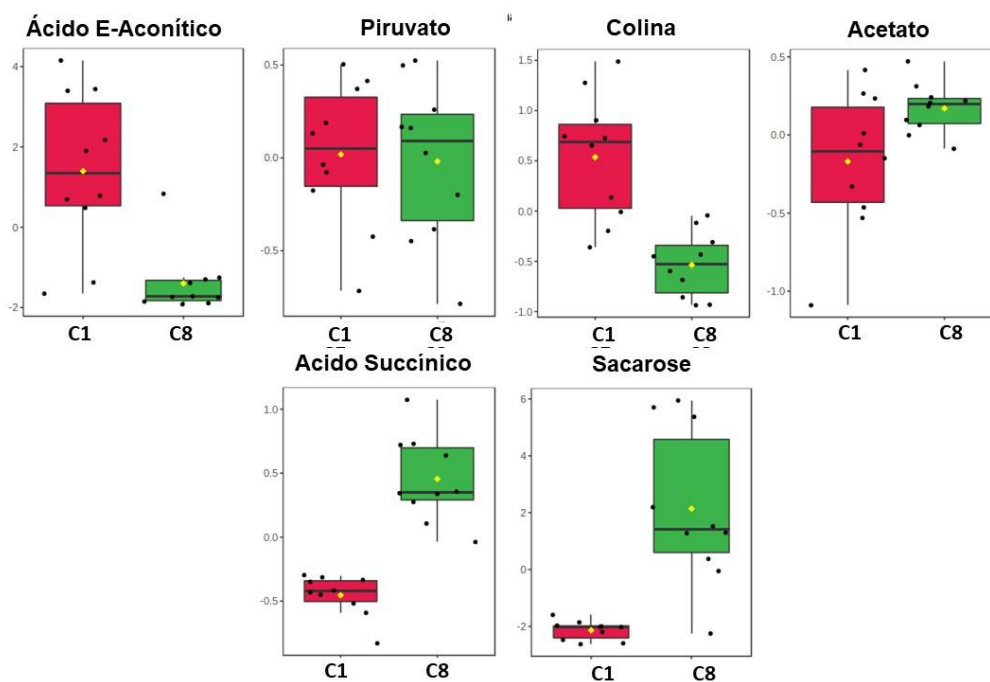


SP79 1011

Ao analisar os gráficos boxplots (Figura 33) observou-se aumento nos níveis dos metabólitos acetato, ácido succínico e sacarose, piruvato, ácido E-aconítico e

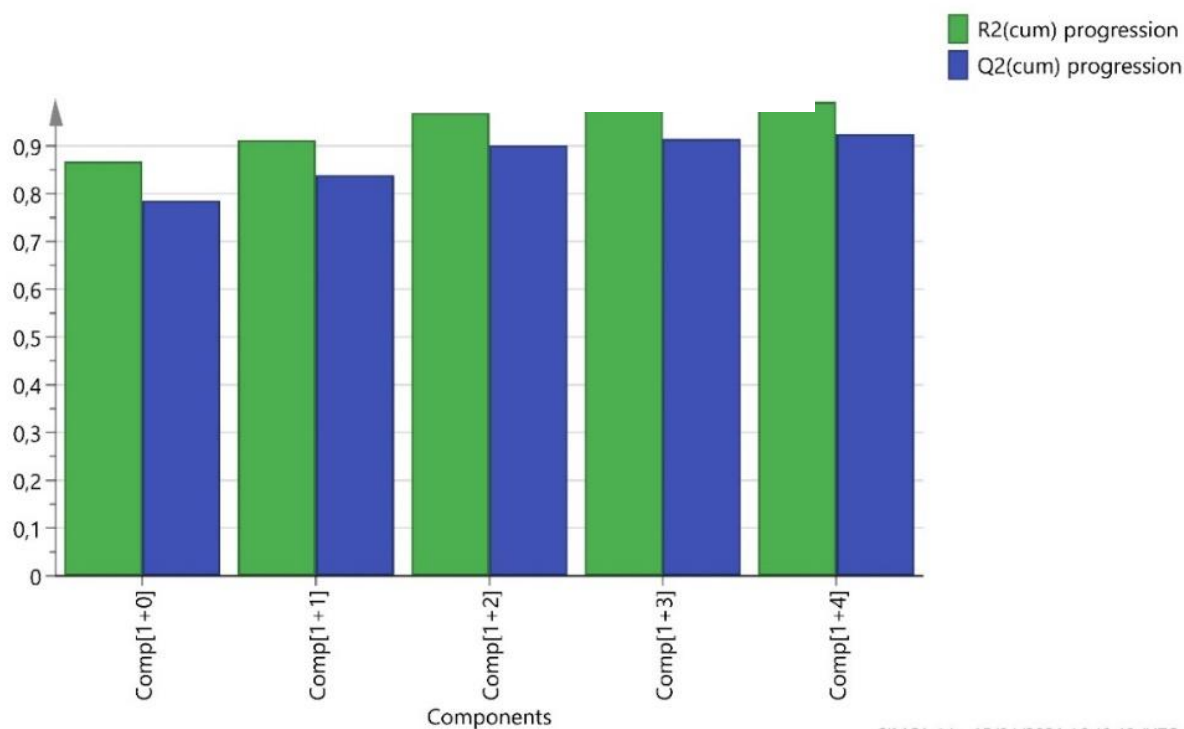
colina apresentaram uma tendência de diminuição nos seus níveis para o acesso IJ 76414 (C8). O comportamento dos níveis dos metabólitos discriminantes nas folhas dos acessos C1 e C8 foi analisado por meio do gráfico boxplot construído através das integrais das áreas dos sinais de RMN processados no software MetaboAnalist. Estes metabólitos apresentaram variância significativa (ANOVA) com valor de $p < 0,05$

Figura 33-Boxplot das concentrações relativas dos metabólitos discriminantes presentes nos extratos de folhas dos SP 791011 (C1) e IJ 76414 (C8) controle. (Teste t, $p < 0,05$).



Para a comparação entre SP79 1011 (C1) e IJ 76414 (C8) o modelo OPLS-DA também foi verificado pelo método de validação cruzada leave-one-out, que forneceu os valores $R^2 = 0,992$ e $Q^2 = 0,925$ (Figura 34). No caso geral, a qualidade preditiva de um modelo é considerada aceitável quando $R^2 > Q^2$ e a diferença entre os dois coeficientes é menor que 0,3. Diferenças maiores entre R^2 e Q^2 indicariam que o modelo sofreu manipulação (VEERASAMY et al., 2011), mas uma diferença $< 0,06$ foi observada no presente estudo .

Figura 34-Gráfico com valores cumulativos de R^2 e Q^2 para cada componente obtidos para o modelo OPLS-DA após a validação cruzada.

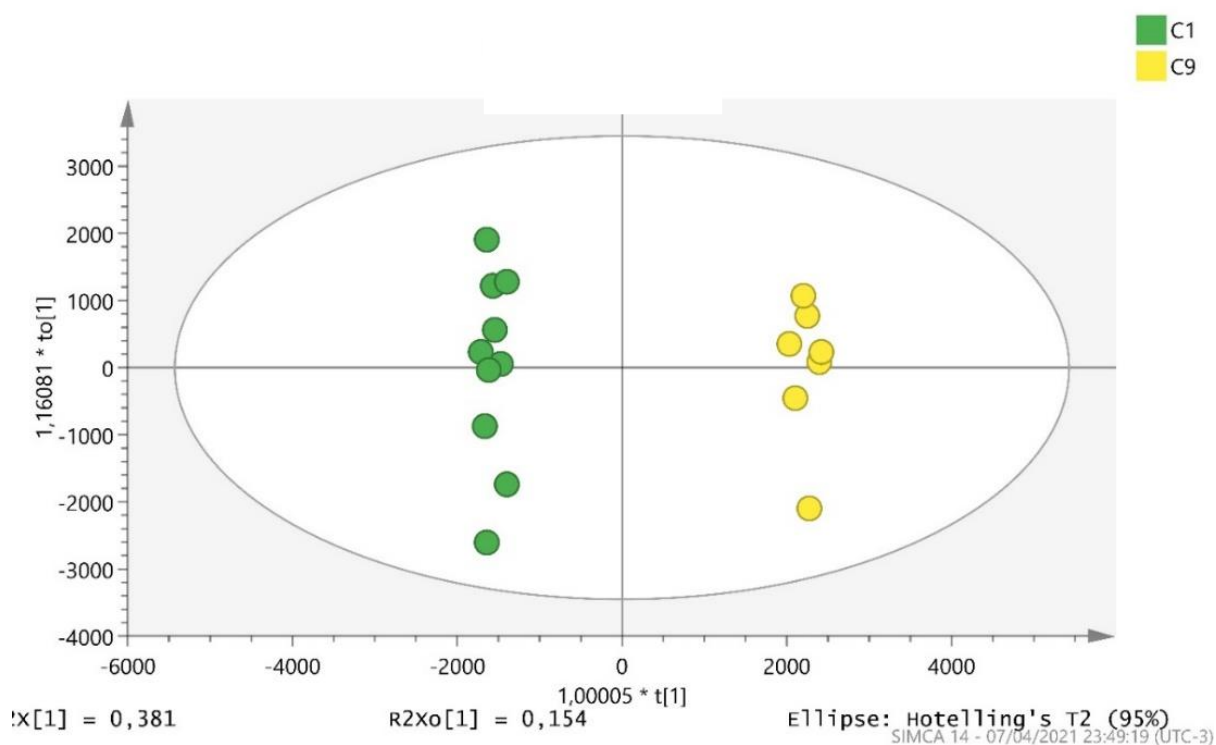


7.16 Análise multivariada de extratos de folhas dos acessos SP79 1011 (C1) e IJ 76414 (C9) controles

Para os acessos do grupo SP79 1011 (C1) e os acessos do grupo IJ 76414 (C9), também foram comparadas, para verificar quais os metabólitos que eram discriminantes para estes dois grupos. Os grupos foram formados por pelos acessos C1 (pontos em verde) e acessos C9 (pontos em amarelo) (Figura 35a) e a identificação dos metabólitos discriminantes foi efetuada a partir do gráfico S-line (Figura 35b).

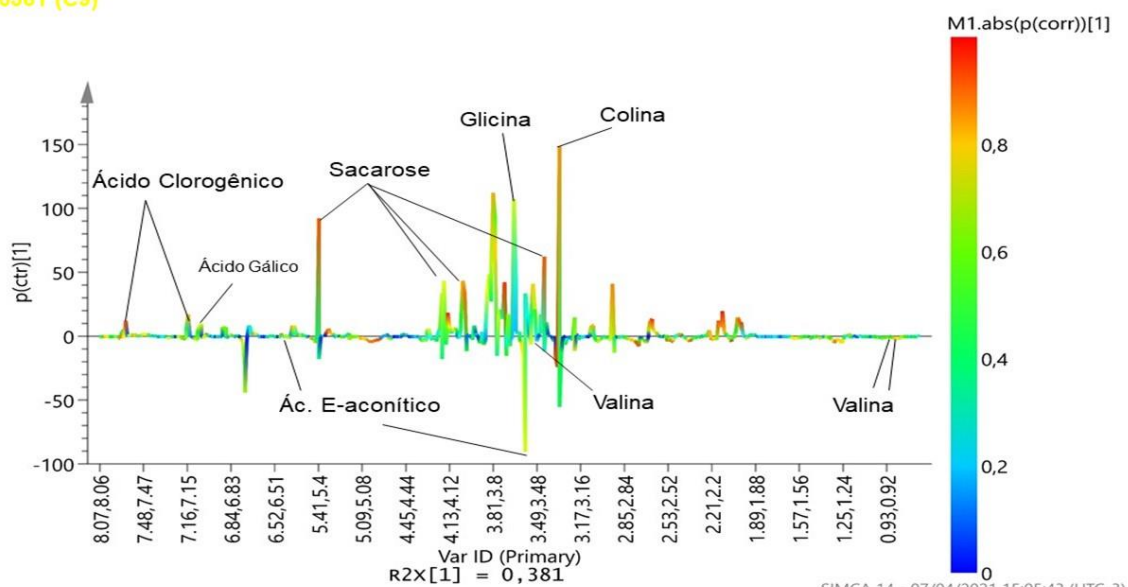
A figura 36 apresenta o comportamento dos níveis dos metabólitos discriminantes nas folhas dos acessos C1 e C9 por meio do gráfico boxplot construído através das integrais das áreas dos sinais de RMN processados no software MetaboAnalist. Estes metabólitos apresentaram variância significativa (ANOVA) com valor de $p < 0,05$. Ao analisar os gráficos boxplots observou-se aumento nos níveis dos metabólitos ácido clorogênico, sacarose, glicina colina e ácido gálico para IJ 76361 C9. Valina e ácido E-aconítico apresentaram uma tendencia de diminuição nos seus níveis para esse mesmo acesso.

Figura 35 A)-Escores da OPLS-DA dos acessos do grupo controle SP 791011 (C1) e IJ 76361 (C9)



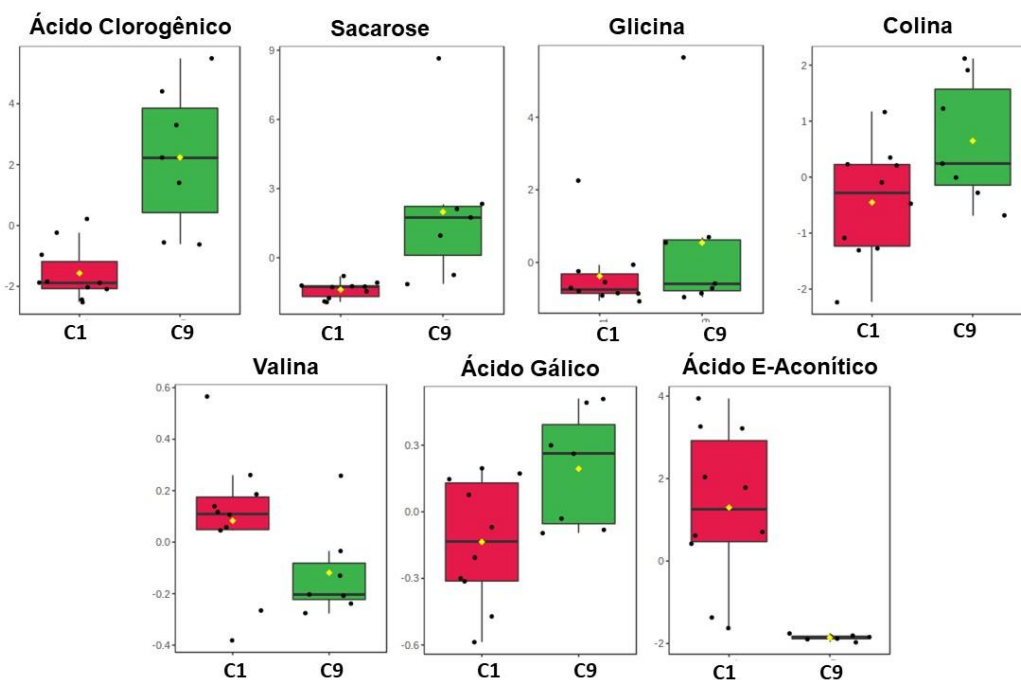
B)-Gráfico S-line mostrado os metabólitos discriminantes dos acessos SP79 1011 (C1) e IJ76 361 (C9)

IJ 76361 (C9)



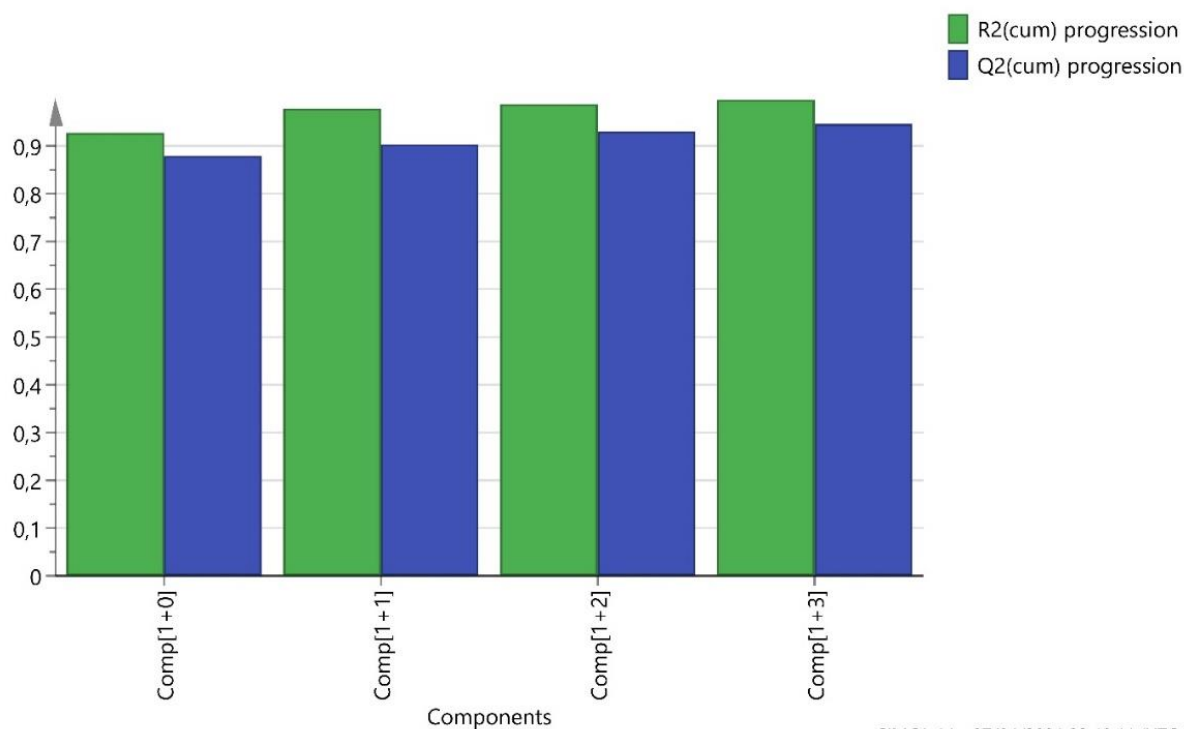
SP79 1011 (C1)

Figura 36-Boxplot das concentrações relativas dos metabólitos discriminantes presentes nos extratos de folhas dos SP79 1011 (C1) e IJ76 361 (C9) controle. (Teste t, $p < 0,05$)



Para a comparação entre SP79 1011 e C9 o modelo OPLS-DA a validação cruzada leave-one-out forneceu os valores $R^2 = 0,996$ e $Q^2 = 0,946$ (Figura 37). O modelo teve boa qualidade preditiva já que $R^2 > Q^2$ e a diferença entre os dois coeficientes é menor que 0,05. Diferenças maiores entre R^2 e Q^2 indicariam que o modelo sofreu manipulação (VEERASAMY et al., 2011).

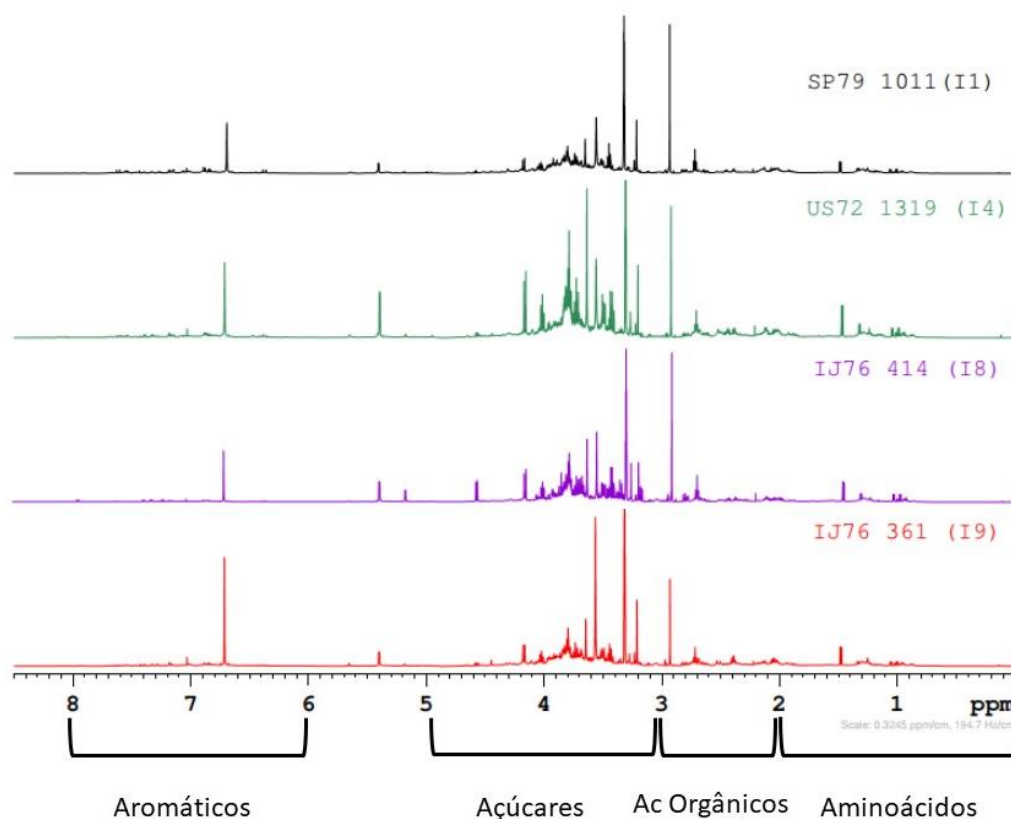
Figura 37-Gráfico com valores cumulativos de R^2 e Q^2 para cada componente obtidos para o modelo OPLS-DA após a validação cruzada (LOOCV)



7.17 Análise multivariada dos metabólitos dos acessos do tratamento infestado

A figura 38 mostra a comparação entre os espectros de RMN-¹H dos acessos do tratamento infestado composto pelos acessos IJ76 361 (Vermelho), IJ76 414 (Roxo), US72 1319 (Verde) e do acesso SP79 1011 (Preto). A análise desses espectros utilizando somente o experimento de hidrogênio unidimensional é muito complexa devido à sobreposição de sinais de dezenas de metabólitos e tal fato dificulta a identificação desses metabólitos. Desse modo, para a identificação dos metabólitos discriminantes dos acessos do tratamento infestado, semelhante aos acessos do tratamento controle, foram executadas análises de dados de ressonância magnética nuclear em duas dimensões.

Figura 38-Comparação dos espectros de RMN-¹H de extrato de folhas dos acessos (Infestados) com as regiões características de algumas classes de metabólitos

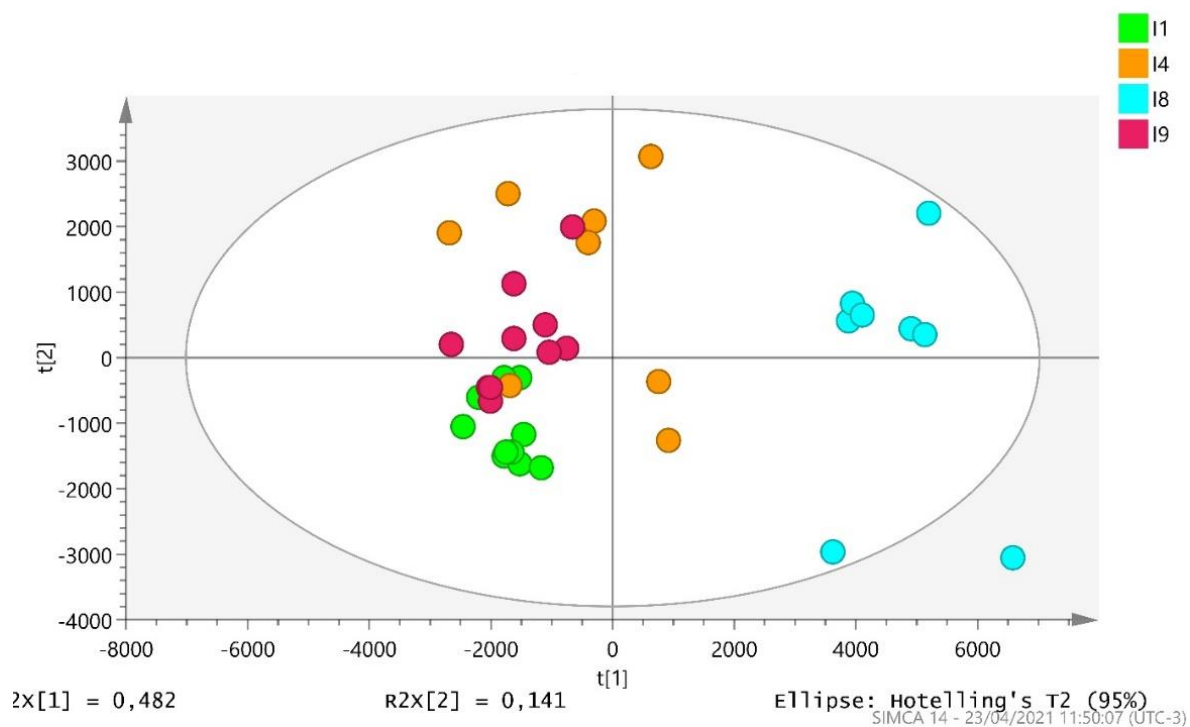


7.18 Análise de componentes principais de extratos das folhas dos acessos do tratamento infestado

De modo semelhante ao usado para os acessos do tratamento controle, antes de efetuarmos as comparações utilizando OPLS-DA, para visualizar as tendências gerais de agrupamento entre os acessos do tratamento infestado, foram realizadas a análise PCA e PLS-DA. Tais técnicas foram aplicados aos dados de RMN obtidos de extratos das folhas das plantas.

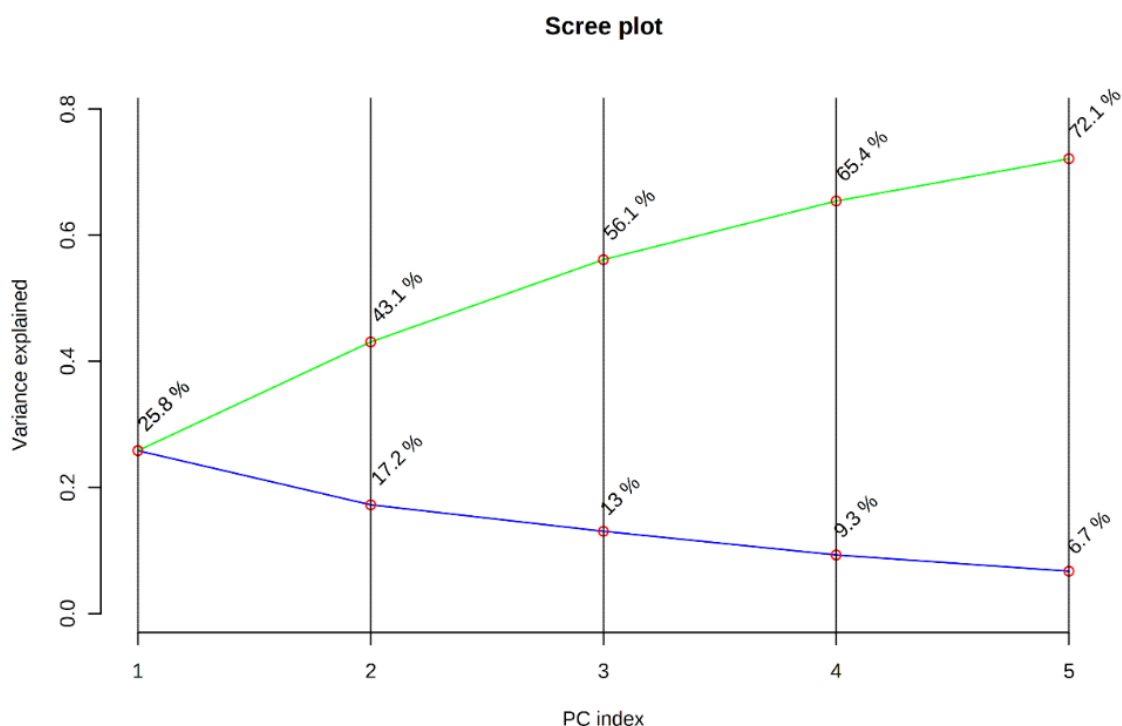
Para as amostras do grupo infestado análise de componentes principais explicou 43,1% da variância total dos dados através das componentes 1 e 2. Os dados estatísticos de diagnóstico usados para a validação do modelo PCA usados foram $R^2 = 0,856$, coeficiente que indica a percentagem da variabilidade dos dados somando-se as duas componentes principais, e $Q^2 = 0,598$ que mostra o poder preditivo do modelo uma vez que $Q > 0.5$ indicando um bom poder preditivo. Os escores da PCA (Figura 39) foram formados por 4 grupos diferentes, sendo cada grupo composto por amostras de um dado acesso infestado mostrados abaixo em cores diferentes.

Figura 39-Escores oriundos de PCA realizada a partir dos espectros de RMN-¹H de extratos de folhas dos acessos do grupo infestado



Os cinco primeiros componentes principais (PC1 a PC5) calculados com base na variação dos metabólitos oriundos dos acessos do grupo controle demonstraram que as cinco primeiras componentes foram responsáveis por explicar 72,1 % da variância dos dados (Figura 40)

Figura 40-Valor individual dos cinco primeiros componentes principais (azul), e o valor acumulado dos cinco primeiros componentes principais (verde)

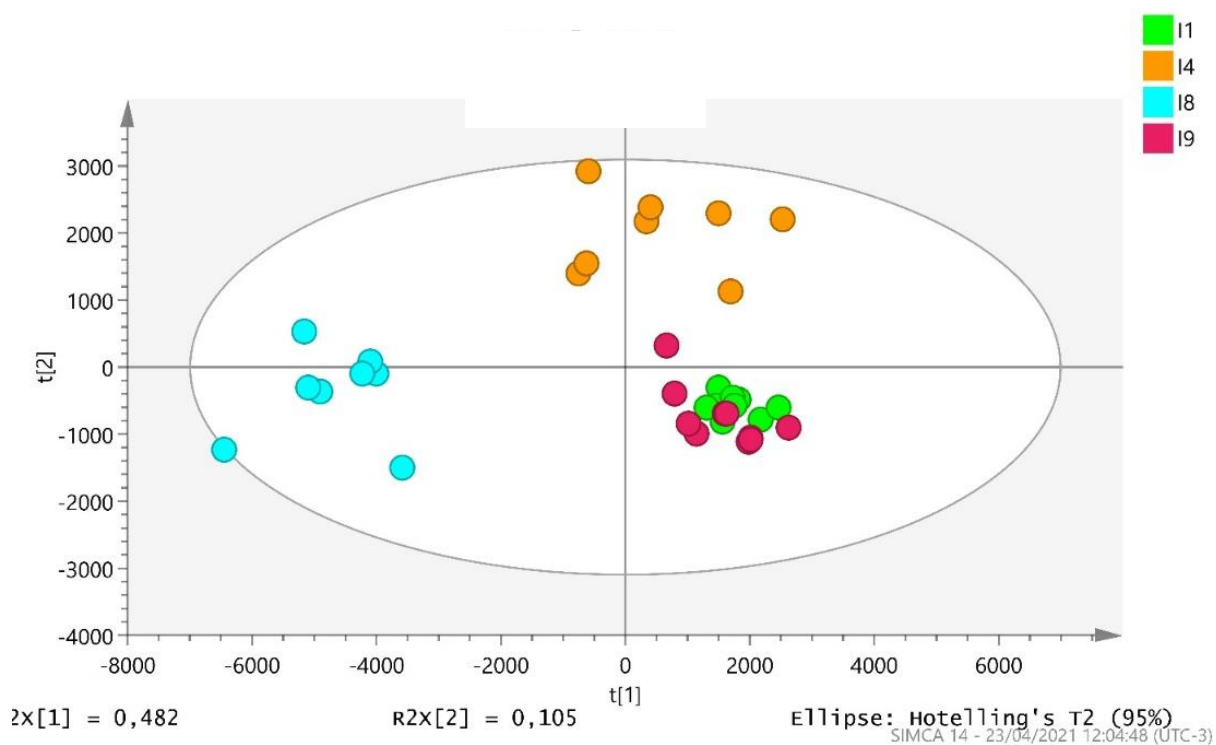


O modelo apresentou coeficientes de variação observada e variação que estavam dentro dos limites ($R^2 \geq 0,7$ e $Q^2 \geq 0,4$) considerados aceitáveis para a qualidade de tendência em sistemas biológicos (VEERASAMY et al., 2011).

7.19 Análise discriminante por mínimos quadrados parciais PSL-DA de extratos das folhas dos acessos do tratamento infestado

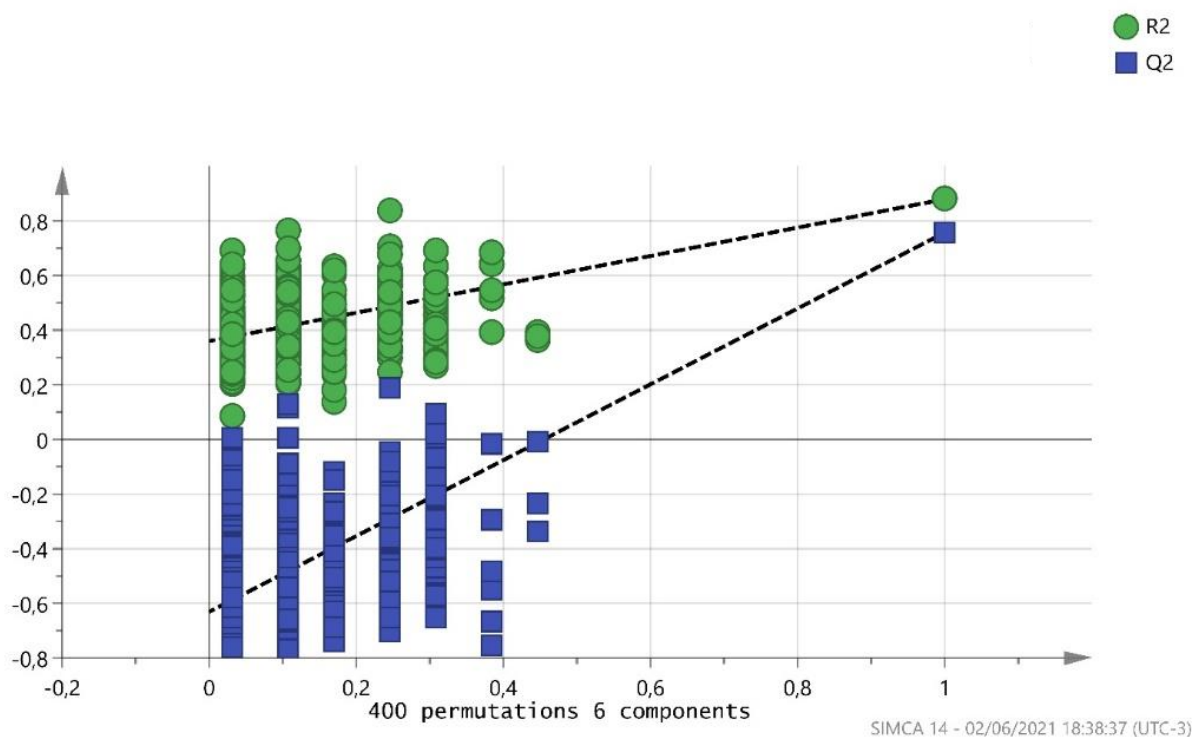
Do mesmo modo que para as amostras do grupo controle, para tentar capturar variações nos dados não observadas a partir da PCA o modelo PLS-DA foi conduzido entre os acessos SP79 111 (I1), US 721319 (I4), IJ 76414 (I8) e IJ 76361 (I9). A PLS-DA é uma técnica que classifica os componentes ou variáveis latentes que discriminam tanto quanto possível entre dois ou mais grupos diferentes de amostras. Os primeiros componentes explicaram 58,7% da variância (Figura 41).

Figura 41-Escores oriundo de PLS-DA realizada a partir dos espectros de RMN-¹H de extratos de folhas dos acessos do grupo infestado



A validação cruzada total foi utilizada para a validação do modelo fornecendo os valores $R^2 = 0,942$ e $Q^2 = 0,87$. O parâmetro estatístico R^2 reflete a quantidade de variabilidade da condição dos acessos explicada pelo modelo e Q^2 a habilidade preditiva do modelo. Nesse caso o modelo foi considerado aceitável já que $R^2 > Q^2$ e a diferença entre os dois coeficientes foi menor que 0,3. Além disso, ($Q > 0.5$ indica um bom poder preditivo).

Figura 42-Estatísticas do teste de permutação com 400 permutações com o valor observado para a exatidão do modelo de predição com $p < 0,001$



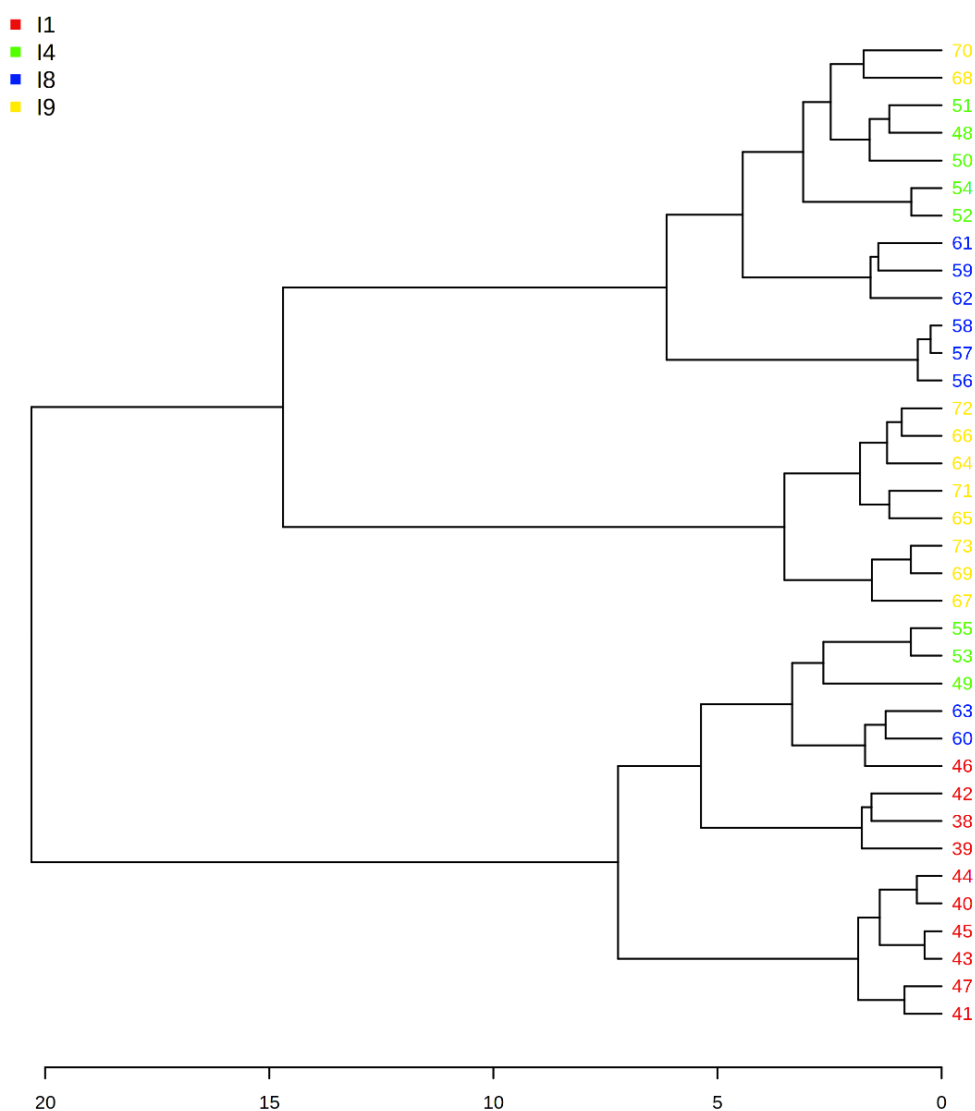
A validação do modelo também foi efetuada pela análise de permutação que envolveu 400 permutações da variável de classe (Figura 42). Como a posição relativa da exatidão do modelo com as classes originais é diferente em comparação com aquelas obtidas com as classes permutadas, o valor de p foi menor do que 0,1% indicando que a exatidão do modelo de PLS-DA permutado raramente seria melhor do que para o modelo ajustado com os dados originais. Logo, como os valores de R^2 e Q^2 obtidos a partir das permutações ($R^2 = 0,36$, $Q^2 = -0,631$) são menores que os originais o modelo é válido.

7.20 Análise de agrupamento hierárquico (HCA)

O dendrograma HCA produzido pelo método Ward e métrica a distância euclidiana (Figura 43) mostrou a formação de quatro grupos de amostras dividindo esses grupos em dois subgrupos, mostrando que SP79 1011 (I1) e US 721319 (I4)

estão mais próximos entre si formando um grupo o qual está mais afastado do grupo formado por IJ 76414 (I8) e IJ 76361 (I9) mais próximos entre si.

Figura 43-Dendrograma obtido para as 4 PCs com o método de Ward de agrupamento



7.21 Perfil metabólico dos extratos de folhas dos acessos do grupo infestado

A identificação dos metabólitos foi realizada pela análise dos dados de RMN, com base na inspeção direta dos espectros comparando-se com dados da literatura (HMDB, 2020), software Chenomix®, para confirmação dos metabólitos foi utilizado uma combinação dos experimentos J-resolvido, COSY (acoplamento homonuclear ^1H

- ^1H), HSQC (acoplamento heteronuclear $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ J^1) e HMBC (acoplamento heteronuclear $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ $J^{2,3}$) que são importantes para a confirmação dos metabólitos. Foram identificados um total de treze metabólitos solúveis para os acessos tratamento do infestado. A tabela 4 mostra todos os metabólitos encontrados nos acessos SP79 1011 (I1), US72 1319 (I4), IJ 76414 (I8) e IJ 76361 (I9) identificados através dos S-line gerado a partir da OPLS-DA utilizando o software SIMCA, no qual os compostos com maior poder discriminante estão nas extremidades do gráfico.

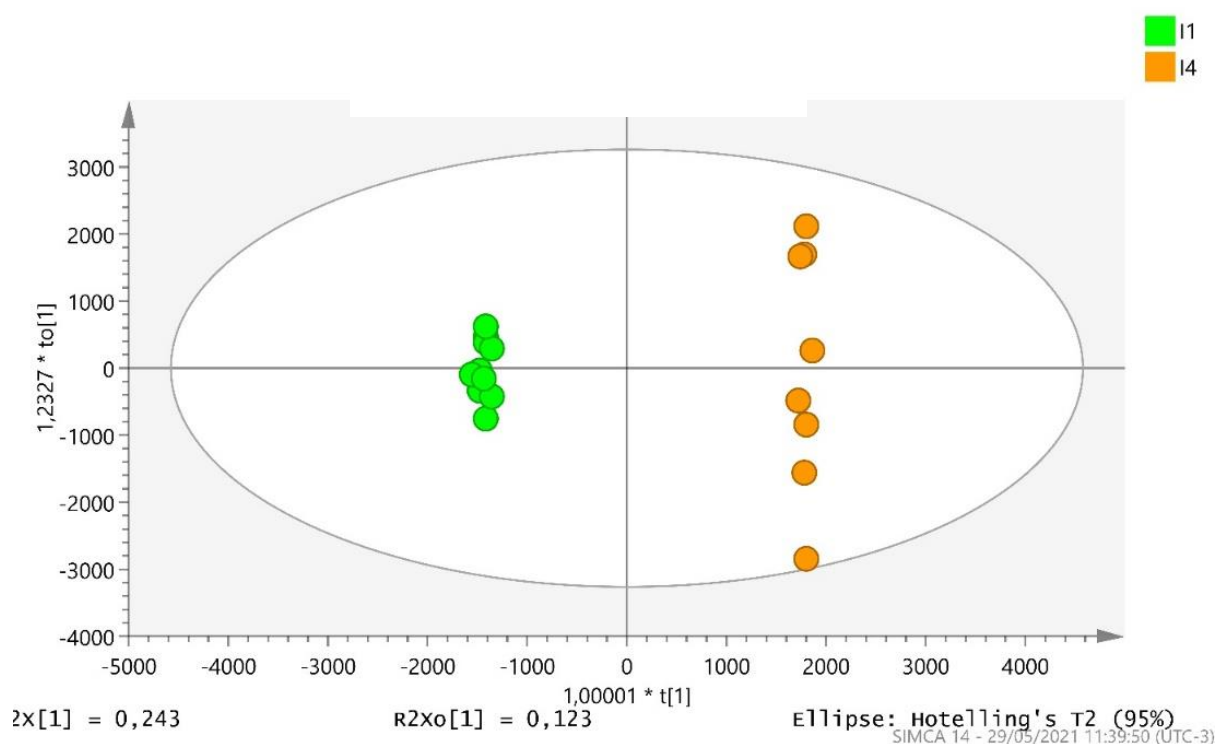
Tabela 4-Metabólitos solúveis de extratos de folhas de acessos do grupo infestado

Número	Metabólito	δ (ppm)	Multiplicidade	J (Hz)
1	Ác. Gálico	7.03	S	
2	α -Alanina	1.49, 3.82	d, m	7
3	Lactato	1.35	D	6.7
4	Betaína	3,26	S	
5	Acetato	1.93		
6	Dimetilglicina	2.93; 2.71	S	
7	Ác trans- aconítico	3.56, 6.7		
8	Ácido clorogênico	7.62, 6.38, 7.15, 7.07	d, d, d, dd	15.8, 15.8, 1.8, (8.2, 2.1)
9	fumarato	6.72	S	
10	Glicina	3.56	S	
11	Valina	1.03, 1.06	d, d	7, 7
12	Tirosina	3.94, 6.85	d, dd	8.5, (8.2, 4.1)
13	Sacarose	5.41	D	3.8

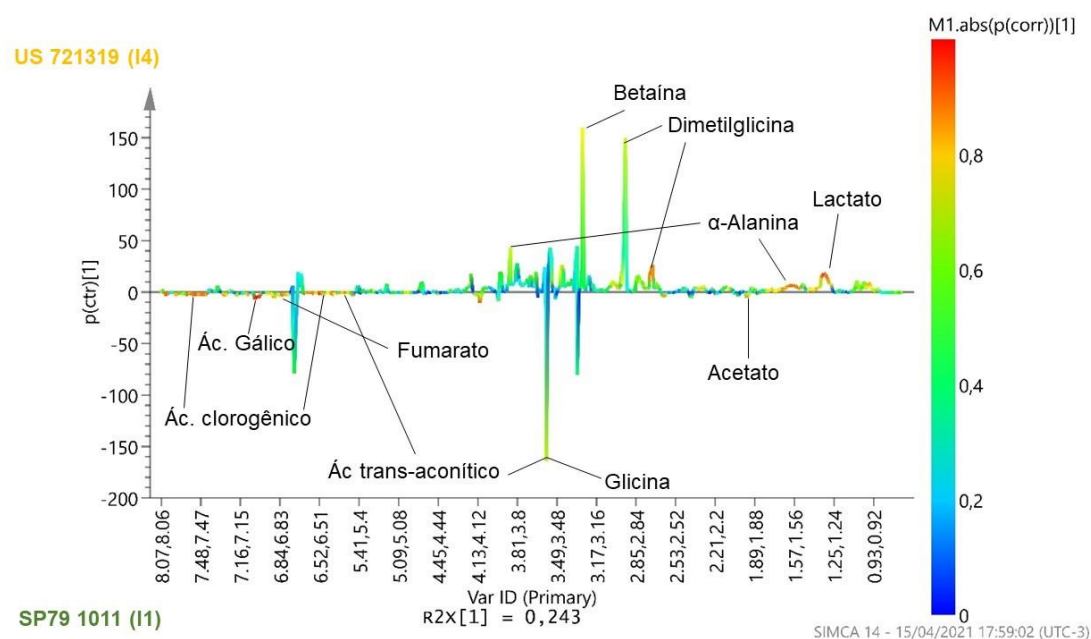
7.22 Análise OPLS-DA de extratos de folhas dos acessos SP79 1011 (I1) e US72 1319 (I4)

A figura 44a demonstra o gráfico de escore da OPLS-DA a partir da comparação entre os acessos SP 791011 (I1) e US72 1319 (I4). A partir do gráfico de escore da OPLS-DA pode-se observar as duas primeiras componentes (ou variáveis latentes) demonstrando que o modelo OPLS-DA foi capaz de discriminar os grupos estudados

Figura 44 A)-Escore da OPLS-DA dos acessos do grupo controle SP 791011 (I1) e US 721319 (I4)

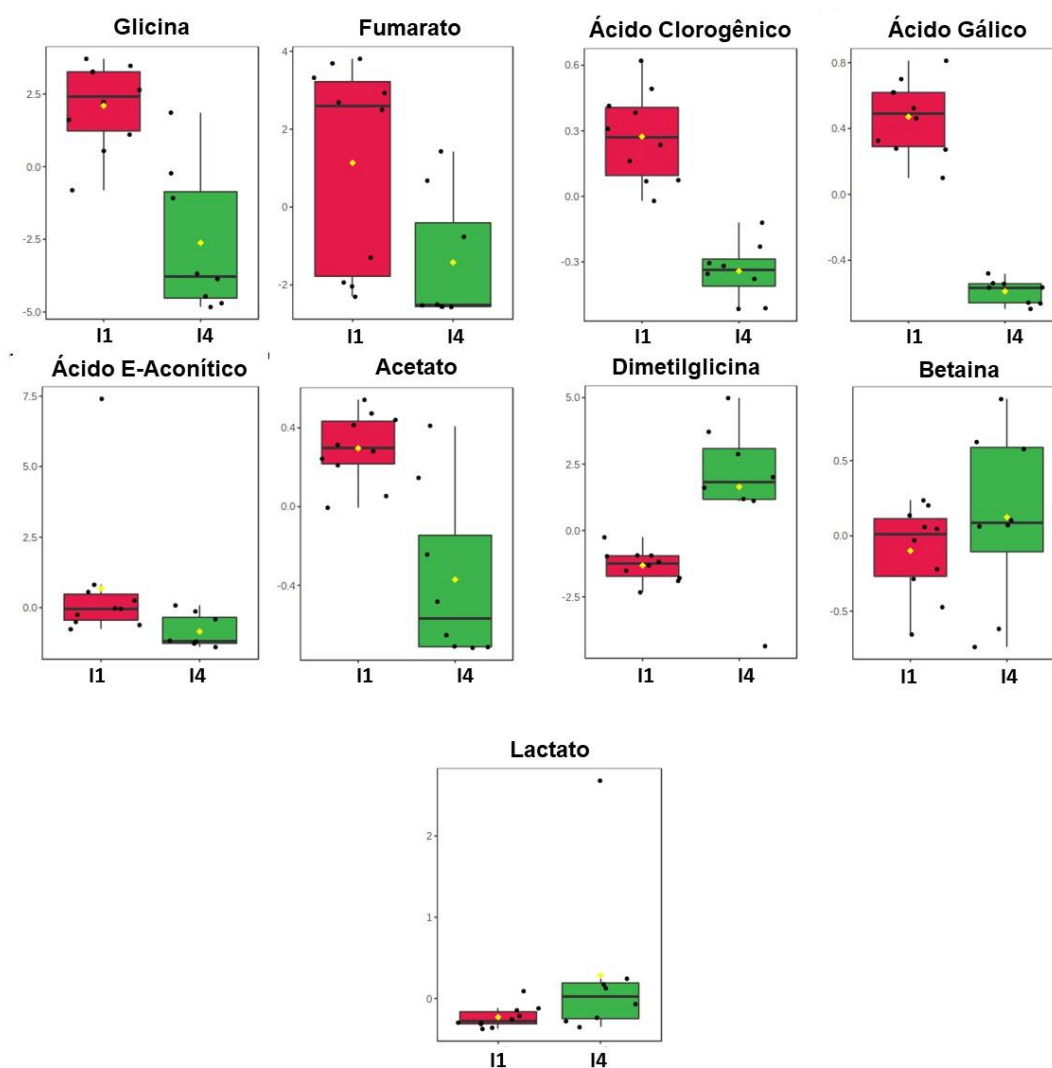


B)-Gráfico S-line mostrado os metabólitos discriminantes dos acessos I1 e I4



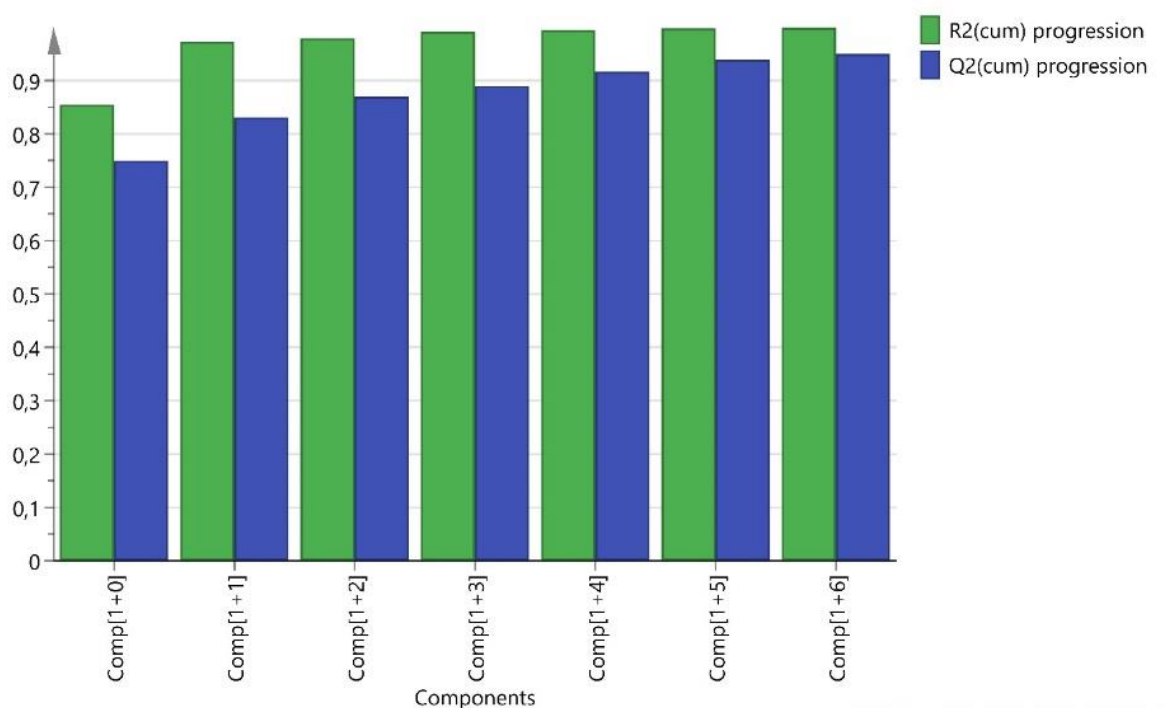
A figura 45 apresenta o comportamento dos níveis dos metabólitos discriminantes nas folhas dos acessos SP79 1011 (I1) e US 721319 (I4) por meio do gráfico boxplot construído através das integrais das áreas dos sinais de RMN processados no software MetaboAnalist. Estes metabólitos apresentaram variância significativa (ANOVA) com valor de $p < 0,05$. Ao analisar os gráficos boxplots observou-se aumento nos níveis dos metabólitos glicina, fumarato, ácido clorogênico, ácido gálico, ácido E-aconítico e acetato sacarose, colina e ácido gálico US 721319 (I4). Dimetilglicina, betaína e lactato apresentaram uma tendência de diminuição nos seus níveis para esse mesmo acesso.

Figura 45-Boxplot das concentrações relativas dos metabólitos discriminantes presentes nos extratos de folhas dos SP 79 1011 (I1) e US72 1319 (I4). (Teste t, $p < 0,05$)



Para a comparação entre SP79 1011 (I1) e US 721319 (I4) o modelo OPLS-DA também foi verificado pelo método de validação cruzada leave-one-out, que forneceu os valores $R^2 = 0,99$ e $Q^2 = 0,95$ (Figura 46). A diferença entre os dois coeficientes é menor que 0,05. Diferenças maiores entre R^2 e Q^2 indicariam que o modelo sofreu manipulação (VEERASAMY et al., 2011)

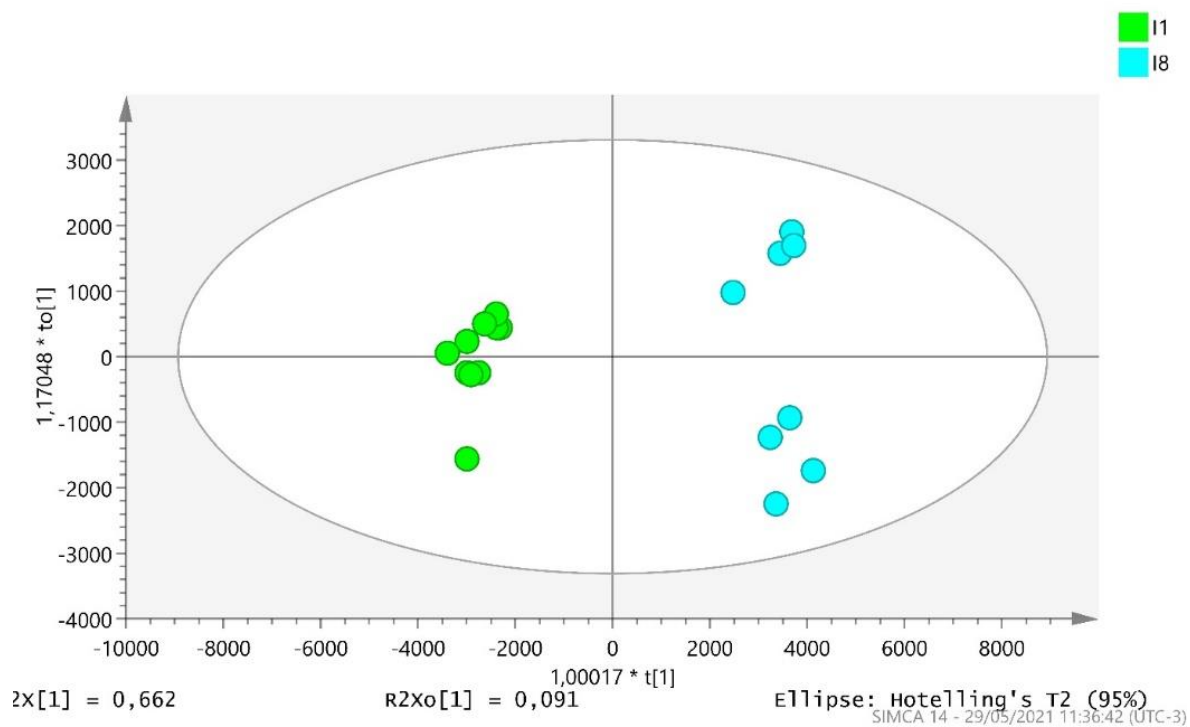
Figura 46-Gráfico com valores cumulativos de R^2 e Q^2 para cada componente obtidos para o modelo OPLS-DA após a validação cruzada (LOOCV)



7.23 Análise OPLS-DA de extratos de folhas dos acessos SP79 1011 (I1) e IJ76 414 (I8)

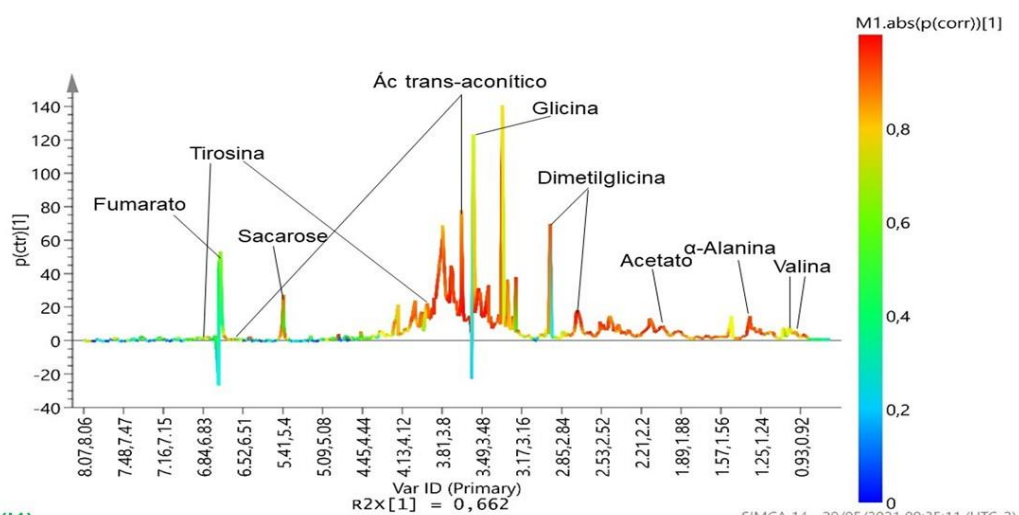
A comparação entre os acessos I1 e os acessos I8 foi efetuada por OPLS-DA para verificar quais os metabólitos contribuíam para a discriminação entre estes dois grupos. Os grupos foram formados pelos acessos I1 (pontos em vermelho) e acessos I8 (pontos em verde) (Figura 42a) e os metabólitos discriminantes foram identificados a partir do gráfico S-line (Figura 42b).

Figura 47 A)-Escores da OPLS-DA dos acessos do grupo controle SP79 1011 (I1) e IJ76 414 (I8)



A)-Gráfico S-line mostrado os metabólitos discriminantes dos acessos SP79 1011 (I1) e IJ76 414 (I8)

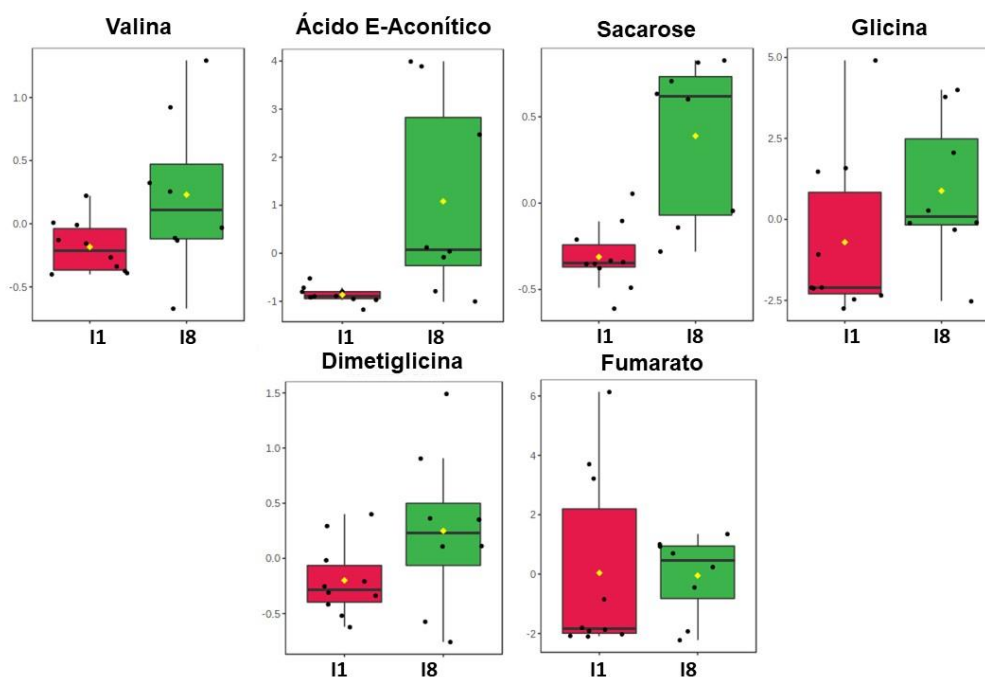
IJ 76414 (I8)



SP79 1011 (I1)

A Figura 48 apresenta o comportamento dos níveis dos metabólitos discriminantes nas folhas dos acessos SP79 1011 (I1) e IJ 76414 (I8) por meio do gráfico boxplot construído através das integrais das áreas dos sinais de RMN processados no software MetaboAnalist.

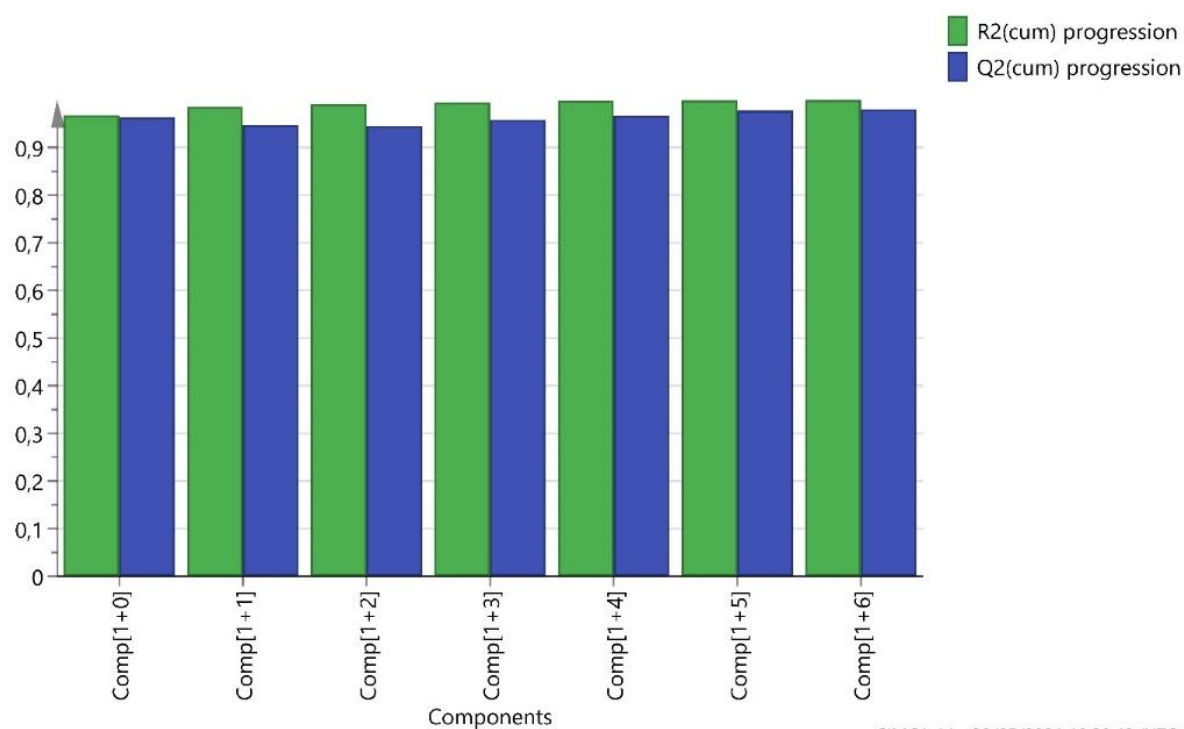
Figura 48-Boxplot das concentrações relativas dos metabólitos discriminantes presentes nos extratos de folhas dos SP79 1011 (I1) e IJ 76414 (I8). (Teste t, $p < 0,05$)



Estes metabólitos apresentaram variância significativa (ANOVA) com valor de $p < 0,05$. Ao analisar os gráficos boxplots observou-se aumento nos níveis dos metabólitos valina, ácido E-aconítico, sacarose, glicina e dimetilcolina para o acesso US 721319 (I8). Fumarato apresentou tendência de diminuição nos seus níveis para esse mesmo acesso.

Para a comparação entre SP79 1011 e IJ 76414 (I8) o modelo OPLS-DA também foi verificado pelo método de validação cruzada leave-one-out, que forneceu os valores $R^2 = 0,959$ e $Q^2 = 0,98$ demonstrando a validade do modelo.

Figura 49-Gráfico com valores cumulativos de R2 e Q2 para cada componente obtidos para o modelo OPLS-DA após a validação cruzada (LOOCV)

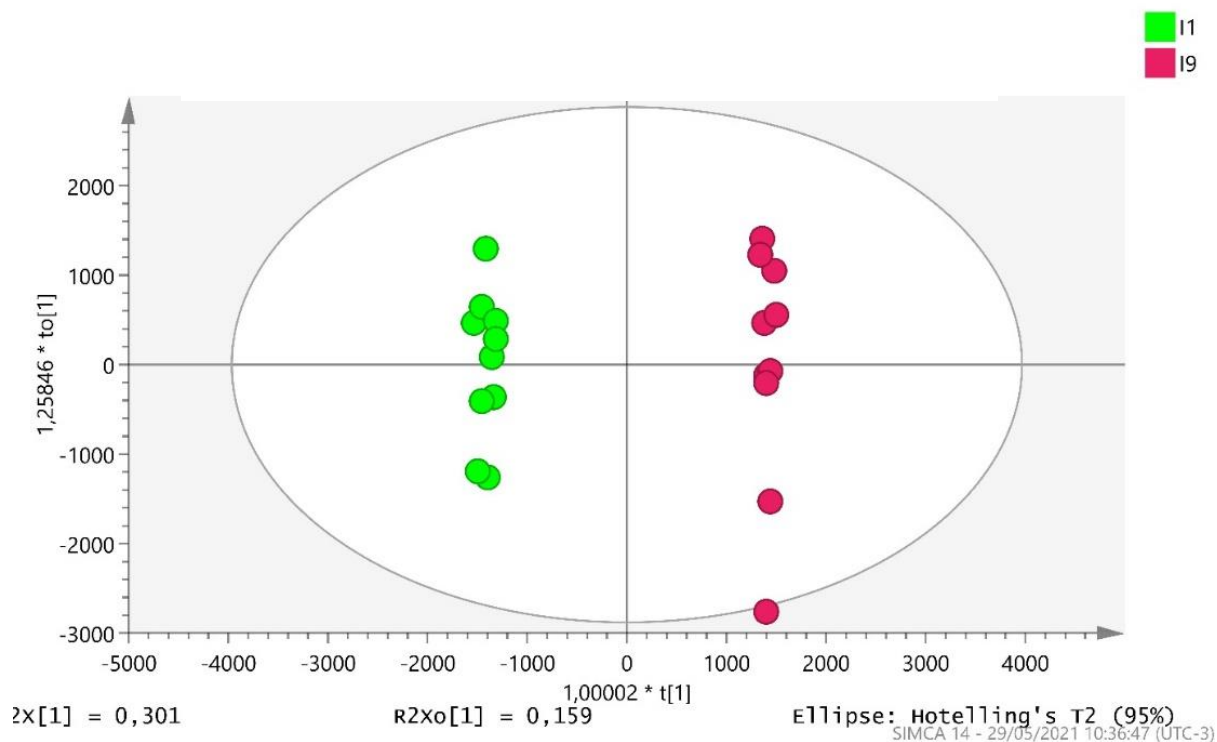


SIMCA 14 - 29/05/2021 10:28:43 (UTC-3)

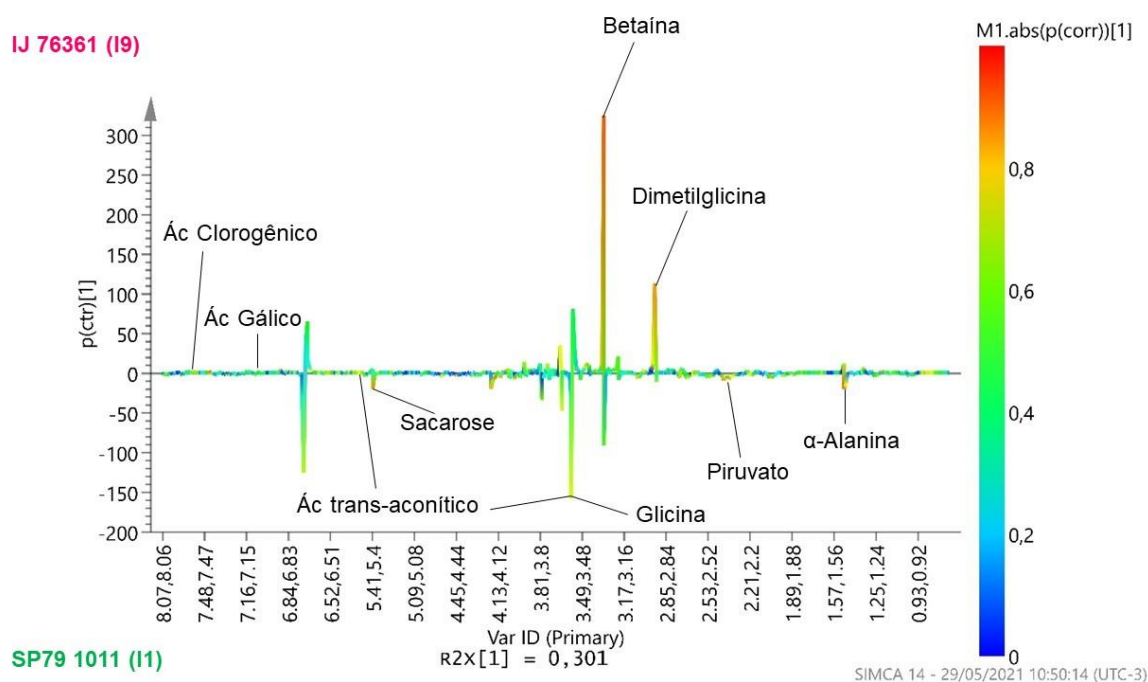
7.24 Análise OPLS-DA de extratos de folhas dos acessos SP79 1011 (I1) IJ76 361 (I9)

Os acessos SP 791011 (I1) e os acessos IJ 76361 (I9), também foram comparadas para verificar quais os metabólitos contribuíam para a discriminação entre estes dois grupos. Os grupos foram formados pelos acessos I1 (pontos em verde) e acessos I9 (pontos em rosa) (Figura 45a) e os metabólitos discriminantes foram identificados a partir do gráfico S-line (Figura 45b).

Figura 50 A)-Escores da OPLS-DA dos acessos do grupo controle SP 791011 (I1) e IJ 76361 (I9)

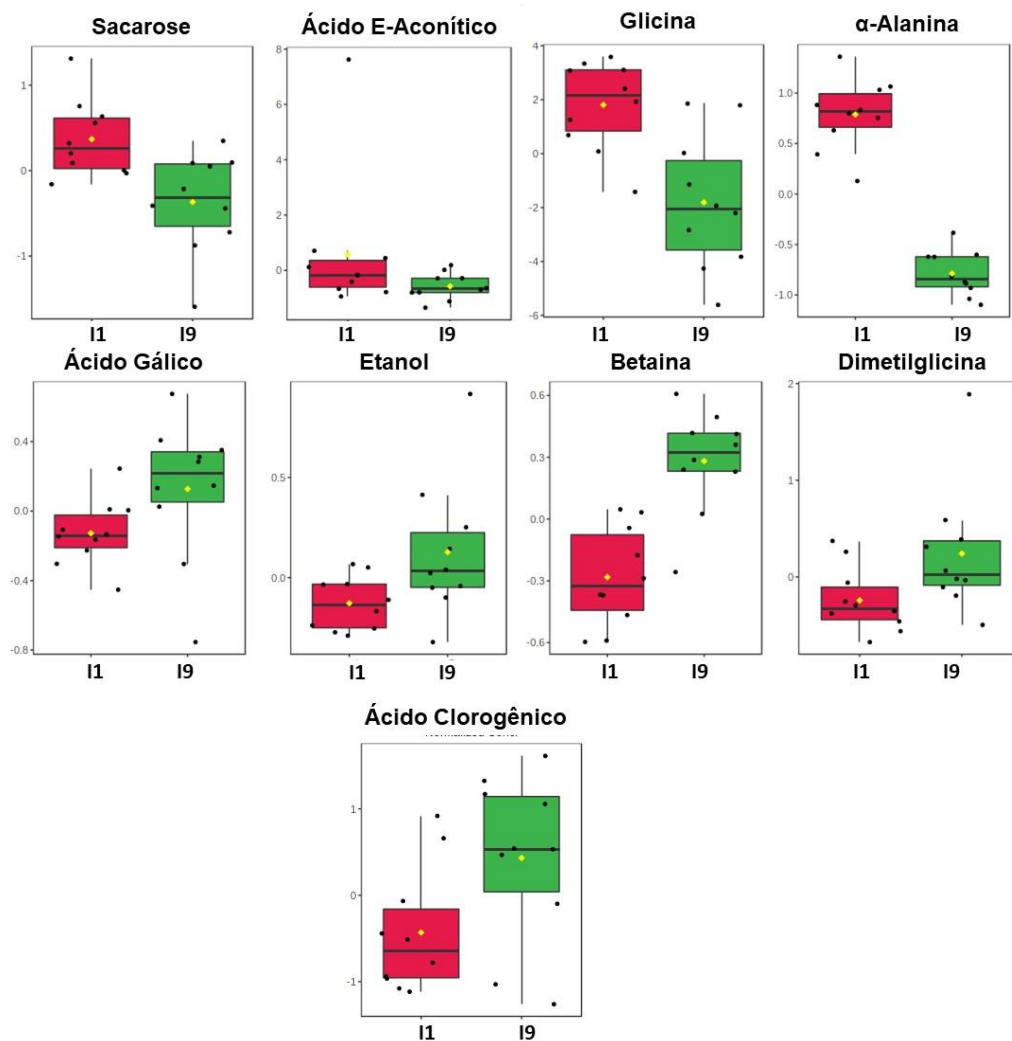


B) Gráfico S-line mostrando os metabólitos discriminantes dos acessos SP 791011 (I1) e IJ 76361 (I9).



A figura 51 apresenta o comportamento dos níveis dos metabólitos discriminantes nas folhas dos acessos SP79 1011 (I1) e US IJ 76361 (I9) por meio do gráfico boxplot construído através das integrais das áreas dos sinais de RMN processados no software MetaboAnalist.

Figura 51-Boxplot das concentrações relativas dos metabólitos discriminantes presentes nos extratos de folhas dos SP 791011 (I1) e IJ 76361 (I9). (Teste t, $p < 0,05$)

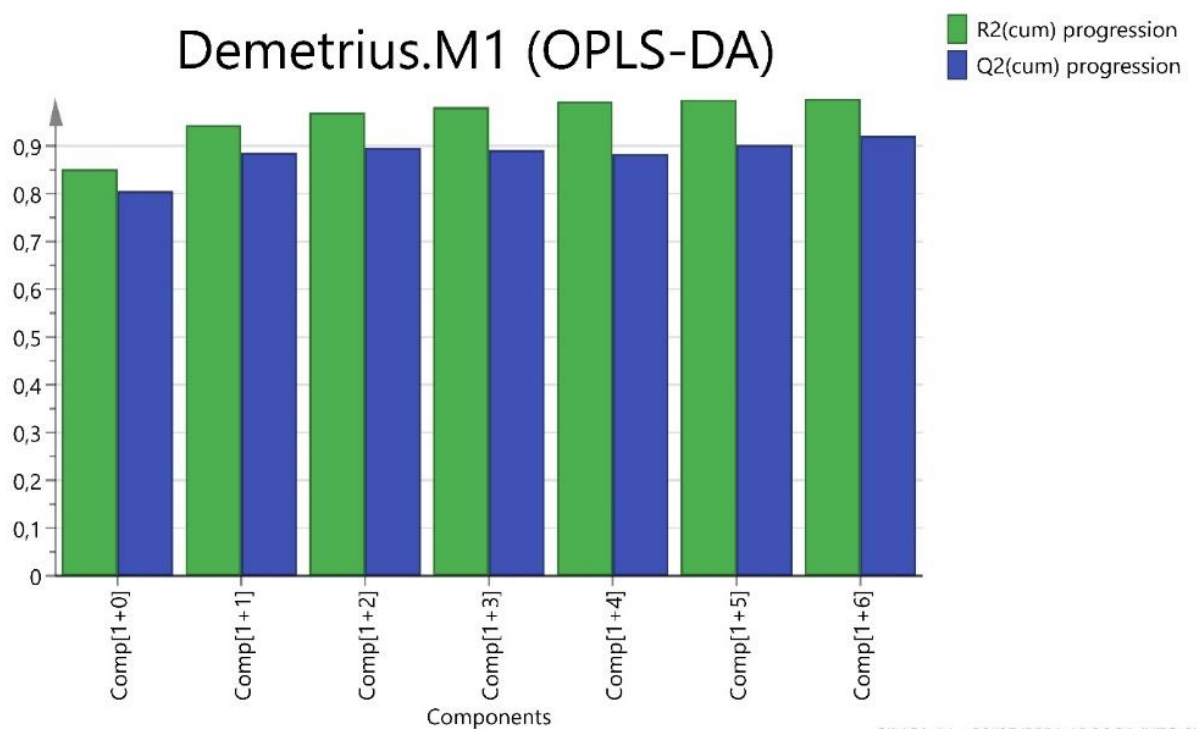


Estes metabólitos apresentaram variância significativa (ANOVA) com valor de $p < 0,05$. Ao analisar os gráficos boxplots observou-se aumento nos níveis dos metabólitos ácido gálico, etanol, betaina, dimetilglicina e lactato no acesso US IJ 76361 (I9). Os metabólitos que apresentaram tendências de diminuição nos seus níveis para esse mesmo acesso foram sacarose, ácido E-aconítico, glicina alanina.

Para a comparação entre SP79 1011 (I1) e I9 o modelo OPLS-DA também foi verificado pelo método de validação cruzada leave-one-out, que forneceu os valores $R^2 = 0,998$ e $Q^2 = 0,921$. A diferença entre os dois coeficientes é menor que 0,05.

Diferenças maiores entre R2 e Q2 indicariam que o modelo sofreu manipulação (VEERASAMY et al., 2011).

Figura 51-Gráfico com valores cumulativos de R2 e Q2 para cada componente obtidos para o modelo OPLS-DA após a validação cruzada



7.25 Análises multivariada dos dados de RMN de extratos do colmo do SP79 1011

Para tentar capturar as variações metabólicas no colmo do acesso SP79 1011 efetuou-se análise metabolômica desse tecido. Para esse fim foram usadas plantas do tratamento controle e plantas do tratamento infestado. De modo preliminar pode-se observar que, quando comparados os espectros de hidrogênio dos tratamentos controle e infestado, existem sinais na região aromática (6 – 8 ppm) e de açúcares mais intensos nas plantas controle. Nas plantas sob herbivoria a diminuição dos sinais de compostos na região aromática e os açúcares é ainda mais acentuada. As figuras 52 e 53 mostram o perfil do espectro de RMN dos extratos do como do acesso SP79 1011.

Figura 52-Espectro de RMN-1H do extrato do colmo da cana do controle

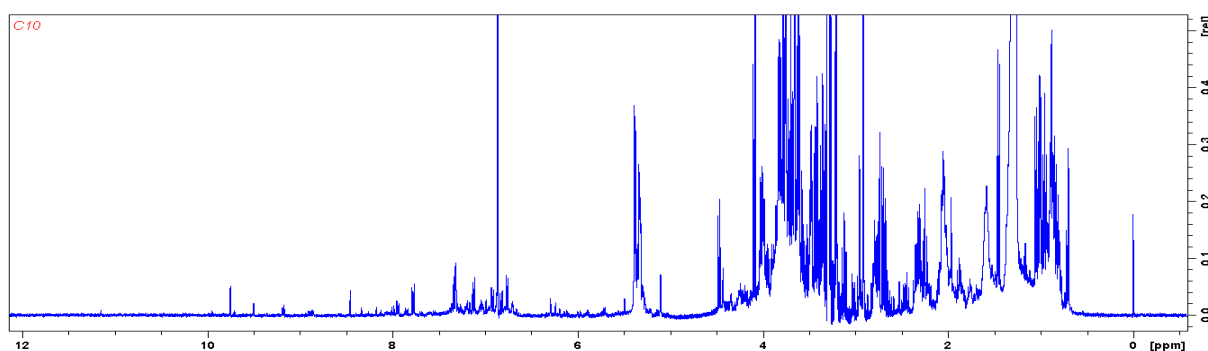
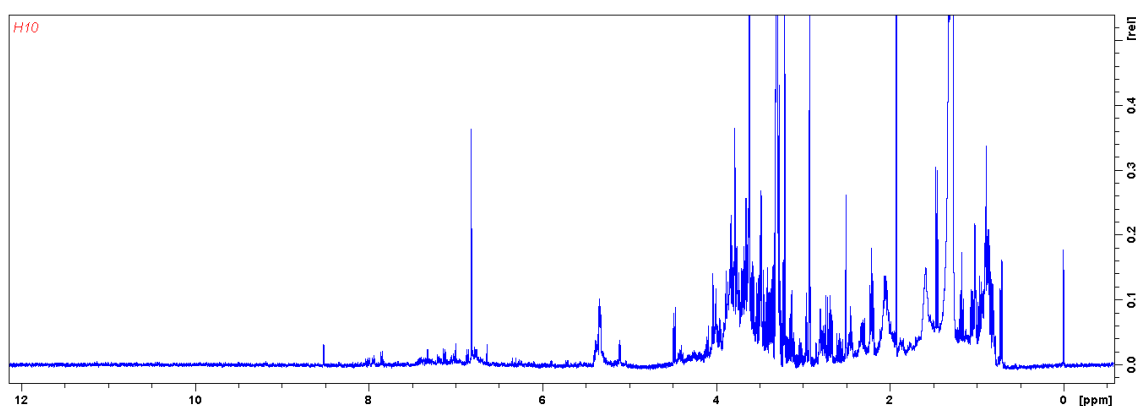


Figura 53-Espectro de RMN-1H do extrato do colmo da cana sob Herbivoria

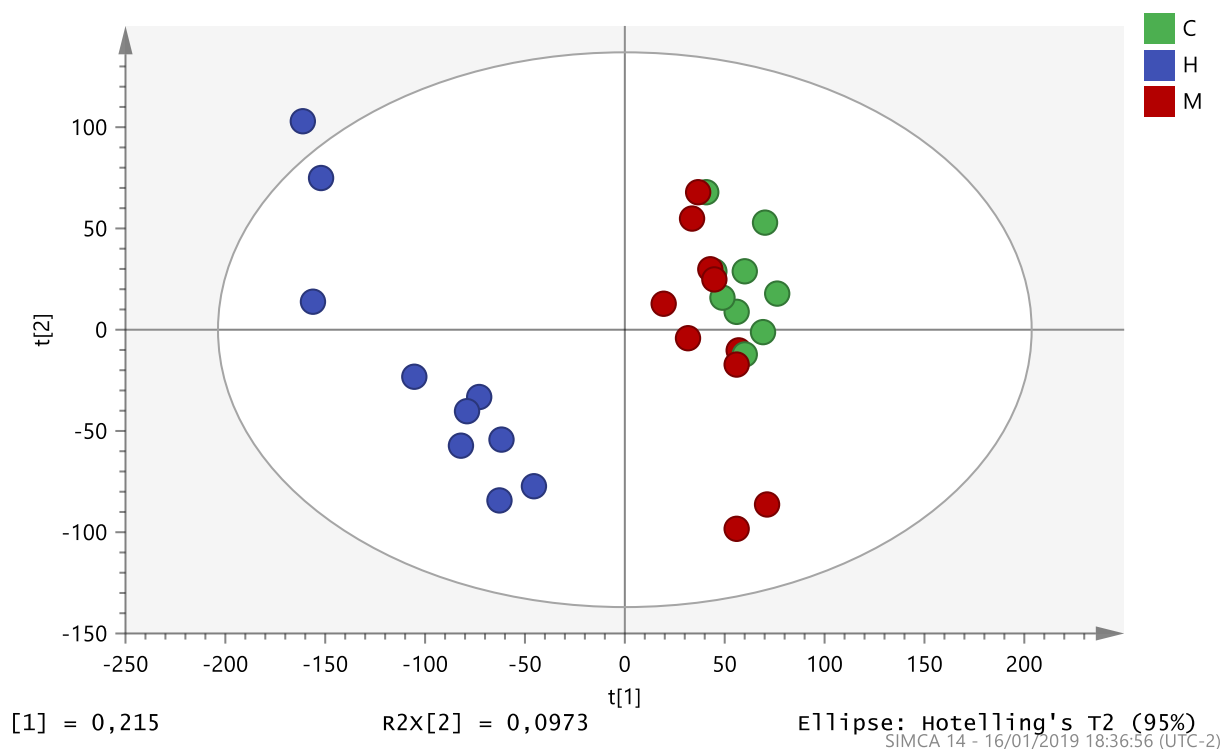


Os extratos do colmo das plantas do controle acumularam níveis mais altos dos metabólitos alanina, colina, ácido siríngico, sacarose e ácido phidroxibenzóico apresentando também diminuição nos níveis dos metabólitos etanol, acetato e succinato.

Foram realizadas análises preliminares de estatística multivariada com o programa SIMCA para constatar se o material amostral possui validade robustez.

O gráfico de escores de um modelo PCA (Análise de Componentes Principais) montado a partir de dados de RMN unidimensional dos extratos das plantas controle x plantas sob herbivoria (Figura 54) é utilizado com o objetivo de visualizar a estrutura dos dados, encontrar similaridades entre amostras, detectar amostras anômalas (outliers) e reduzir a dimensionalidade do conjunto de dados. Esta análise revelou a separação entre grupos formados pelas plantas controle, dano mecânico e herbivoria, sugerindo que o sistema metabólico destas plantas é afetado pelas condições realizadas nos tratamentos.

Figura 54-Gráfico PCA-X. C – plantas controle (n=9), H; Plantas com herbivoria (n=10) e M e plantas com dano mecânico (n=10)

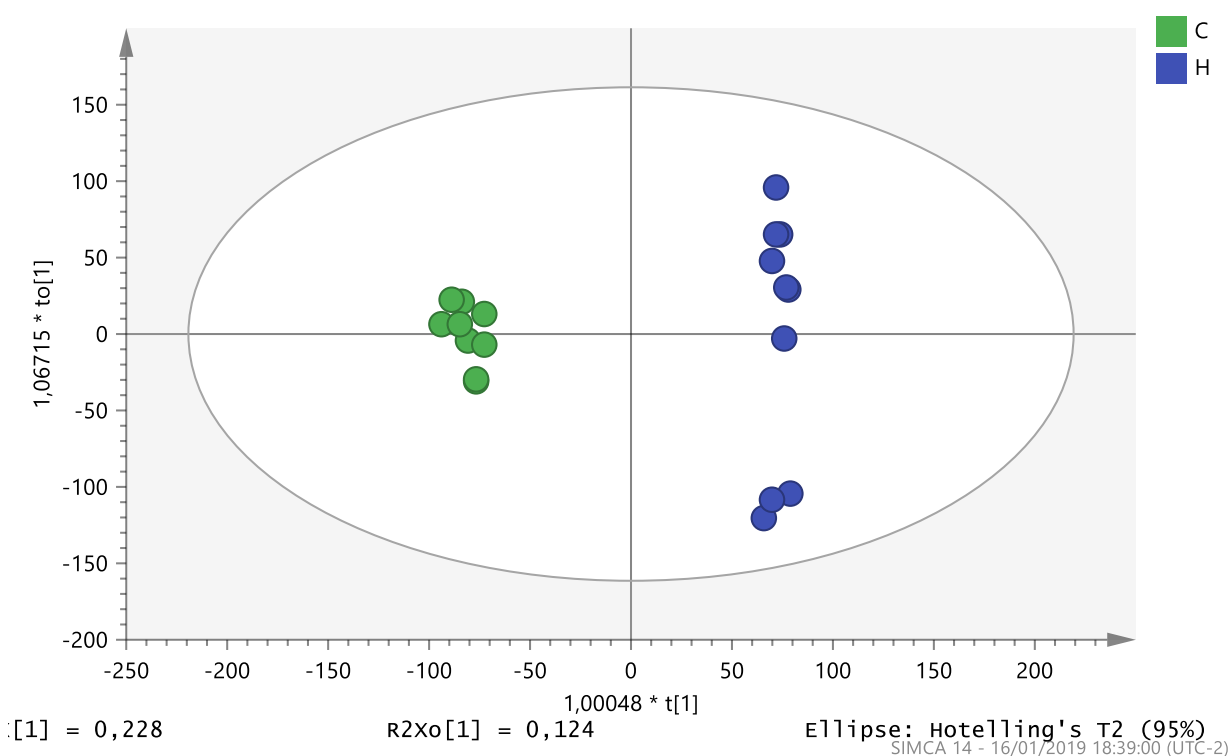


Para as análises seguintes apenas as plantas, do tratamento controle e tratamento infestado, foram consideradas. Os acessos do tratamento controle e

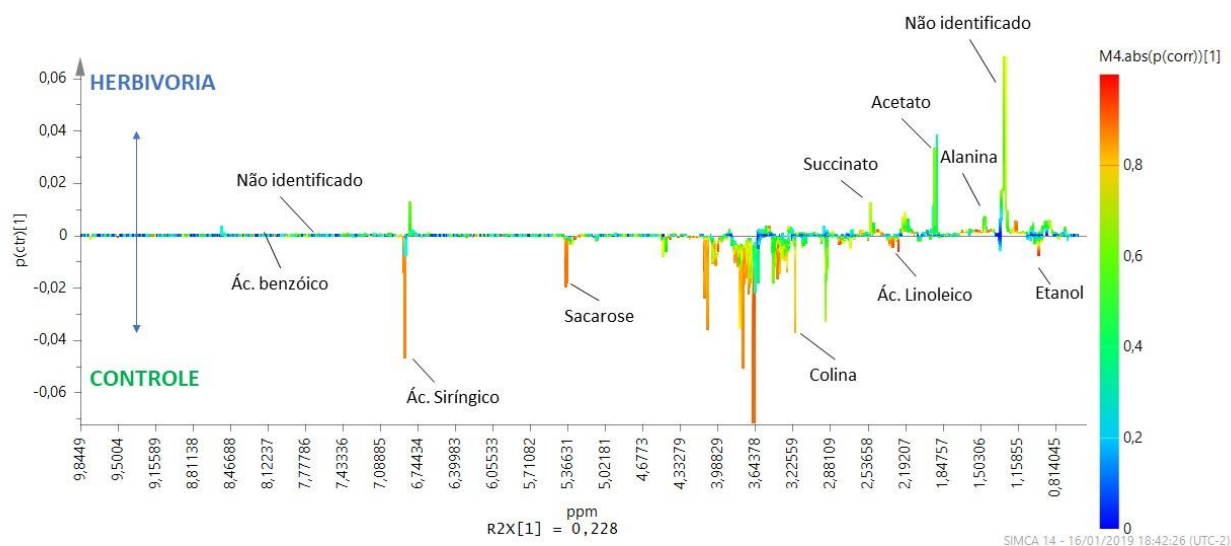
do tratamento infestado foram comparadas através de análise de OPLS-DA para se observar como as plantas estavam respondendo a herbivoria de *D. saccharalis*.

Os gráficos de escores dos modelos de OPLS-DA (Análise Discriminante de Mínimos Quadrados Parciais Ortogonais) montado com os dados dos extratos das plantas controle x plantas sob herbivoria (Figura 55a) revelam separação entre os grupos, no tratamento controle pontos em verde, no tratamento infestado (pontos em vermelhos), enfatizando as diferenças existentes entre as duas classes. Já a figura 55b contribuiu para a identificação dos metabólitos discriminantes mostrados no gráfico S-line (Figura 55b).

Figura 55 A)-Escores da OPLS-DA das amostras para os tratamentos controle (verde) e herbivoria (azul)– C x H



B)-Gráfico S-line mostrando os metabólitos discriminantes para os tratamentos controle e herbivoria C x H



7.26 Identificação dos metabólitos discriminantes do colmo do acesso SP79 1011 (tratamentos controle e herbivoria)

A análise dos loadings plots (carregamentos) com o auxílio do programa ChemDraw e Chenomx, da análise STOCSY (usando o programa MATLAB), os espectros de RMN e o banco de dados HMDB (Human Metabolome Data Base) resultou nos metabólitos que discriminam cada grupo como mostrado na tabela 5.

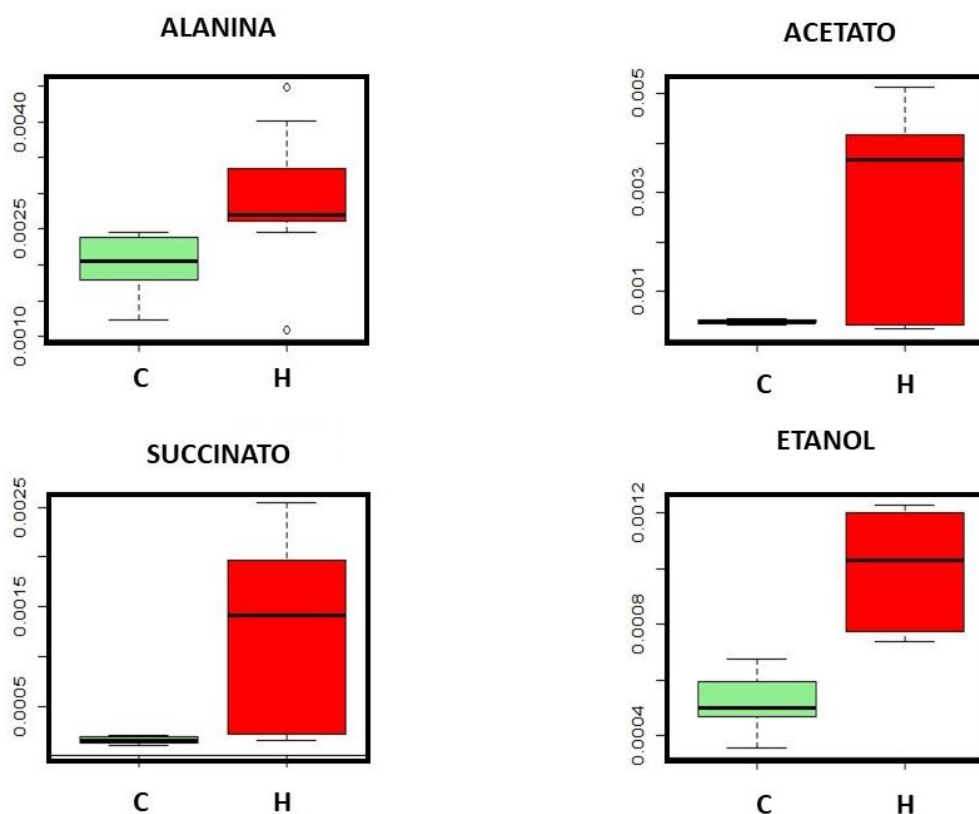
Tabela 5-Metabólitos discriminantes nas plantas de cana de açúcar sob herbivoria e controle

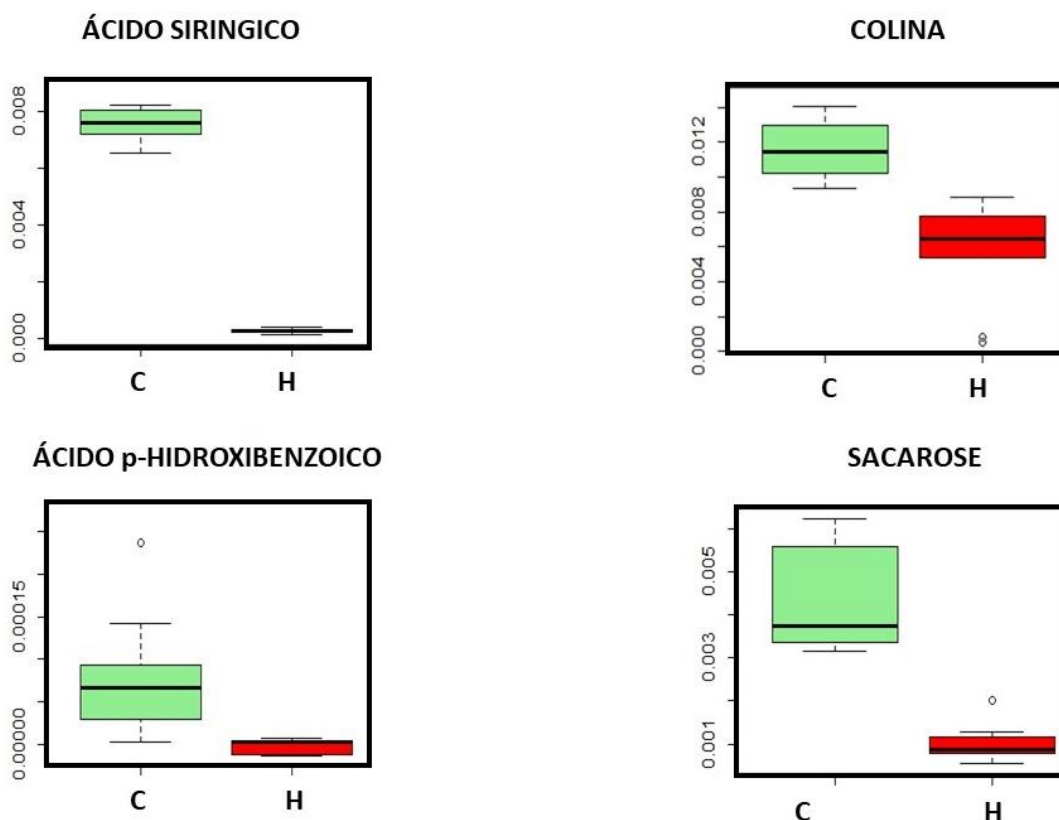
Metabólitos	Deslocamento químico (ppm)	Correlação	Herbivoria	Controle
Etanol	1,16	0,779	+	-
Alanina	1,5; 3,8	0,544	+	-
Acetato	1,918	0,63	+	-
Succinato	2,5	0,685	+	-
Colina	3,2	0,834	-	+

Ácido Siríngico	3,66; 6,86	0,78	-	+
Sacarose	5,38	0,883	-	+
Ácido hidroxibenzoico	p- 6,88; 7,78	0,871	-	+

As figuras 56 apresentam o comportamento dos níveis dos metabólitos discriminantes no colmo do acesso do controle, herbivoria e dano mecânico das canas por meio do gráfico boxplot, que foi construído através das integrais das áreas dos sinais de RMN processados no software Matlab. Estes metabólitos apresentaram variância significativa (ANOVA) com valor de $p < 0,05$.

Figura 56-Boxplot das concentrações relativas dos metabólitos discriminantes em resposta da cana-de-açúcar (SP791011) a herbivoria. Comparação entre C = controle e H = herbivoria nos tempos estudados (Teste-t pareado, $p < 0,05$)





A partir dos gráficos boxplot pode-se observar variações nas concentrações, com aumento nas concentrações de alguns quanto diminuição nas concentrações de outros metabólitos apresentados para o tratamento herbivoria quando comparado aos mesmos metabólitos nos tratamentos controle (Figura 56).

Ao analisar os gráficos boxplots na figura 56 foi possível observar uma tendência de aumento estatisticamente significativo dos níveis dos metabólitos alanina, acetato, etanol e succinato para as plantas submetidas a herbivoria quando comparados aos acessos do controle. Para as plantas sob herbivoria houve uma diminuição nos níveis dos metabólitos colina, ácido siríngico, sacarose e ácido para-hidroxibenzóico.

7.27 Metabólitos identificados a partir dos extratos das folhas dos acessos SP79 1011, US 721319, IJ 76414 e IJ 76361 podem contribuir para resistência dessas plantas

O uso de acessos, que resguardam em seu perfil metabólico metabólitos de defesa, em programas de melhoramento genético pode contribuir para a obtenção de novas variedades que apresentam características de defesa contra um determinado tipo de estresse (COUTINHO et al., 2016). No contexto do presente trabalho acessos que apresentaram em seu metabolôma metabólitos de defesa contra o ataque de *D. saccharalis* poderiam ser usados em programas de melhoramento genético de cana-de-açúcar para a obtenção de novas variedades mais resistentes ao ataque dessa praga.

Figura 57-Mapa de calor (heatmap) para os metabólitos mais importantes e sua associação com os acessos comparados:

(a) SP79 1011 (C1) e US72 1319 (C4), (b) SP79 1011 (C1) e IJ76414 (C8) e (c) SP79 1011 (C1) e IJ76 361 (C9)

139

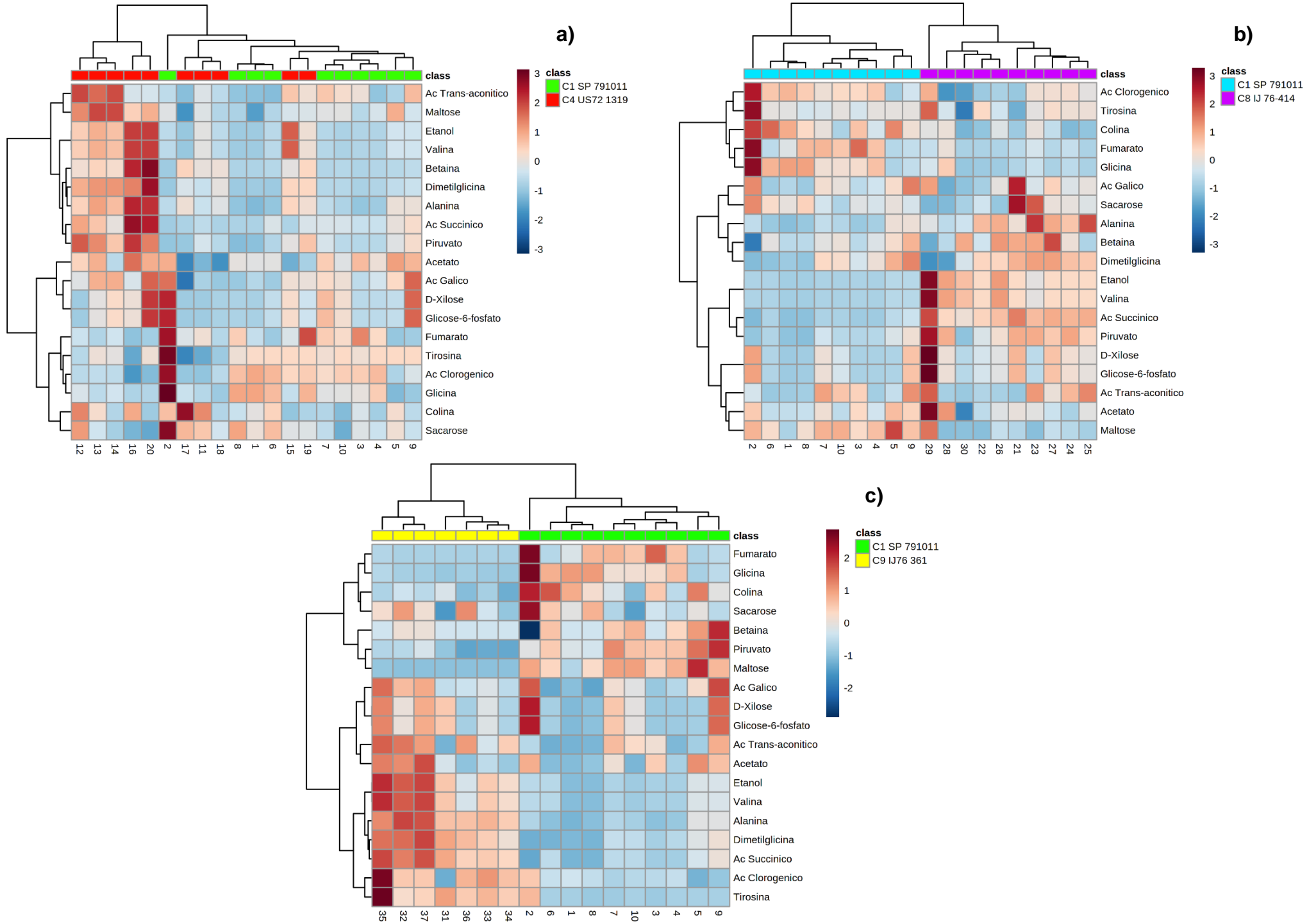
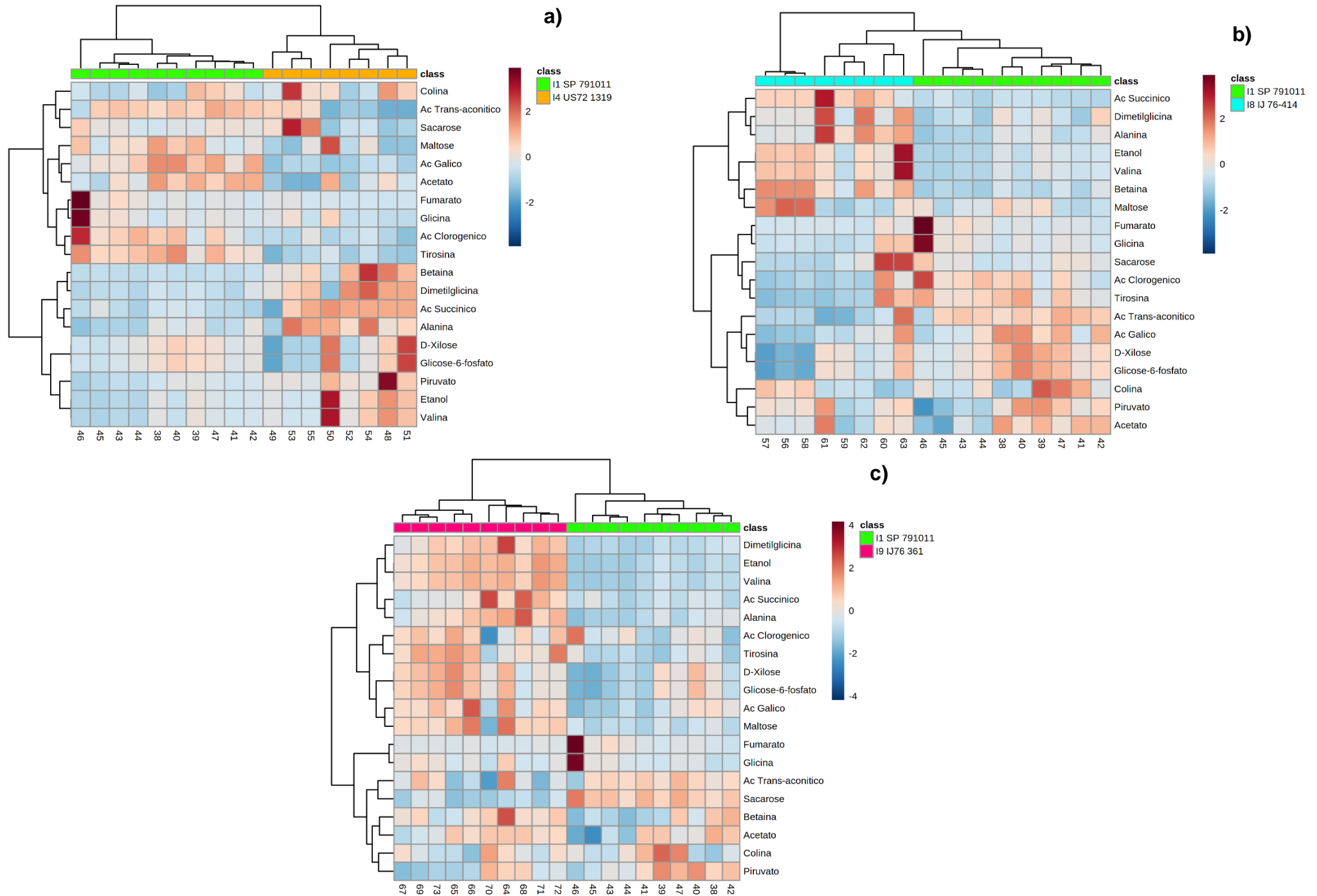


Figura 58-Mapa de calor (heatmap) para os metabólitos mais importantes e sua associação com os acessos comparados:

(a) SP79 1011 (I1) e US72 1319 (I4), (b) SP79 1011 (I1) e IJ76414 (I8) e (c) SP79 1011 (I1) e IJ76 361 (I9)

140



A cor está correlacionada positivamente com intensidade da variação dos metabólitos com vermelho indicando alta-intensidade e azul indicando baixa-intensidade

Aminoácidos

Dentro do metabolismo dos organismos, os aminoácidos desempenham papel de extrema importância, agindo como potenciais precursores da biossíntese de peptídeos e proteínas, como também de outras moléculas como coenzimas, nucleotídeos e hormônios (TAIZ et al., 2017). Esses metabólitos desempenham um papel central nas interações planta-herbívoro, tanto como nutrientes limitantes do crescimento e como precursores para a produção de muitos compostos de defesa da planta. (ZHOU et al., 2015).

No presente trabalho foram encontrados diferentes aminoácido nos estratos das folhas dos acessos. A alanina teve níveis mais elevados tanto nas folhas de US 721319 controle (C4) e infestados (I4) quanto de IJ 76414 infestados (I8) como mostrado nas figuras 57 e 58. Esse metabólito foi identificada em plantas de crisântemo (*Dendranthema grandiflora*) (LEISS et al., 2009).

Valina

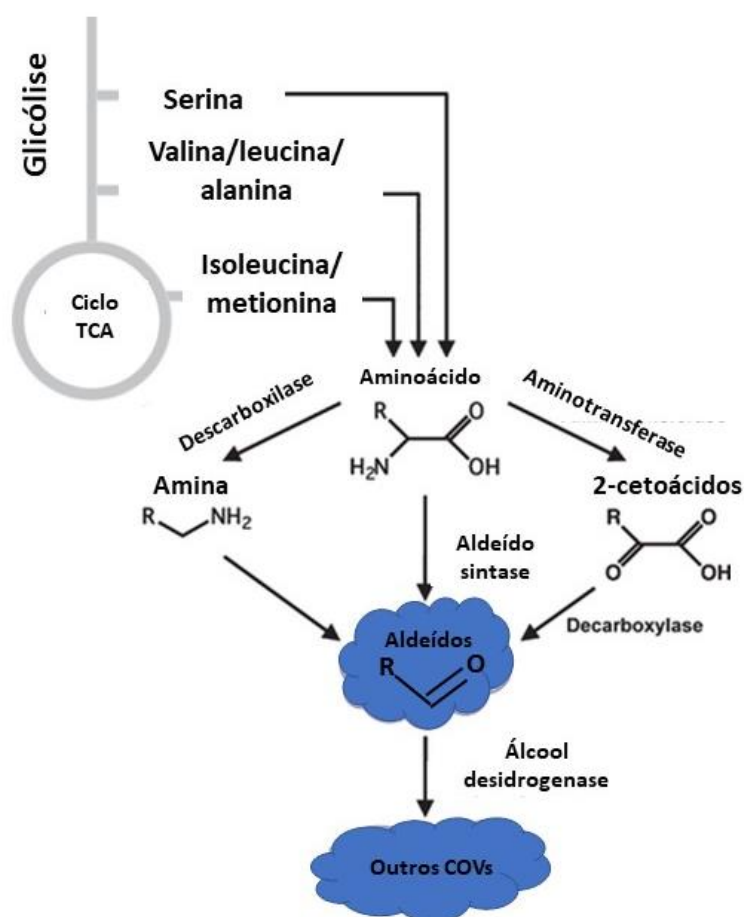
Valina se apresentou em níveis mais elevados nas plantas IJ 76414 infestadas (I8) (Figura 58). Esse aminoácido também foi encontrado em níveis menos elevados nas plantas IJ76 361 controle (C9).

Aminoácidos como alanina, valina dão origem a voláteis, especialmente aqueles altamente abundantes em aromas florais e aromas de frutas (DUDAREVA et al., 2013).

Acredita-se que o biossíntese de voláteis a partir desses aminoácidos em plantas ocorra como nos microrganismos nos quais os aminoácidos sofrem uma desaminação ou transaminação inicial catalisada por aminotransferases, levando à formação do α -cetoácido correspondente (Figura 59). Esses α -cetoácidos podem ser posteriormente submetidos à descarboxilação, seguida de reduções, oxidações e / ou esterificações, formando aldeídos, ácidos, álcoois e

ésteres. Os aminoácidos também podem ser os precursores de acil-CoAs, que são usados em reações de esterificação de álcool catalisadas por álcool aciltransferases (AATs) (DUDAREVA et al., 2013).

Figura 59-Síntese de compostos orgânicos voláteis (COVs) derivados de aminoácidos de cadeia ramificada.



Adaptado de (DUDAREVA et al., 2013)

A formação de VOCs a partir de aminoácidos de cadeia ramificada ocorre por meio de diferentes rotas paralelas. O aldeído pode ser sintetizado por descarboxilação do aminoácido seguida por desaminação; por síntese direta do aldeído; e por transaminação do aminoácido seguida por uma carboxilação. O aldeído é posteriormente convertido em uma variedade de VOCs com diversos grupos funcionais. TCA, ácido tricarbóxico (DUDAREVA et al., 2013).

Tirosina

Tirosina teve níveis mais elevados apenas em IJ 76414 infestados IJ 76414 (I8) (Figura 57). A tirosina é um aminoácido aromático obtido a partir do corismato o produto final da via do ácido chiquímico e precursor comum de todos

os aminoácidos aromáticos (CELENZA, 2001; TZIN; GALILI, 2010). Glicosídeos cianogênicos, metabólitos presentes em diversas famílias de plantas como Euphorbiaceae, Proteaceae, e Poaceae, que apresentam ação contra insetos, tem a tirosina como precursor (SCHENCK; MAEDA, 2018). Tirosina pode ainda ser convertida em dopamina que em plantas *Malus hupehensis* aumenta a tolerância ao estresse salino (LI et al., 2015; WANG et al., 2020).

Como a tirosina é precursora de muitos metabólitos secundários, que estão implicados na defesa da planta contra o estresse biótico como fenólicos vegetais que atuam como impedimentos do ataque de insetos herbívoros, plantas com altos níveis de fenólicos constitutivos podem ser não atrativas para os herbívoros (KILLINY; HIJAZ, 2016). Além disso, sabe-se que tanto a velocidade e a duração a biossíntese de novo de fenólicos são mais importante para a resistência do que as concentrações constitutivas (BENNETT; WALLSGROVE, 1994). Logo, plantas que contêm altos níveis desse aminoácido aromático, podem conter altos níveis de fenólicos ou podem sintetizar maiores quantidades de compostos fenólicos rapidamente após o ataque de insetos.

As observações do presente trabalho com relação a tirosina estão de acordo resultados de alguns estudos analisaram a interação inseto-planta. (KIM et al., 2011) observaram que as folhas de *Nicotiana attenuata* tratadas com secreções orais (OS) de *Manduca sexta* produziram tirosina em níveis mais elevados do que em folhas não tratadas. Em plantas de tomate tirosina teve seus níveis elevados após herbivoria com lagartas de *Helicoverpa zea* (STEINBRENNER et al., 2011). Além disso, ao trabalhar com folhas de plantas *Inga umbellifera*, (LOKVAM et al., 2006) mostraram que a tirosina teve efeitos inibidores no crescimento e desenvolvimento da mariposa noctuida *Heliothis virescens*. A presença de tirosina indica que a via do shiquimato está ativa.

Betaína

Betaína teve níveis mais elevados US 721319 controle (C4) e infestada (I4) apenas (Figuras 57 e 58). A betaína GB é formado como resultado da oxidação da colina em duas etapas onde colina é convertida a aldeído betaína, intermediário tóxico, que posteriormente é convertido a betaína no estroma dos cloroplastos de plantas superiores (SAKAMOTO; MURATA, 2002). Esse

metabólito pode ser encontrado em várias plantas que acumulam esse composto altamente solúvel em resposta ao estresse hídrico, por exemplo. Entre essas plantas, as raízes das variedades Beta vulgaris (família Chenopodiaceae), são ricas nesse composto (RIVOIRA et al., 2017). Em trigo foi demonstrado que devido a presença de betaína faz com essas plantas conferem tolerância ao congelamento (WANG et al., 2010).

Com relação ao estresse biótico em plantas (LAVANYA; AMRUTHESH, 2017) observaram que betaína demonstrou ser eficaz para o controle da doença do míldio em milho. (KAUR et al., 2017) relataram que o papel na tolerância ao estresse biótico não era conhecido até então, porém, esses autores observaram que a parede da vagem de genótipos de grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) resistentes possuíam maior conteúdo de betaína do que genótipos suscetíveis a *Helicoverpa armigera*. Em plantas de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) maiores teores de betaína foram observados em algodoeiros infestados com *Spodoptera litura* em relação ao controle (HAFEEZ et al., 2020).

A oviposição de insetos também é influenciada devido a presença de betaína, Plantas da árvore da seda *Albizia julibrissin* (Fabaceae), por exemplo, eram menos preferidas por fêmeas de *Eurema mandarina* (Lepidoptera: Pieridae) que diminuíram suas respostas de oviposição com o aumento da concentração de betaína (OHASHI; OHTA; ÔMURA, 2019).

Dimetilglicina e colina

Dimetilglicina teve níveis mais elevados US 721319 controle (C4) e infestada (I4) e em IJ 76414 infestados (I8). Colina teve níveis menos elevados IJ 76414 controle (C8) e níveis mais elevados IJ76 361 controle (C9) (Figuras 57 e 58). Colina foi identificada em plantas de crisântemo (*Dendranthema grandiflora*) (LEISS et al., 2009). Tanto dimetilglicina quanto colina tiveram efeitos neutros sobre o comportamento de oviposição de *Eurema mandarina* (Lepidoptera: Pieridae) (OHASHI; OHTA; ÔMURA, 2019).

Como a herbivoria causada por afídeos pode induzir alterações na composição de aminoácidos nas plantas hospedeiras (GIORDANENGO et al., 2010) é possível especular que para as plantas do tratamento infestado a

heborvia por *D. saccharalis* esteja causando variações nos níveis de aminoácidos e isso possa influenciar nos mecanismos de defesa dessas plantas.

Com relação ao conteúdo nutricional, devido a níveis mais baixos de aminoácidos, a redistribuição para a raiz protegeria recursos metabólicos valiosos de patógenos e pode, concomitantemente, reduzir a absorção de N pela raiz por meio de um feedback negativo. Já foi demonstrado que as plantas podem realocar o N dos tecidos infectados. Por exemplo, o transporte de N da raiz para os brotos é aumentado após a herbivoria da raiz em *Centaurea maculosa* (PASTOR et al., 2014).

Glicina

Glicina está envolvido com a melhoria da fotossíntese devido aumento do conteúdo de clorofila que em plantas de arroz (XIAOCHUANG et al., 2017). A clorofila é um importante parâmetro para a absorção de nitrogênio, pois apresenta quatro átomos de nitrogênio no núcleo central, onde ocorre a absorção de radiação solar (TAIZ et al., 2017), absorve radiação na faixa de 400 a 700 nm (exceto a faixa da cor verde), e está diretamente associado ao potencial de atividade fotossintética e conseqüentemente o estado nutricional das plantas (ZOTARELLI et al., 2002).

Carboidratos

Os açúcares são comumente usados pelas plantas como fontes de carbono e energia influenciando no seu desenvolvimento (KOCH, 2004). Esses metabólitos atuam também como moléculas sinalizadoras na defesa da planta sob estresses bióticos e abióticos (HERBERS et al., 1996; SAIRANEN et al., 2012). Os carboidratos também fornecem a energia necessária para suportar o aumento da biossíntese de metabólitos secundários tais como aminoácido (HENDRAWATI et al., 2006). A composição de carboidratos é variável em plantas atacadas por insetos herbívoros (ZHOU et al., 2015).

Sacarose

Sacarose, foi identificada em plantas de crisântemo (*Dendranthema grandiflora*) (LEISS et al., 2009). Açúcares, tais como sacarose, são importantes para o metabolismo da planta e são substratos para a síntese de carboidratos complexos, como amido e celulose. Além disso, os açúcares fornecem os blocos de construção para a biossíntese de aminoácidos e ácidos graxos e praticamente todos os outros compostos presentes nas plantas. A sacarose é o principal açúcar de plantas vasculares podendo ser transportada e armazenado nos vacúolos celulares (SCHWACHTJE; BALDWIN, 2008). Esse metabólito também focorreu concentrações mais elevadas em plantas de sorgo resistentes pulgão *Melanaphis sacchari* (Zehntner). (UCHIMIYA; KNOLL, 2019).

No presente estudo nos acessos US 721319 controle (C4) e IJ76 361 infestado (I9) a sacarose ocorreu em níveis menos elevados. Sacarose teve níveis mais elevados nos acessos IJ 76414 controle (C8) e infestado (I8), como também em IJ76 361 controle (C9).

A infestação por *D. saccharalis* alterou significativamente o nível de sacarose em folhas de IJ 76414. Isso permite formular especulações a respeito de uma possível renovação rápida de sacarose nas folhas, que poderia ser usada para produzir metabólitos secundários para respostas de defesa direta, além de fornecer carbono para alocação da parte aérea para as raízes aumentando assim a tolerância da planta à herbivoria (SCHWACHTJE et al., 2006; ZHOU et al., 2015).

D-xilose

D-xilose é um açúcar raro que assim como de modo semelhante ao açúcar comum sacarose que demonstrou estar ligado à indução de resistência por antixenose a oviposição de *Cydia pomonella* (ARNAULT et al., 2016) poderia exercer algum papel sobre o comportamento de *D. saccharalis* no presente estudo.

Ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos são o produto da oxidação incompleta dos assimilados fotossintéticos. Eles podem ser convertidos de volta em carboidratos

ou sofrer oxidação terminal produzindo CO_2 e H_2O . Seus esqueletos de carbono também podem ser usados para a biossíntese de aminoácidos. A natureza “intermediária” dos ácidos orgânicos determina a flexibilidade de seu papel como atores importantes na manutenção do equilíbrio redox, produção e consumo de ATP, suporte de gradientes protônicos e iônicos nas membranas e acidificação dos espaços extracelulares (IGAMBERDIEV; EPRINTSEV, 2016). Estão presentes em todas as plantas e exercem diversas funções tanto dentro como fora do metabolismo celular. A estrutura química e o nível de acumulação desses metabólitos são variáveis e dependentes dos estágios de desenvolvimento e tipos de tecidos do vegetal (SWEETMAN et al., 2009).

Lactato

Um dos ácidos orgânicos encontrados em maior concentração em alguns acessos foi o lactato. Esse metabólito havia sido identificado em plantas de cúrcuma a partir de análise metabolômica (HEREBIAN et al., 2009). O papel do ácido láctico e de seus polímeros como promotores do crescimento tem sido relatado na literatura. Como um regulador de crescimento da planta foi inicialmente aplicado por (BLUMENTHAL; MEYER, 1924) e demonstrou influenciar a formação de calos em de fatias de cenoura.

(KINNERSLEY et al., 1990) trabalhando com plantas de lentilha (*Lemna minor* L.) e de milho (*Lemnaceae*) cultivadas em meios contendo o dímero de ácido láctico e seus polímeros, demonstraram que ocorreu aumento da biomassa da planta acompanhado por um aumento da acumulação de clorofila e crescimento da raiz. Esses autores argumentam ainda que a promoção da acumulação de clorofila e de biomassa pode ser devido ao aumento da capacidade de assimilar os nutrientes de plantas tratadas com ácido L-lactoilactico.

Fumarato

Esse metabólito é gerado pela oxidação do succinato e a redução simultânea de ubiquinona a ubiquinol pela enzima desidrogenase succinato (SDH). O metabolismo fotossintético C₄ e CAM representam um papel especial

para os ácidos orgânicos como reservatórios intermediários de carbono fixo. A fixação de CO₂ pela fosfoenolpiruvato carboxilase resulta na formação de oxaloacetato, que é então reduzido a malato em C₄ e CAM que pode ser convertido a fumarato (IGAMBERDIEV; EPRINTSEV, 2016).

O fumarato foi identificada em plantas de crisântemo (*Dendranthema grandiflora*) (LEISS et al., 2009). papel desse metabólito na planta é auxiliar na manutenção do pH celular ou ainda representar uma forma de armazenamento transitório de carbono fixado de um modo análogo ao da sacarose e amido. Por ser uma fonte de carbono, é usado na produção de outros fotossintatos como o aspartato (ARAÚJO; NUNES-NESI; FERNIE, 2011). Assim sendo, a maior concentração de fumarato nas plantas controle e/ou infestadas pode ser atribuída à sua utilização por plantas para biossíntese de aminoácidos e outros metabólitos, como sugerido por (SCHWACHTJE et al., 2018). Em SP79 1011 (C1) por exemplo, glicina estavam presentes em maior concentração do que em US72 1319 controle (C4). De modo semelhante para em SP79 1011 (I1), glicina estavam presente em maior concentração do que em US72 1319 infestada (I4).

O aminoácido glicina tem função na biossíntese de clorofila essencial para a fotossíntese, tal fato nos leva a justificar a presença deste aminoácido naquelas plantas devido a uma melhoria geral no processo fotossintético. Desta forma, a melhoria no processo fotossintético ocasionaria uma produção mais acentuada de fotossintatos, o que demanda uma maior quantidade carbono, matéria base necessária para biossíntese destes fotossintatos.

O fumarato pode atuar como um “reservatório” de carbono alternativo para no processo da fotossíntese, o que resultou em uma taxa de crescimento reduzida (CHIA et al., 2000; PRACHAROENWATTANA et al., 2010). (PRACHAROENWATTANA et al., 2010) mostraram que o acúmulo de fumarato em espécies efêmeras como *Arabidopsis* pode fornecer uma vantagem adaptativa para permitir o crescimento rápido quando o nitrogênio se torna disponível. Além disso, esses autores especularam que algumas espécies podem usar fumarato como sumidouro de carbono e regulador pH. Assim, pode-se sugerir um possível redirecionamento do fumarato nas plantas onde esse metabólito foi identificado em maior concentração, processo que forneceria alguma vantagem à planta auxiliando em outros dos seus processos fisiológicos, como por exemplo, na produção de e outros metabólitos como aminoácidos.

A presença de fumarato pode influenciar a resposta da planta a estresse biótico. A resposta da planta ao estresse consome muita energia e é dependente do suprimento de carbono para sustentar a biossíntese de compostos de defesa. O ciclo do ácido cítrico (TCA) não apenas fornece tais estruturas de carbono para a biossíntese, mas também participa da geração de ATP. O acúmulo desses compostos pode ajudar a fornecer a energia ou os esqueletos de carbono para futuras demandas (PASTOR et al., 2014).

Fumarato foi identificado em concentração menos elevada em US 721319 controle (C4) e infestada (I4), em IJ 76414 controle (C8) e mais elevada em IJ 76414 infestada (I8). Assim como em trabalhos anteriores esse composto foi um dos principais compostos que contribuíram para a separação observada a partir da OPLS-DA entre os US 721319 controle (C4) e SP79 1011 controle (C1), US 721319 infestada (I4) e SP79 1011 infestada (I1), IJ 76414 controle (C8) e SP79 1011, IJ 76414 infestada (I8) e SP79 1011 infestada (I1). De acordo com (ARANY et al., 2008) esse composto foi um dos principais responsável por separar plantas de *Arabidopsis thaliana* de origens diferentes. De modo semelhante, para (WARD et al., 2003) esse composto foi um dos principais compostos que separaram nove ecótipos de *A. thaliana* analisados por espectroscopia de RMN. A aplicação de fumarato foi associado a indução de priming contra o patógeno bacteriano *Pseudomonas syringae* em plantas de *Arabidopsis thaliana* (BALMER et al., 2018). Além disso, plantas tratadas com ácido β -aminobutírico (BABA) apresentaram níveis mais elevados de fumarato, em comparação com plantas não tratadas, e tal fato foi associado a mecanismos de priming em *A. thaliana* (PASTOR et al., 2014).

Acetato

O ácido acético (AA) é um ácido orgânico de baixo peso molecular onipresente. O AA tem sido usado para controle de ervas daninhas na produção de batata na concentração de 20%. Com o objetivo de determinar a possibilidade de priming de defesa anti-herbívoro contra *Spodoptera litura* em plantas de tomate (CHEN et al., 2019) demonstram que o AA aumentou a resistência das plantas contra o inseto herbívoro que demonstrou menor ganho de peso quando alimentados com pré-tratadas com AA.

Ácido succínico

Esse metabolito negativamente regulado em plantas de choupo (*Populus spp.*) infestadas por *Apriona germari* (Hope) (WANG et al., 2016). O conteúdo de ácido succínico foi mais alto em amostras de folhas de crisântemo (*Dendranthema grandiflora*) suscetíveis a tripes das flores ocidentais (*Frankliniella occidentalis*). O estudo realizado por (CHRIGUI et al., 2021) revelou que o ácido succínico variou significativamente entre os genótipos de grão-de-bico e ocorreu em níveis mais elevados nos genótipos mais resistentes a traça-da-folha do grão-de-bico. De acordo com (BOUCHE; FROMM, 2004) o succinato é biossintetizado a partir ácido γ -aminobutírico (GABA) um aminoácido não proteico envolvidos na defesa de plantas, contra insetos herbívoros e que também está envolvido no aumento de aminoácidos como glicina, valina, prolina, 5-oxoprolina, treonina, serina, L ácido glutâmico, e ácido aspártico e alguns ácidos orgânicos, incluindo ácido malônico, ácido málico e ácido lático e ácido ribônico no teor do açúcar maltose (LI et al., 2017). O ácido succínico foi induzido pela aplicação de metil jasmonato (LIANG et al., 2006).

Ácido E-aconítico

Ácido trans-aconítico é um metabólito encontrado em plantas (GUPTA; DE, 2017; SCHNITZLER; PETEREIT; NAHRSTEDT, 2007; UCHIMIYA; KNOLL, 2019). O ácido trans-aconítico pode ser acumulado nas plantas como o isômero mais estável do trans- aconitado que no ciclo do TCA aparece como um intermediário de baixa concentração (IGAMBERDIEV; EPRINTSEV, 2016).

A presença desse metabólito em concentrações mais elevadas em plantas de sorgo contribui para sua resistência ao pulgão *Melanaphis sacchari* (Zehntner). Os autores sugeriram que a presença desse metabólito poderia ser usado como um marcador de resistência para o sorgo ao pulgão (UCHIMIYA; KNOLL, 2019).

Piruvato

O produto final da glicólise, o piruvato é um metabólito que tem relação com o processo fotossintético de plantas (TAIZ et al., 2017), e sua destinação é dependem do suprimento de oxigênio e das necessidades de energia de a célula. O metabolismo oxidativo de o piruvato por piruvato desidrogenase forma acetil-CoA que entra no ciclo do TCA durante a respiração aeróbia (BOLTON, 2009b). O piruvato pode ainda ser convertido a diversos aminoácidos como valina, leucina, isoleucina e alanina (BINDER, 2010; VOLL et al., 2009).

Compostos fenólicos

O ácido gálico é um composto fenólico derivado do ácido benzóico, biossintetizado pela via do chiquimato derivado do ácido 3-desidrochiquímico que apresenta atividade antibacteriana e antifúngica (SEO et al., 2013). Pode ser convertido em galotaninos, polímeros heterogêneos que contêm as moléculas de ácido gálico ligadas de várias maneiras, uns aos outros e a açúcares. Uma das propriedades importantes dos galotaninos é que eles fornecem proteção para as plantas contra desenvolvimento de bactérias e fungos, atuando também a como um agente contra insetos (ANANTHAKRISHNAN, 1997; BARBEHENN; CONSTABEL, 2011).

Compostos fenólicos contribuem para a resistência das plantas atuando contra os insetos herbívoros (LATTANZIO; LATTANZIO; CARDINALI, 2006). A atuação desses compostos causa efeitos negativos na biologia dos insetos (ALVES et al., 2014) como também na sua oviposição (SHARMA; SOHAL, 2016; SOHAL; SHARMA, 2011). Em um extrato, de plantas de jabuticabeira, que continha o ácido gálico e outros fenólicos aumentou a mortalidade larval e o período de desenvolvimento da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith). Quercetina teve efeito negativo sobre o desenvolvimento, taxa de eclosão de ovos causando aumento na taxa de mortalidade de *S. litura* (SELINRANI et al., 2016). *Spodoptera litura* apresentaram melhor desenvolvimento em plantas com menor conteúdo fenólico (ANANTHAKRISHNAN; GURUSUBRAMANIAN; GOPICHANDRAN, 1991).

O ácido gálico dá origem a taninos hidrossolúveis quando condensados a glicose ou outros açúcares. (HEIL et al., 2002) relataram que em plantas com elevadas concentrações de taninos tem ocorrido decréscimo do uso das folhas

dessas plantas para alimentação de herbívoros. Esse metabólito causa efeitos negativos sobre a biologia de insetos. Larvas de *Bactrocera cucurbitae* tratadas com ácido gálico levaram mais tempo para pupar e atingir o estágio adulto em comparação com as larvas do controle. Os efeitos inibitórios do ácido gálico também foram observados no peso das larvas, no peso das pupas, na taxa média de crescimento relativo e na assimilação de alimentos, que diminuíram com o tratamento (SHARMA; SOHAL, 2013). Foi relatado, em trabalho realizado por (PUNIA et al., 2021), que a mortalidade larval aumentou e a emergência de adultos diminuiu, de forma dependente da concentração, quando o *S. litura* foi submetida a dieta artificial a base de ácido gálico.

Ácido clorogênico

O ácido clorogênico é um dos polifenóis benéficos mais abundantes nas plantas (KUNDU; VADASSERY, 2019). A biossíntese de ácido clorogênico é iniciada a partir de fenilalanina por meio de várias enzimas, incluindo fenilalanina amônia ligase (PAL), cinamato 4-hidroxilase (C4H), 4-hidroxicinamoil-CoA ligase (4CL), hidroxicinamoil-CoA shikimato/quinato hidroxicinamoiltransferase (HCT), 4-cumarato-3-hidroxilase (C3H) (CHEN et al., 2020). Esse metabólito exibiu atividade fungicida contra fungo fitopatogênico (Martínez et al., 2017). Ácido clorogênico apresentou toxicidade contra *Helicoverpa armigera* (WAR et al., 2013) de modo que os pesos das larvas alimentadas com dietas contendo esse metabólito foram significativamente menores em comparação com aquelas alimentadas com a dieta controle. Além disso, as atividades da serina protease total e da tripsina foram reduzidas em larvas de *H. armigera* alimentadas com dietas tratadas com ácido clorogênico. (MALLIKARJUNA et al., 2004) haviam observado que o ácido clorogênico de plantas de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) exerce efeitos negativos sobre a larva, a pupa e mariposa de *Spodoptera litura* Fab.

Várias espécies de plantas sob herbivoria apresentaram aumento nas concentrações de ácido clorogênico (KUNDU; VADASSERY, 2019). Ribeiro (2019) identificaram esse metabólito em diferentes espécies de mandioca. Em Crisântemo (*Dendranthema grandiflora*) altos níveis de ácido clorogênico fez com que essas plantas se apresentassem mais resistente a *Frankliniella*

occidentalis (LEISS et al., 2009). Em cana-de-açúcar (Sabino et al., 2019) demonstrou que o ácido clorogênico estava presente em maiores concentrações em plantas sob infestação de *D. saccharalis* quando comparadas a plantas intactas. Esses autores ainda demonstraram que *D. saccharalis* sofreu efeitos negativos sobre sua biologia quando foi alimentada com dieta que continha ácido clorogênico em sua composição.

7.28 A presença de metabólitos específicos no metaboloma dos acessos pode induzir a preferência e o ganho de peso de *D. Saccharalis* observados a partir dos bioensaios

No presente trabalho, com objetivo de caracterizar quimicamente diferentes acessos de cana-de-açúcar com potencial para defesa contra *D. saccharalis* e que poderiam ser utilizados em programas de melhoramento genético para o desenvolvimento de novas variedades mais resistentes a essa praga, foram identificados metabólitos que apresentaram potencial para influenciar tanto o comportamento de preferência por diferentes plantas como também o ganho de peso de *D. saccharalis*. Objetivando o fornecimento de uma estratégia para a seleção de biomarcadores em genótipos com potenciais para a produção de novos compostos além da sacarose, apesar de não terem efetuado teste para observar a influência dos metabólitos sobre o comportamento de insetos, (COUTINHO et al., 2016) efetuaram uma caracterização de genótipos de cana-de-açúcar e apresentaram cultivares com potencial para o melhoramento genético da cana-de-açúcar como fonte de flavonas, principalmente luteolina e derivados de tricina.

No presente trabalho a OPLS-DA permitiu a comparação entre os acessos SP79 1011 e IJ 76414, SP79 1011 e US 721319 e SP79 1011 e IJ 76361 tanto para as plantas do tratamento controle quanto para as plantas do tratamento infestado.

7.29 Possível influência de metabólitos discriminantes obtidos da comparação entre SP79 1011 (I1) e IJ 76361 (I9) nos resultados do bioensaio de antixenose

A partir da comparação entre SP79 1011 e IJ 76361, para as plantas infestadas, foi possível observar a presença de metabólitos como o ácido gálico, ácido clorogênico, metabólitos que podem estar relacionados resultados observados no bioensaio de antixenose os quais demonstraram que a *D.saccharalis* apresentou em média menor ganho de peso quando se alimentou com plantas do acesso IJ 76361. Reforçando as nossas sugestões o ácido gálico tem demonstrado efeitos crônicos sobre o crescimento de *H. armigera* pela redução na eficiência de conversão alimentar, causando defecação contínua e lesões no intestino grosso (ANANTHAKRISHNAN, 1997). Além disso, (Sabino, 2019) observaram o ácido clorogênico foi encontrado em maior concentração em plantas de cana-de-açúcar infestadas. Além disso, esses autores demonstraram ainda que o ácido clorogênico pode afetar negativamente a biologia de *D.saccharalis*. de modo semelhante, o ácido gálico, pode influenciar negativamente o desenvolvimento de insetos como, por exemplo, de *Helicoverpa armigera* (Hubner 1805) (Lepidoptera Noctuidae) e ácido trans-aconítico em concentrações mais elevadas em plantas de sorgo contribuiu para sua resistência ao pulgão *Melanaphis sacchari* (Zehntner). (UCHIMIYA; KNOLL, 2019).

Os níveis mais elevados de glicina em SP79 1011 poderia ser atribuído ao seu envolvimento com acúmulo de carboidratos, fato que estaria melhorando o estado nutricional da planta, como mostrado pelos níveis mais elevados de sacarose. Desse modo, uma vez que carboidratos e aminoácidos podem melhorar o ganho de peso de insetos (ROY; BARIK, 2012) a maior concentração de glicina e sacarose no metaboloma dessas plantas poderia estar influenciando no maior ganho de peso de *D. saccharalis*.

No acesso IJ76 361 os níveis menos elevados de sacarose indicam que esse metabólito poderia estar sendo realocado para outras partes da planta (SCHWACHTJE et al., 2006; ZHOU et al., 2015) ou ainda sendo usado, pela planta, como fonte de energia e de carbono para a produção de outros

metabólitos relacionados a defesa como os ácidos clorogênico e gálico (SCHWACHTJE; BALDWIN, 2008).

A figura 58 resume as variações nos níveis dos metabólitos para a comparação entre SP79 1011 (I1) e IJ 76361 (I9).

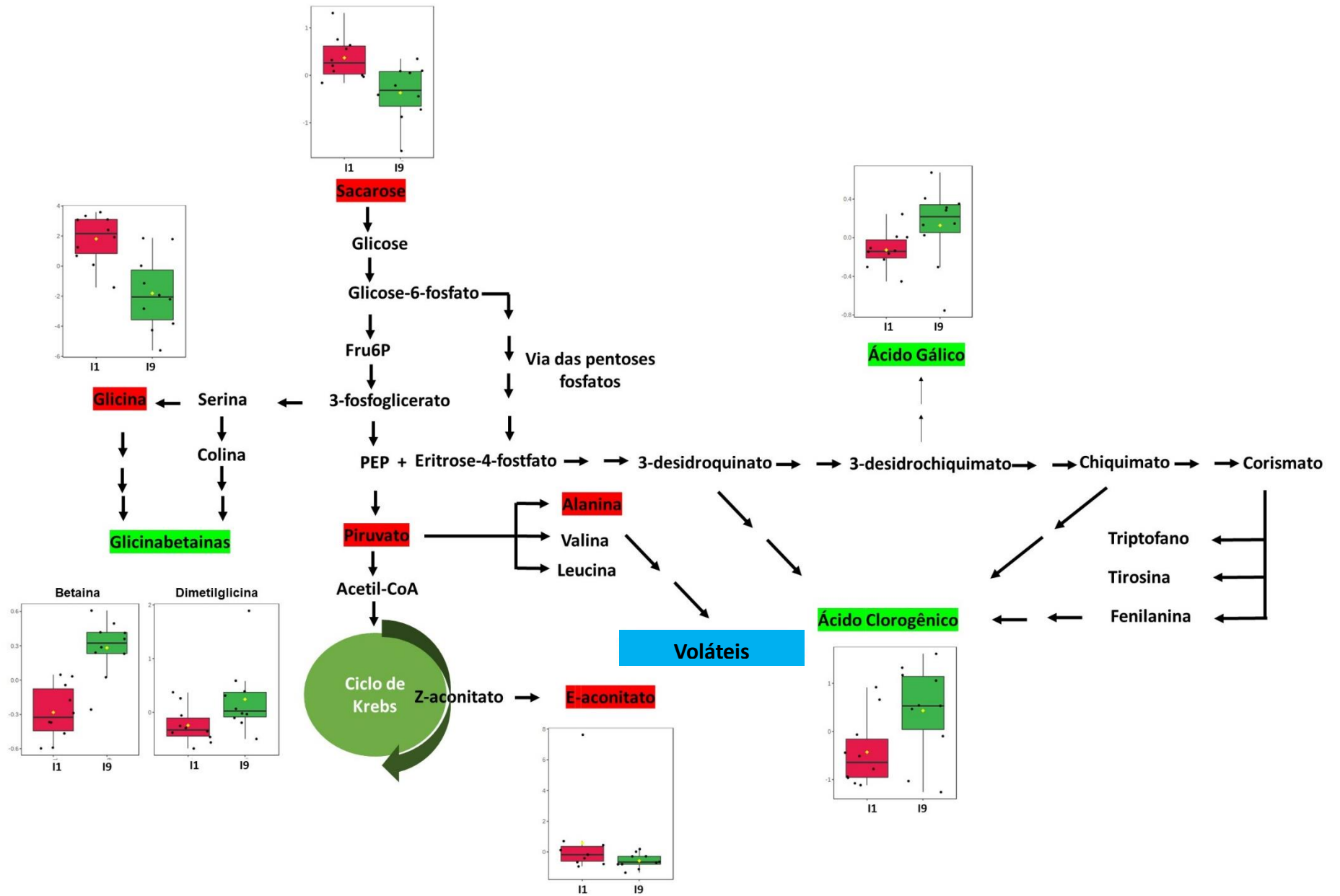
Assim de acordo com as observações apresentadas acima poderia se especular que presença desses metabólitos estariam influenciando os resultados observados no bioensaio de antixenose para esses acessos.

7.30 Possível influência de metabólitos discriminantes obtidos da comparação entre SP79 1011 (C1) e IJ 76361 (C9) nos resultados do bioensaio de antixenose

Para o bioensaio de antixenose foi possível perceber que *D. saccharalis* preferiu em média a acesso SP79 1011 ao invés de IJ76 361 e tal resultado pode ser atribuído a presença de COVs como nonanal e decanal, metabólitos que são capazes de repelir insetos (ZHANG et al., 2015), na mistura volátil de IJ76 361 (C9). Esses COVs podem ser biossintetizados a partir de aminoácidos como valina e alanina de modo que a presença desses COVs na mistura volátil de IJ76 361 ainda explicaria o fato dos menores níveis de alanina nesse acesso já que alanina poderia estar sendo convertida em COVs. Um vez que compostos fenólicos podem influenciar no comportamento de insetos (COUTINHO et al., 2016) a presença do ácido gálico e do ácido clorogênico em maior concentração nas plantas do acesso IJ 76361 infestado (I9) poderia estar relacionado ao fato da *D. saccharalis* serem menos atraída por essas plantas quando comparadas as plantas do acesso SP79 1011 no bioensaio de antixenose.

Resultados semelhantes forma obtidos por quando (DINARDO-MIRANDA et al., 2012b) trabalharam com diferentes cultivares de cana-deaçúcar e constataram que uma dessas era menos preferida por *D. saccharalis* em bioensaio de antixenose. Apesar desses autores não terem identificado compostos que justificassem o comportamento de *D. saccharalis* (COUTINHO et al., 2016) sugeriram que a presença de compostos fenólicos no perfil metabólico dessa cultivar fosse responsável por tais especulações.

Figura 58-Rota metabólica dos metabólitos discriminantes. Em verde os discriminantes em níveis mais elevados e em vermelho os metabólitos em níveis menos elevados para IJ 76361 (I9) comparado ao acesso SP79 1011



7.31 Possível influência de metabólitos discriminantes obtidos da comparação entre SP79 1011 (C1) e IJ 76414 (C8) e nos resultados do bioensaio de antixenose

No bioensaio de antixenose foi possível observar que *D. saccharalis* preferiu o acesso IJ 76414 (C8). A presença de decanal, repelente de insetos, na mistura de COVs pelo acesso SP79 1011, além de piruvato, encontrado em níveis menos elevados, que pode ser convertido em aminoácidos como valina, alanina (BINDER, 2010; VOLL et al., 2009), precursores de COVs repelentes de insetos como decanal (DUDAREVA et al., 2013; ZHANG et al., 2015), colina, um metabólito envolvido em mecanismos anti-herbivoria (Ananthkrishnan, 1997; Sabino et al., 2019) e ácido E-aconítico um marcador de resistência para o sorgo ao pulgão (UCHIMIYA; KNOLL, 2019) poderiam estar relacionados aos resultados observado nesse bioensaio e explicar o comportamento observado, no entanto, mais trabalhos são necessários para testar tais sugestões.

7.32 Possível influência de metabólitos discriminantes obtidos da comparação entre SP79 1011 (I1) e IJ 76414 (I8) nos resultados do bioensaio de antibiose

No bioensaio de antibiose, com dez dias de avaliação, IJ 76414 foi o acesso que ocasionou o maior número de evento de fugas e mortes de *D. saccharalis*.

A partir dos dados obtidos da OPLS-DA para a comparação entre os acessos IJ 76414 e SP79 1011 foi possível observar a presença dos aminoácidos glicina, do intermediário do ciclo do ácido cítrico, fumarato, que são metabólitos relacionados a melhoria do processo fotossintético (ARAÚJO; NUNES-NESI; FERNIE, 2011; XIAOCHUANG et al., 2017) além de sacarose. Esses metabólitos poderiam conferir energia e carbono como bloco de construção para a biossíntese de outros metabólitos relacionados a defesa da planta, podem estar relacionados causas para os eventos de fuga.

Metabólitos como alanina e valina são precursores de voláteis que atuam na defesa de plantas (DUDAREVA et al., 2013) os COVs oriundos desse metabólitos poderiam também influenciar no comportamento observado no bioensaio de antibiose. Além disso, os altos níveis de tirosina, um aminoácido aromático precursor de glicosídeos cianogênicos, metabólitos presentes em diversas famílias de plantas como Euphorbiaceae, Proteaceae, e Poaceae, que atuam contra insetos (SCHENCK; MAEDA, 2018) também poderiam contribuir para a explicação desses eventos morte.

7.33 Metabólitos identificados a partir dos extratos do colmo do acesso SP79 1011 podem contribuir para resistência dessa planta

A *D. saccharalis* se desloca da folha em direção ao colmo, comportamento esse que ocorre após a eclosão dos ovos. A identificação de metabólitos que poderiam desencadear esse comportamento torna-se importante uma vez que seria possível entender de que maneira esse mecanismo ocorre e assim desenvolver maneiras de alterar tal comportamento de modo a favorecer a defesa da planta.

Aminoácidos do colmo do acesso SP79 1011

Entre os metabolitos solúveis encontrados no colmo de SP79 1011, no presente trabalho, está o aminoácido alanina e o derivado de aminoácido, colina, um aminoálcool.

Os aminoácidos desempenham várias funções nas plantas as quais incluem seu uso constituintes de proteínas, eles também representam blocos de construção para várias outras vias de biossíntese e desempenham papéis fundamentais durante os processos de sinalização, bem como na resposta ao estresse das plantas, crescimento e desenvolvimento de plantas, controle intracelular do pH, geração de energia metabólica ou redox e resistência a ambos estresse abiótico e biótico (FAGARD et al., 2014; GALILI et al., 2014).

O conteúdo de aminoácidos nas plantas pode variar como demonstrado por (ERRARD et al., 2016) quando observaram que o nível de aminoácidos livres

em folhas de tomate infestado foi mais acentuado do que nas folhas de plantas sem infestação.

As plantas usam os aminoácidos para seu desenvolvimento e como precursores de biossíntese para compostos de defesa, já os insetos herbívoros utilizam os aminoácidos como fonte de nutrientes (ZHOU et al., 2015).

O conteúdo de N₂ nas plantas pode sofrer variações influenciadas por diferentes fatores como demonstrado por (WU et al., 2019) em arroz (*Oryza sativa* L.), um membro da família Poacea, que observaram uma remobilização do N endógeno das folhas para as raízes, reduzindo o acúmulo de N nas folhas das plantas tratadas. Os autores argumentaram que essa remobilização poderia fazer parte de uma estratégia defensiva baseada na tolerância (WU et al., 2019). As plantas ainda podem dificultar o desempenho do herbívoro devido a uma diminuição do valor nutricional dos tecidos atacados causada por um desequilíbrio no seu conteúdo de aminoácidos (ZHOU et al., 2015).

Nos acessos do tratamento controle os aminoácidos discriminantes identificados foram α -alanina, glicina, tirosina e valina e os derivados de aminoácidos foram betaína, dimetilglicina, colina.

Nos acessos do tratamento infestado os aminoácidos discriminantes identificados foram α -Alanina e glicina e os derivados foram dimetilglicina, betaína.

Alanina

Nos extratos do colmo a alanina teve seus níveis reduzidos após o processo de herbivoria no colmo do acesso SP791011 presente estudo. (PÉREZ et al., 1992) relacionaram a redução nos níveis desse metabólito ao seu uso na produção de metabólitos orgânicos voláteis já que este metabólito foi relatado como precursor de ésteres etílicos em morangos. A diminuição do aminoácido alanina pode indicar ainda alocação de recursos para diferentes partes da planta já que estes metabólitos podem ser alocados da parte aérea para as raízes (SUN et al., 2014).

A alanina é um dos primeiros produtos da assimilação de CO₂ nas plantas. Ela é formada na fotossíntese, presumivelmente, pela aaminação redutora do PEP (fosfo-enol- piruvato) que é derivada da PGA (ácido 3-

fosfoglicerato) (SOSINSKA; MALESZEWSKI, 1978). Voláteis de plantas, como aldeídos, álcoois, ésteres são derivados de aminoácidos como alanina, valina, leucina, isoleucina e metionina, que desempenham um papel importante na defesa das plantas ao recrutar os inimigos naturais de inseto herbívoro. Esses voláteis também podem ser repelentes de pragas, ou ainda atrair parasitoides e predadores que são inimigos naturais dos herbívoros atuando acima e abaixo do solo mediando a comunicação na própria planta danificada ou entre plantas vizinhas voláteis (KUTYNIOK; MÜLLER, 2012; WAR et al., 2011).

Assim, no presente trabalho as diferenças nos níveis de alanina nos extratos do colmo de plantas do controle e infestadas podem estar relacionadas ao fato desse metabólito estar sendo usado como precursor para a produção de outros metabólitos nas plantas que sofreram herbivoria.

Colina

A colina foi um metabólito encontrado em menor concentração nas plantas sob herbivoria de *D. saccharalis*. Revelando um contraste com resultados já relatados em outros trabalhos já que em plantas geralmente ocorre um aumento nos níveis de colina após um ataque de insetos herbívoros, o que está relacionado a um aumento na síntese de componentes da membrana celular depois que a membrana é lesionada evento que pode agir contra herbívoros prejudicando seu desempenho (SARDANS et al., 2014). A colina é um metabólito anti-herbivoria geral e um inibidor de patógenos. Sintetizada a partir da serina, sendo a síntese da serina em plantas relacionada à transaminação a partir da asparagina um transportador geral de nitrogênio. O aumento no teor de colina em plantas feridas está relacionado a um aumento na síntese de componentes da membrana após lesão na mesma (MCNEIL et al., 2001). O trabalho de (TITARENKO et al., 1997) com *Arabidopsis thaliana*. mostraram que o ferimento da planta induz a síntese de colina através da via de transdução de sinal de ácido jasmônico, sendo que este efeito foi encontrado não apenas no local do ferimento, mas também na área não danificada de plantas feridas. Assim essa acumulação de moléculas solúveis ricas em N tem sido sugerida como um mecanismo para armazenar N e C após o ferimento, sendo que essas reservas induzidas por feridas poderiam posteriormente servir

como fonte de novo crescimento após a fase de recuperação da ferida ajudando a prevenir as perdas de N durante a resposta do ferimento as quais (ZHOU; THORNBURG, 1999).

Assim como no trabalho de (DE SOUZA et al., 2013a) no presente trabalho, para os metabólitos do colmo para acesso SP791011, houve uma redução dos teores de colina, o que permite especular que este resultado provavelmente se deve a características desta variedade, pois a mesma em campo apresenta-se susceptível ao ataque de *D. Saccharalis*. Em trabalho com a mesma variedade usada no presente trabalho, (Sabino, 2019) encontraram baixos níveis de colina quando as plantas foram submetidas a herbivoria por *D. saccharalis*.

O trabalho de (de Souza et al., 2013) em condições de laboratório mostrou que essa cultivar é susceptível ao ataque de *D. saccharalis*. Além disso o trabalho de Silva et al. (2002) estudando o comportamento das variedades RB72454, RB83102 e SP79-1011 de cana-de-açúcar com relação à broca *Diatraea* spp. em quatro regiões de Alagoas, observaram uma maior preferência da broca pela variedade SP79-1011, diferindo significativamente das demais e uma maior incidência da praga na região litoral norte. Como no presente trabalho ocorreu uma diminuição nos níveis de colina apenas nas plantas sob herbivoria pode-se especular que tal fato esteja relacionado a uma possível susceptibilidade da cultivar ao ataque de *D. Sacchralis* pois como exposto em campo a variedade SP 791011 mostrou-se susceptível ao ataque de *D. sacchralis*.

Carboidratos

Após a herbivoria por *D. sacchralis* o único carboidrato encontrado em menor concentração nas plantas atacadas por *D. saccharalis* foi a sacarose. Açúcares como sacarose, glicose e frutose, no geral desempenham papel essencial no metabolismo da planta. Eles são importantes para o metabolismo e são substratos para a síntese de carboidratos complexos, tais como amido e celulose. Atuam também como blocos de construção para a biossíntese de

aminoácidos e ácidos graxos e praticamente todos os outros compostos presentes nas plantas (SMEEKENS, 2000).

Sacarose

A sacarose é o principal açúcar de plantas vasculares. Como é um carboidrato não redutor, pode ser translocado e armazenado nos vacúolos celulares, não sendo metabolizado até ser necessário. É uma molécula altamente solúvel e quimicamente inerte quando em contato com proteínas, pois não forma ligações covalentes com grupos amino livres. É também a molécula que retém a maior energia livre de hidrólise conhecida para uma ligação glicosídica (MOORE, 2006). Além de fornecer substrato para síntese de material celular e de outros carboidratos de reserva, como amido e frutano, a sacarose atua como molécula sinalizadora do metabolismo e do desenvolvimento vegetal, através da modulação da expressão gênica e do turnover de proteínas (FARRAR; POLLOCK; GALLAGHER, 2000).

A sacarose é sintetizada no mesófilo da folha e rapidamente transportada para o colmo da cana-de-açúcar e ao longo do desenvolvimento da planta é hidrolisada em glicose e frutose, sendo estas moléculas usadas na síntese da parede celular (TAIZ et al., 2017). No presente estudo foram usadas plantas no início de desenvolvimento vegetativo as quais em condições normais tenderiam a um comportamento de acúmulo de sacarose para manutenção de seus processos vegetativos. Partindo desse princípio pode-se especular que a diminuição dos níveis de sacarose nas plantas infestadas com *D. saccharalis* deve-se a algum processo relacionado ao uso dessas moléculas na produção de compostos de algum modo relacionados a manutenção do dano causado pelo inseto atacante.

Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos derivados do ácido benzoico denominados ácido p-hidroxibenzoico (pHBA) e ácido siríngico foram detectados em menor concentração nas plantas que sofreram herbivoria por *D. saccharalis*. Os compostos fenólicos são um importante grupo de metabólitos que possuem um

anel aromático contendo pelo menos uma hidroxila. Estes compostos incluem: fenóis simples e glicosilados, ácidos fenol-carboxílicos, derivados dos ácidos benzóico e cinâmico, a-pirones (cumarinas e isocumarinas), ligninas, flavonóides (flavononas, antocianinas e catequinas) e quinonas. As rotas biossintéticas ocorrem por duas vias principais, a via do ácido chiquímico através de carboidratos ou pela via do acetato-polimato que inicia com a acetil co-enzima A e a malonil-coenzima A (CHEYNIER et al., 2013).

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários amplamente distribuídos, presentes em todo o reino vegetal. Localizados no vacúolo, foram encontrados em forma livre ou ligados a carboidratos (NACZK; SHAHIDI, 2006).

Ácidos p-Hidroxibenzoico (pHBA) e ácido siríngico

Os ácidos p-hidroxibenzoico (pHBA) e ácido siríngico foram detectados em menores concentrações nas plantas sob herbivoria do presente trabalho. Os ácidos benzóicos vegetais (BAs) são blocos de construção ou elementos estruturais importantes empregados na biossíntese de numerosos metabólitos primários e secundários, os quais incluem hormônios vegetais, cofatores, compostos de defesa e atrativos para polinizadores e dispersores de sementes. Esses metabólitos desempenhando papéis importantes para a aptidão da planta, e estão envolvidos na ativação da resposta de defesa contra estresses bióticos (VLOT; DEMPSEY; KLESSIG, 2009; WOODHEAD; COOPER-DRIVER, 1979), e abióticos (NAIKOO et al., 2019) participando nas cascatas de sinalização de desenvolvimento que controlam os processos tais como a floração e senescência. BAs vegetais também fornecem esqueletos de carbono para numerosos metabólitos secundários. Os compostos benzílicos voláteis (derivados de BA), benzílicos (derivados do álcool benzílico) e antraniloílo (derivados do ácido antranílico) funcionam como compostos que participam da atração de polinizadores e dispersores de sementes.

Contrastando com os resultados do presente trabalho, porém trabalhando com microrganismos. O trabalho de (SMITH-BECKER et al., 1998) demonstrou que em folhas de pepino (*Cucumis sativa*) inoculadas com *Pseudomonas syringae* pv. *Syringae* ocorreu um aumento transitório nas concentrações SA e 4HBA nos fluidos do floema atingindo concentrações máximas 15 h após a

inoculação. Esses autores sugerem que os dois compostos seriam produzidos de novo no caule e pecíolos, ou em tecidos vasculares. Além disso, (ANANTHAKRISHNAN et al., 1990) argumentam *Heliothis armigera* Hubner tiveram seu desenvolvimento (sobrevivência e pupação) e comportamento alimentar prejudicado quando tal praga foi tratada com compostos fenólicos.

Woodhead & Cooper-Driver, (1979) descobriram que o plantas de sorgo continha uma mistura de hidrolases que poderia efetuar a transformação de ésteres fenólicos "inativos" e glicosídeos em ácidos fenólicos "ativos" em uma concentração alta o suficiente para reduzir significativamente a alimentação por *Locusta migratória*. Dentre os ácidos detectados está o (pHBA).

Em casos de trabalhos com insetos, porém, mais uma vez demonstrando resultados contrastantes aos encontrados no presente trabalho, o trabalho de (RANI; PRATYUSHA, 2014) avaliaram as propriedades anti-nutritivas e defensivas de compostos fenólicos que foram potencializados em plantas de mamona, *Ricinus communis* L. devido a danos causados por herbívoros. Neste trabalho os autores puderam observar que os danos causados por duas pragas, *Achaea janata* L. e *Spodoptera litura* F. na mamona, resultaram em aumento quantitativo dos ácidos siringico, cumárico, cinâmico e vanílico. Além disso estes compostos fenólicos mostraram um impacto considerável na alimentação dos insectos e a sua natureza tóxica em relação aos herbívoros foi determinada estimando-se três enzimas de desintoxicação no meio do intestino, glutathione-S-transferase, carboxil esterase e p-glucosidase. Neste mesmo trabalho os autores executaram bioensaios de oviposição e orientação com o parasitóide de ovos *Trichogramma chilonis* Ishii, e assim observaram que os ácidos siringico e coumarico mostraram boa atividade kairomonal, definindo um novo papel destes químicos na defesa indireta da planta.

Trabalhando com plantas de triticales (*Triticosecale Wittm.*) submetidas a alimentação do pulgão do grão (*Sitobion avenae* F.) e do besouro da folha do cereal (*Oulema melanopus* L.). (CHRZANOWSKI; LESZCZYŃSKI, 2008) observaram que a alimentação do besouro das folhas de cereais provocou aumento nas concentrações dos ácidos gálico, clorogênico, salicílico, siríngico e ferúlico. Além disso os autores observaram ainda que a alimentação do pulgão resultou no aumento das concentrações dos ácidos gálico, clorogênico, vanílico, cafeico, siríngico e salicílico.

A diminuição na concentração do ácido siríngico e p-hidroxibenzóico nas plantas submetidas a herbivoria do presente trabalho contrasta com os resultados encontrados com os resultados dos experimentos expostos acima. Essa diminuição pode estar relacionada ao uso destes metabólitos como fonte para a produção de outros metabólitos que poderiam estar envolvidos na defesa da planta, porém, não existem estudos sobre quais metabólitos poderiam ser estes já que as vias metabólicas para a sua produção ainda são pouco estudadas (WIDHALM; DUDAREVA, 2015) .

Álcoois

No presente trabalho o etanol foi detectado em níveis mais elevados nas plantas sob a herbivoria de *D. saccharalis*. Sob condições aeróbicas normais (21% O₂), as plantas produzem energia através da oxidação gradual da glicose para os produtos finais CO₂ e H₂O (respiração). Essas etapas incluem a conversão de glicose em piruvato, oxidação subsequente através do ciclo do ácido tricarbóxico ao CO₂, e fosforilação oxidativa, na qual o O₂ atmosférico é usado para produzir H₂O. Sob a falta de O₂, ocorre um processo alternativo para fornecer a energia necessária para sustentar as funções da vida; piruvato é convertido em acetaldéido, que é rapidamente reduzido a etanol, ou seja, fermentação (TAIZ et al., 2017). O etanol como produto da fermentação anaeróbica via piruvato descarboxilase e álcool desidrogenase, geralmente não é gerado em partes aéreas de plantas, porém, em condições anóxicas, como inundações, ocorre a fermentação do etanol e posterior transporte de etanol para partes aéreas da planta (VAN WAARDE, 1991).

Etanol

O etanol pode ser produzido em condições de estresse aeróbio e tem sido demonstrado que é produzido durante estágios especiais de patogênese, especialmente em interações de plantas com patógenos de podridão mole, como espécies de *Erwinia*. Assim o papel do etanol como padrão molecular associado a dano (PMAD) não é evidente porque sua fonte não é clara.

O trabalho de (PEÑUELAS et al., 2005) evidencia a importância do etanol como um produto gerado pelo ataque de insetos herbívoros. Nesse trabalho os autores mostraram que a herbivoria por lagartas de *Euphydryas aurinia* em plantas *Succisa pratensis* (Dipsacaceae) resultou na emissão de etanol, enquanto as plantas que não foram atacadas não emitiram etanol, porém os autores não chegaram a determinar a fonte de produção etanol induzido por herbivoria. Outra evidência que sugere que o etanol pode ser produzido em plantas durante o estresse, é o aumento da indução de álcool desidrogenase (ADH-P) induzida pelo estresse, que reduz o acetaldeído a etanol. Em geral, o ADH-Ps demonstrou desempenhar papéis na produção de COVs (redução de hexenóis C6-voláteis para hexenóis), bem como fermentação anaeróbica e aeróbica (TADEGE; DUPUIS; KUHLEMEIER, 1999).

Hann et al., (2014) argumentam que se o etanol é produzido durante condições de estresse como hipóxia, frio, osmótico e sal, bem como em resposta a alguns patógenos, mas não sob condições normais. Esses metabólitos então ele tem o potencial de funcionar como um alarme químico, possivelmente como um DAMP ou MAMP, dependendo da sua fonte. Nesse trabalho os autores mostraram que o etanol não funcionava como um elicitor forte em dicotiledôneas, mas sim alterava a resposta de MAPK (proteína quinase ativada por mitógeno) e EROs (espécies reativas de oxigênio) para flg22 (peptídeo de flagelina de 22 aminoácidos) e sistemina (polipeptídeo de 18 aminoácidos responsivos a danos por herbívoros ou mecânicos), similar ao metanol. Nas gramíneas, tanto o etanol quanto o metanol atuaram como elicitores fortes da atividade da MAPK. Resta determinar se o etanol altera a expressão gênica induzida por MAMP e DAMP. Esses autores ainda argumentam que o etanol, ao contrário do metanol, não é conhecido por ser produzido durante as condições normais de crescimento das plantas, as plantas não precisam ser capazes de distinguir o etanol induzido pelo estresse de outras fontes de etanol. Logo, o etanol pode ser um indicador mais confiável de perigo.

Assim sendo, no presente trabalho as plantas infestadas apresentaram maiores níveis de etanol sugerindo que esse metabólito possivelmente tem um papel importante na sinalização do estresse causado pelo ataque da *D. saccharalis*, embora esse aumento nos níveis de etanol possa ser devido da fermentação já que as plantas ficaram cinco dias de herbivoria e provavelmente

algum microrganismo ao se alojar no colmo pode promover a fermentação da sacarose a etanol fato que também explicaria os baixos níveis na concentração de sacarose nas plantas sob herbivoria.

Ácidos orgânicos

A análise metabolômica das plantas do presente trabalho demonstra que o succinato se encontrava em níveis mais elevados em plantas infestadas com *D. saccharalis* quando comparadas a plantas do controle.

Succinato

Assim como em animais e microorganismos o ciclo do ácido tricarboxílico (TCA) das mitocôndrias vegetais é composto por um conjunto de oito enzimas que oxidam piruvato e malato formados no citosol para CO₂ e NADH. O CO₂ é liberado e o NADH é oxidado pela cadeia de transporte de elétrons para a geração de ATP (WANG et al., 2017). No ciclo de Krebs a succinato desidrogenase é a enzima que catalisa a oxidação do succinato ao fumarato e a redução da ubiquinona (UQ) ao ubiquinol (UQH₂), ligando assim o ciclo do ácido tricarboxílico (TCA) e o sistema de transporte de elétrons (ETS) sendo também uma importante fonte de espécies reativas de oxigênio (EROs) em plantas regulando a resposta de defesa ao estresse (TAIZ et al., 2017). As espécies reativas de oxigênio (EROs) são moléculas sinalizadoras que regulam o desenvolvimento das plantas e as respostas a estresses (BITTNER; TRAUER-KIZILELMA; HILKER, 2017). No trabalho de (JARDIM-MESSEDER et al., 2015) demonstrou-se o papel de succinato desidrogenase (SDH) na produção de EROs mitocondrial através de sua relação com inibidores competitivos (malonato MA, ácido 3-nitropropiónico (3NP) e oxaloacetato (OAA) e não competitivos (trifluoroacetona (TTFA)) como também a influência desta relação com o desenvolvimento da planta. Seus resultados demonstraram que SDH é uma fonte direta de EROS em mitocôndrias vegetais e que a indução da produção de EROs por inibidores específicos de SDH prejudica o crescimento das plantas. Diante do exposto sugerimos que o succinato em maior concentração nas

plantas sob herbivoria se deve a provável um mecanismo de produção de EROs como resposta ao ataque de *D. saccharalis*

A presença de sacarose em menores concentrações nas plantas infestadas não explicam o deslocamento da *D. saccharalis*, uma vez que essas plantas, devido ao nível mais baixo de sacarose, se apresentam menos nutritivas do que as plantas controle, porém, para que conclusões mais precisas sejam feitas, mais estudos são necessários, principalmente aqueles que mostrem alterações metabólicas comparando folha e colmo em diferentes períodos de avaliação.

8 CONCLUSÕES

-A análise metabolômica da SP 79 1011 após o experimento antibiose durante 120 horas, revelou diferenças entre os metabólitos produzidos pelas plantas submetidas a diferentes tratamentos.

-Os metabólitos encontrados por intermédio da análise metabolômica quando se comparou as plantas controle com as plantas sob herbivoria pertencem a diferentes classes de compostos como por exemplo: álcoois, fenólicos, aminoácidos, sendo que possivelmente alguns destes metabólitos podem estar relacionados a defesa da planta contra o ataque da *D. saccharalis*.

-Aerações das plantas com os acessos SP79 1011, US 721319, IJ 76414 e IJ 76361 mostraram de COVs que poderiam ser relacionados ao comportamento de *D. saccharalis* observado no bioensaio de antixenose.

-O bioensaio de antixenose demonstrou que o acesso IJ 76361 foi menos preferido por *D. saccharalis* quando comparado a SP79 1011.

-O acesso IJ 76414 foi mais preferido por *D. saccharalis* quando comparado a SP79 1011.

-O bioensaio de antibiose com todos os 12 acessos oriundos do BAG foi efetuado com um intervalo de dez dias e revelou a ocorrência de contrastes entres as plantas avaliadas.

-O acesso IJ 76361 foi aquele que forneceu o menor ganho de peso para *D. saccharalis* quando comparado a SP791011.

-O acesso US 721319 forneceu o menor ganho de peso para *D. saccharalis* logo depois de IJ 76361, porém a diferença do ganho de peso de *D. saccharalis* alimentada com esse acesso comparado a SP791011 não foi significativo.

-A partir da identificação de acessos que apresentam características de defesa contra o ataque de insetos herbívoros é possível selecioná-los para que atuem como fonte potencial de variabilidade em programas de melhoramento genético de plantas. Levando essas observações em consideração, sugerimos que os acesso IJ 76361 apresenta potencial para o melhoramento genético da cana-de-açúcar como fonte de COVs como nonanal, decanal, tetradecano, pentadecano, 2-ethyl-1-Hexanol, γ -Cadineno e α -Cadineno, e de metabólitos como ácido clorogênico, ácido gálico, betaína, dimetilglicina e alanina.

9 PERSPECTIVAS

Como perspectivas do trabalho serão realizadas comparações entre os perfis metabólicos dos acessos do tratamento controle e infestado. Serão realizadas comparações entre as misturas de COVs dos acessos do tratamento controle e infestado. Será realizada a identificação de metabólitos solúveis com base em técnicas de cromatografia líquida dando ênfase em classes específicas de metabólitos tais como compostos fenólicos. Realizar análise metabolômica do colmo do acesso SP79 1011 em diferentes tempos de confinamento da *D. saccharalis*.

10 REFERÊNCIAS

- AGUIRRE, L. M. et al. Characterization of resistance to adult spittlebugs (Hemiptera: Cercopidae) in *Brachiaria* spp. **Journal of economic entomology**, v. 106, n. 4, p. 1871–1877, 2013.
- AHAMMED, G. J. et al. Melatonin alleviates iron stress by improving iron homeostasis, antioxidant defense and secondary metabolism in cucumber. **Scientia Horticulturae**, v. 265, p. 109205, 2020.
- AKBAR, W. et al. Categorizing sugarcane cultivar resistance to the sugarcane aphid and yellow sugarcane aphid (Hemiptera: Aphididae). **Journal of economic entomology**, v. 103, n. 4, p. 1431–1437, 2010.
- AL-QUDAH, M. A.; MUHAIDAT, R.; TRAWENH, I. N. Volatile constituents of leaves and bulbs of *Gynandris sisyrinchium* and their antimicrobial activities. **Jordan Journal of Chemistry**, v. 146, n. 606, p. 1–9, 2012.
- ALBORN, H. T. et al. Disulfoxy fatty acids from the American bird grasshopper *Schistocerca americana*, elicitors of plant volatiles. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 32, p. 12976–12981, 7 ago. 2007.
- ALI, A. N.; WRIGHT, M. G. Response of *trichogramma papilionis* to semiochemicals induced by host oviposition on plants. **Biological Control**, v. 154, p. 104510, 2021.
- ALJBORY, Z.; CHEN, M.-S. Indirect plant defense against insect herbivores: a review. **Insect Science**, v. 25, n. 1, p. 2–23, 1 fev. 2018.
- ALLWOOD, J. W.; ELLIS, D. I.; GOODACRE, R. Metabolomic technologies and their application to the study of plants and plant-host interactions. **Physiologia Plantarum**,

v. 132, p. 117–135, 2008.

ALVES, A. P. C. et al. Toxicity of the phenolic extract from jaboticabeira (*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg) fruit skins on *Spodoptera frugiperda*. **Chilean journal of agricultural research**, v. 74, n. 2, p. 200–204, 2014.

ANANTHAKRISHNAN, T. N. et al. Antibiotic effects of resorcinol, gallic acid and phloroglucinol on *Heliothis armigera* Hubner (Insecta: Noctuidae). **Proceedings: Animal Sciences**, v. 99, n. 1, p. 39–52, 1990.

ANANTHAKRISHNAN, T. N. Gallic and salicylic acids: sentinels of plant defence against insects. **Current Science**, v. 73, n. 7, p. 576–579, 1997.

ANANTHAKRISHNAN, T. N.; GURUSUBRAMANIAN, G.; GOPICHANDRAN, R. Influence of chemical profiles of host plant on the infestation diversity of *Retithrips syriacus* (Mayet). **J. Biosci**, v. 7, p. 483–489, 1991.

ANASTASAKI, E. et al. Oviposition induced volatiles in tomato plants. **Phytochemistry Letters**, v. 13, p. 262–266, 21 set. 2015.

APPEL, H. M. et al. Transcriptional responses of *Arabidopsis thaliana* to chewing and sucking insect herbivores. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, n. November, p. 1–20, 2014.

ARANY, A. M. et al. Glucosinolates and other metabolites in the leaves of *Arabidopsis thaliana* from natural populations and their effects on a generalist and a specialist herbivore. **Chemoecology**, v. 18, n. 2, p. 65–71, 2008.

ARAÚJO, W. L.; NUNES-NESE, A.; FERNIE, A. R. Fumarate: Multiple functions of a simple metabolite. **Phytochemistry**, v. 72, n. 9, p. 838–843, 2011.

ARIMURA, G.-I.; OZAWA, R.; MAFFEI, M. E. Recent advances in plant early signaling in response to herbivory. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, n. 6, p. 3723–3739, 2011.

ARIMURA, G. et al. Herbivory-induced volatiles elicit defence genes in lima bean leaves. **Nature**, v. 406, n. 6795, p. 512–515, 2000.

ARNAULT, I. et al. Foliar application of microdoses of sucrose to reduce codling moth *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae) damage to apple trees. **Pest management science**, v. 72, n. 10, p. 1901–1909, 2016.

AYA, V. M. et al. *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) as a biological control agent of sugarcane stem borers in Colombia's Cauca River Valley. **Florida entomologist**, v. 100, n. 4, p. 826–830, 2017.

BALBYSHEV, N. F.; LORENZEN, J. H. Hypersensitivity and egg drop: a novel

- mechanism of host plant resistance to Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). **Journal of economic entomology**, v. 90, n. 2, p. 652–657, 1997.
- BALDIN, E. L. L.; BENEDUZZI, R. A. Characterization of antibiosis and antixenosis to the whitefly silverleaf Bemisia tabaci B biotype (Hemiptera: Aleyrodidae) in several squash varieties. **Journal of Pest Science**, v. 83, n. 3, p. 223–229, 2010.
- BALDWIN, I. T. Plant volatiles. **Current Biology**, v. 20, n. 9, p. R392–R397, 11 maio 2010.
- BALMER, A. et al. Tricarboxylates induce defense priming against bacteria in Arabidopsis thaliana. **Frontiers in plant science**, v. 9, p. 1221, 2018.
- BANOŽIĆ, M. et al. Volatile organic compounds of tobacco leaves versus waste (scrap, dust, and midrib): extraction and optimization. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 101, n. 5, p. 1822–1832, 2021.
- BANSAL, S. et al. Synergistic, additive and antagonistic impacts of drought and herbivory on Pinus sylvestris: leaf, tissue and whole-plant responses and recovery. **Tree physiology**, v. 33, n. 5, p. 451–463, 2013.
- BARBEHENN, R. V; CONSTABEL, C. P. Tannins in plant–herbivore interactions. **Phytochemistry**, v. 72, n. 13, p. 1551–1565, 2011.
- BARBOSA, R. H. et al. Tetrastichus howardi density and dispersal toward augmentation biological control of sugarcane borer. **Neotropical entomology**, v. 48, n. 2, p. 323–331, 2019.
- BARCELOS, L. M. et al. Resistance of saccharine sorghum cultivars to Sugarcane Borer Diatraea saccharalis. **Journal of Agricultural Science**, v. 10, n. 9, p. 364–372, 2018.
- BARRATT, B. I. P. et al. The status of biological control and recommendations for improving uptake for the future. **BioControl**, v. 63, n. 1, p. 155–167, 2018.
- BARRON-GAFFORD, G. A. et al. Herbivory of wild Manduca sexta causes fast down-regulation of photosynthetic efficiency in Datura wrightii: an early signaling cascade visualized by chlorophyll fluorescence. **Photosynthesis research**, v. 113, n. 1, p. 249–260, 2012.
- BELLOTA, E.; MEDINA, R. F.; BERNAL, J. S. Physical leaf defenses—altered by Z ea life-history evolution, domestication, and breeding—mediate oviposition preference of a specialist leafhopper. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 149, n. 2, p. 185–195, 2013.
- BENGTSSON, M. et al. Plant odor analysis of apple: Antennal response of codling

- moth females to apple volatiles during phenological development. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 8, p. 3736–3741, 2001.
- BENGTSSON, M. et al. Plant volatiles mediate attraction to host and non-host plant in apple fruit moth, *Argyresthia conjugella*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 118, n. 1, p. 77–85, 2006.
- BENNETT, R. N.; WALLSGROVE, R. M. Secondary metabolites in plant defence mechanisms. **New phytologist**, v. 127, n. 4, p. 617–633, 1994.
- BENTIVENHA, J. P. F. et al. Role of the rutin and genistein flavonoids in soybean resistance to *Piezodorus guildinii* (Hemiptera: Pentatomidae). **Arthropod-plant interactions**, v. 12, n. 2, p. 311–320, 2018.
- BERNAL, J. S.; SÉTAMOU, M. Fortuitous antixenosis in transgenic sugarcane: antibiosis-expressing cultivar is refractory to ovipositing herbivore pests. **Environmental entomology**, v. 32, n. 4, p. 886–894, 2003.
- BEZEMER, T. M.; VANDAM, N. Linking aboveground and belowground interactions via induced plant defenses. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 20, n. 11, p. 617–624, 1 nov. 2005.
- BHONWONG, A. et al. Defensive role of tomato polyphenol oxidases against cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*) and beet armyworm (*Spodoptera exigua*). **Journal of chemical ecology**, v. 35, n. 1, p. 28–38, 2009.
- BINDER, S. Branched-chain amino acid metabolism in *Arabidopsis thaliana*. **The Arabidopsis Book/American Society of Plant Biologists**, v. 8, 2010.
- BIRKETT, M. A. et al. Electrophysiological responses of the lepidopterous stemborers *Chilo partellus* and *Busseola fusca* to volatiles from wild and cultivated host plants. **Journal of Chemical Ecology**, v. 32, n. 11, p. 2475–2487, 2006.
- BITTNER, N.; TRAUER-KIZILELMA, U.; HILKER, M. Early plant defence against insect attack: involvement of reactive oxygen species in plant responses to insect egg deposition. **Planta**, v. 245, n. 5, p. 993–1007, 2017.
- BLOCK, A. K. et al. Biosynthesis and function of terpenoid defense compounds in maize (*Zea mays*). **Planta**, v. 249, n. 1, p. 21–30, 2019.
- BLUMENTHAL, F.; MEYER, P. Über durch *Acidum lacticum* erzeugte Tumoren auf Mohrrübenscheiben. **Zeitschrift für Krebsforschung**, v. 21, n. 3, p. 250–252, 1924.
- BODENHAUSEN, N.; REYMOND, P. Signaling pathways controlling induced resistance to insect herbivores in *Arabidopsis*. **Molecular plant-microbe interactions : MPMI**, v. 20, n. 11, p. 1406–20, 2007.

- BOLTON, M. D. Primary Metabolism and Plant Defense-Fuel for the Fire. / **487 MPMI**, v. 22, n. 5, p. 487–497, 2009a.
- BOLTON, M. D. Primary Metabolism and Plant Defense—Fuel for the Fire. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 22, n. 5, p. 487–497, 2009b.
- BONAVENTURE, G.; VANDOORN, A.; BALDWIN, I. T. Herbivore-associated elicitors: FAC signaling and metabolism. **Trends in plant science**, v. 16, n. 6, p. 294–299, 2011.
- BOUAGGA, S. et al. Zoophytophagous mirids provide pest control by inducing direct defences, antixenosis and attraction to parasitoids in sweet pepper plants. **Pest management science**, v. 74, n. 6, p. 1286–1296, 2018.
- BOUCHE, N.; FROMM, H. GABA in plants: just a metabolite? **Trends in plant science**, v. 9, n. 3, p. 110–115, 2004.
- BOUKEDI, H. et al. Isolation and characterization of a new *Bacillus thuringiensis* strain with a promising toxicity against Lepidopteran pests. **Microbiological research**, v. 186, p. 9–15, 2016.
- BOUKEDI, H. et al. Vegetative insecticidal protein of *Bacillus thuringiensis* BLB459 and its efficiency against Lepidoptera. **Toxicon**, v. 129, p. 89–94, 2017.
- BOUWMEESTER, H. et al. The role of volatiles in plant communication. **Plant Journal**, v. 100, n. 5, p. 892–907, 2019.
- BRAAM, J.; DAVIS, R. W. Rain-, wind-, and touch-induced expression of calmodulin and calmodulin-related genes in *Arabidopsis*. **Cell**, v. 60, n. 3, p. 357–364, fev. 1990.
- BRUCE, T. J. A.; PICKETT, J. A. Perception of plant volatile blends by herbivorous insects – Finding the right mix. **Phytochemistry**, v. 72, n. 13, p. 1605–1611, set. 2011.
- BUENO, N. M. et al. Characterization of antixenosis and antibiosis of corn genotypes to *Dichelops melacanthus* Dallas (Hemiptera: Pentatomidae). **Gesunde Pflanzen**, v. 73, n. 1, p. 67–76, 2021.
- CAMAROZANO, C. T. et al. Can *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner replaces *Trichogramma galloi* Zucchi for *Diatraea saccharalis* (Fabricius) control? **Scientia Agricola**, v. 79, 2021.
- CANASSA, V. F. et al. Characterization of antixenosis to *Dichelops melacanthus* (Hemiptera: Pentatomidae) in soybean genotypes. **International Journal of Pest Management**, v. 63, n. 2, p. 112–118, 2017.
- CANASSA, V. F. et al. Assessing the resistance of collard greens genotypes to the cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*)(Hemiptera: Aphididae). **Phytoparasitica**, p.

1–12, 2021.

CAO, H.-H. et al. Antibiosis and tolerance but not antixenosis to the grain aphid, *Sitobion avenae* (Hemiptera: Aphididae), are essential mechanisms of resistance in a wheat cultivar. **Bulletin of entomological research**, v. 105, n. 4, p. 448–455, 2015.

CARETTO, S. et al. Carbon fluxes between primary metabolism and phenolic pathway in plant tissues under stress. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 11, p. 26378–26394, 2015.

CARVALHO, A. T.; DÖTTERL, S.; SCHLINDWEIN, C. An aromatic volatile attracts oligolectic bee pollinators in an interdependent bee-plant relationship. **Journal of Chemical Ecology**, v. 40, n. 10, p. 1126–1134, 2014.

CELENZA, J. L. Metabolism of tyrosine and tryptophan—new genes for old pathways. **Current opinion in plant biology**, v. 4, n. 3, p. 234–240, 2001.

CHACÓN-FUENTES, M. et al. Plant flavonoid content modified by domestication. **Environmental Entomology**, v. 46, n. 5, p. 1080–1089, 2017.

CHEAVEGATTI-GIANOTTO, A. et al. 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.

CHEN, D. et al. Enhancement of jasmonate-mediated antiherbivore defense responses in tomato by acetic acid, a potent inducer for plant protection. **Frontiers in plant science**, v. 10, p. 764, 2019.

CHEN, X. et al. Metabolomic and transcriptomic analyses reveal that blue light promotes chlorogenic acid synthesis in strawberry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, n. 44, p. 12485–12492, 2020.

CHEN, Y. H. et al. Complex tritrophic interactions in response to crop domestication: predictions from the wild. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 157, n. 1, p. 40–59, 1 out. 2015.

CHEYNIER, V. et al. Plant phenolics: Recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 72, p. 1–20, nov. 2013.

CHIA, D. W. et al. Fumaric acid: an overlooked form of fixed carbon in *Arabidopsis* and other plant species. **Planta**, v. 211, n. 5, p. 743–751, 2000.

CHRIGUI, N. et al. Introgression of Resistance to Leafminer (*Liriomyza cicerina* Rondani) from *Cicer reticulatum* Ladiz. to *C. arietinum* L. and Relationships between Potential Biochemical Selection Criteria. **Agronomy**, v. 11, n. 1, p. 57, 2021.

CHRZANOWSKI, G.; LESZCZYŃSKI, B. Induced accumulation of phenolic acids in

- winter triticale (*Triticosecale* Wittm .) under insects feeding. **Kerva polonica**, v. 54, n. 3, p. 33–40, 2008.
- COHEN, S. P.; LEACH, J. E. Abiotic and biotic stresses induce a core transcriptome response in rice. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–11, 2019.
- COLAZZA, S. et al. Insect oviposition induces volatile emission in herbaceous plants that attracts egg parasitoids. **Journal of Experimental Biology**, v. 207, n. 1, p. 47–53, jan. 2004.
- COLL-ARÁOZ, M. V. et al. Modern Maize Hybrids Have Lost Volatile Bottom-Up and Top-Down Control of *Dalbulus maidis*, a Specialist Herbivore. **Journal of Chemical Ecology**, v. 46, n. 9, p. 906–915, 2020.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Conab - Safras**. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana> (2018)>. Acesso em: 28 fev. 2020.
- CONRATH, U. et al. Priming: Getting Ready for Battle. **Molecular Plant-Microbe Interactions®**, v. 19, n. 10, p. 1062–1071, out. 2006.
- COPPOLA, M. et al. Plant-to-plant communication triggered by systemin primes anti-herbivore resistance in tomato. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1–13, 2017.
- COUTINHO, I. D. et al. Metabolite profiling of sugarcane genotypes and identification of flavonoid glycosides and phenolic acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 21, p. 4198–4206, 2016.
- CURSI, D. E. et al. History and current status of sugarcane breeding, germplasm development and molecular genetics in Brazil. **Sugar Tech**, p. 1–22, 2021.
- DA COSTA, J. G. et al. Differential preference of *Capsicum* spp. cultivars by *Aphis gossypii* is conferred by variation in volatile semiochemistry. **Euphytica**, v. 177, n. 3, p. 299–307, 2011.
- DA SILVA, D. S. et al. Short and long-term antinutritional effect of the trypsin inhibitor ApTI for biological control of sugarcane borer. **Journal of insect physiology**, v. 61, p. 1–7, 2014.
- DA SILVA, P. R. et al. Assessing the resistance of passion fruit genotypes as control method to *Tetranychus mexicanus*. **Crop Protection**, v. 128, p. 104990, 2020.
- DAQUILA, B. V. et al. Action of *Bacillus thuringiensis* (Bacillales: Bacillaceae) in the midgut of the sugarcane borer *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794)(Lepidoptera: Crambidae). **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 184, p. 109642, 2019.
- DAQUILA, B. V et al. Bioactivity of *Bacillus thuringiensis* (Bacillales: Bacillaceae) on

- Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) eggs. **Pest Management Science**, v. 77, n. 4, p. 2019–2028, 2021.
- DAS, A. et al. Plant volatiles as method of communication. **Plant Biotechnology Reports**, v. 7, n. 1, p. 9–26, 2013.
- DE BACKER, L. et al. Tuta absoluta-induced plant volatiles: attractiveness towards the generalist predator *Macrolophus pygmaeus*. **Arthropod-Plant Interactions**, v. 9, n. 5, p. 465–476, 2015.
- DE CASTRO, A. A. et al. Antibiosis of tomato, *Solanum lycopersicum* (Solanaceae) plants to the Asopinae predator *Supputius cincticeps* (Heteroptera: Pentatomidae). **Invertebrate Survival Journal**, v. 12, n. 1, p. 179–187, 2015.
- DE MATOS, M.; SANTOS, F.; EICHLER, P. **Sugarcane world scenario**. [s.l.] Elsevier Inc., 2020.
- DE MELLO, U. S. et al. An overview of the transcriptional responses of two tolerant and susceptible sugarcane cultivars to borer (*Diatraea saccharalis*) infestation. **Functional & Integrative Genomics**, v. 20, n. 6, p. 839–855, 17 nov. 2020.
- DE MORAES, C. M.; MESCHER, M. C.; TUMLINSON, J. H. Caterpillar-induced nocturnal plant volatiles repel conspecific females. **Nature**, v. 410, n. 6828, p. 577–580, 2001.
- DE MORAES, R. F. O. et al. Resistance of maize conventional cultivars to the fall armyworm. **Revista Agrarian**, v. 11, n. 39, p. 22–31, 2018.
- DE O. BORGES, E. et al. Terpenoids dominate the bouquet of volatile organic compounds produced by *Passiflora edulis* in response to herbivory by *Heliconius erato phyllis* (Lepidoptera: Nymphalidae). **Arthropod-Plant Interactions**, v. 12, n. 1, p. 123–131, 1 fev. 2018.
- DE OLIVEIRA, J. R. F. et al. Trichomes and allelochemicals in tomato genotypes have antagonistic effects upon behavior and biology of *Tetranychus urticae*. **Frontiers in plant science**, v. 9, p. 1132, 2018.
- DE S. ROSSATO, J. A. et al. Characterization and Impact of the Sugarcane Borer on Sugarcane Yield and Quality. **Agronomy Journal**, v. 105, n. 3, p. 643, 2013.
- DE S. ROSSATO JR, J. A. et al. Characterization and Impact of the Sugarcane Borer on Sugarcane Yield and Quality. **Agronomy Journal**, v. 105, n. 3, p. 643–648, 1 maio 2013.
- DE SOUZA, J. R. et al. Genetic divergence of sugar cane cultivars for resistance to *Diatraea saccharalis*. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6Supl1, p. 3367–3376,

2013a.

DE SOUZA, J. R. et al. Divergência genética de cultivares de cana-de-açúcar quanto à resistência a *Diatraea saccharalis*. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6 SUPPL. 1, p. 3367–3376, 2013b.

DEGEN, T. et al. High Genetic Variability of Herbivore-Induced Volatile Emission within a Broad Range of Maize Inbred Lines 1. 2004.

DEGEN, T. et al. Differential Performance and Parasitism of Caterpillars on Maize Inbred Lines with Distinctly Different Herbivore-Induced Volatile Emissions. **PLoS ONE**, v. 7, n. 10, 2012.

DEGENHARDT, D. C. et al. Systemin and jasmonic acid regulate constitutive and herbivore-induced systemic volatile emissions in tomato, *Solanum lycopersicum*. **Phytochemistry**, v. 71, n. 17–18, p. 2024–2037, 2010.

DENHAM, T. et al. The domestication syndrome in vegetatively propagated field crops. **Annals of botany**, v. 125, n. 4, p. 581–597, 2020.

DICKE, M.; BALDWIN, I. T. The evolutionary context for herbivore-induced plant volatiles: beyond the ‘cry for help’. **Trends in Plant Science**, v. 15, n. 3, p. 167–175, mar. 2010.

DINARDO-MIRANDA, L. L. et al. Resistance of sugarcane cultivars to *Diatraea saccharalis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 1, p. 1–7, jan. 2012a.

DINARDO-MIRANDA, L. L. et al. Resistance of sugarcane cultivars to *Diatraea saccharalis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 1, p. 1–7, jan. 2012b.

DINARDO-MIRANDA, L. L. et al. Reação de cultivares de cana-de-açúcar à broca do colmo. **Bragantia**, v. 72, p. 29–34, 2013.

DINARDO-MIRANDA, L. L. et al. Dispersal of *Cotesia flavipes* in sugarcane field and implications for parasitoid releases. **Bragantia**, v. 73, n. 2, p. 163–170, 2014.

DINARDO-MIRANDA, L. L.; FRACASSO, J. V. **Sugarcane straw and the populations of pests and nematodes** *Scientia Agricola* *Scientia Agricola*, , set. 2013.

DINARDO-MIRANDA, L. L.; FRACASSO, J. V.; PERECIN, D. Variabilidade espacial de populações de *diatraea saccharalis* em canaviais e sugestão de método de amostragem. **Bragantia**, v. 70, n. 3, p. 577–585, 2011.

DOMINGOS, G. M. et al. Resistance of collard green genotypes to *Bemisia tabaci* biotype B: Characterization of antixenosis. **Neotropical entomology**, v. 47, n. 4, p. 560–568, 2018.

- DUDAREVA, N. et al. Plant Volatiles: Recent Advances and Future Perspectives. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 25, n. 5, p. 417–440, 1 out. 2006a.
- DUDAREVA, N. et al. Plant Volatiles: Recent Advances and Future Perspectives. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 25, n. 5, p. 417–440, 1 out. 2006b.
- DUDAREVA, N. et al. Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. **New Phytologist**, v. 198, n. 1, p. 16–32, 1 abr. 2013.
- ENGELBERTH, J. et al. Airborne signals prime plants against insect herbivore attack. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 101, n. 6, p. 1781–1785, 2004.
- ERB, M. et al. **Interactions between arthropod-induced aboveground and belowground defenses in plants** *Plant Physiology* American Society of Plant Biologists, , 1 mar. 2008.
- ERB, M. Plant Defenses against Herbivory: Closing the Fitness Gap. **Trends in Plant Science**, v. 23, n. 3, p. 187–194, 2018.
- ERRARD, A. et al. Metabolite profiling reveals a specific response in tomato to predaceous *Chrysoperla carnea* larvae and herbivore (S)-predator interactions with the generalist pests *Tetranychus urticae* and *Myzus persicae*. **Frontiers in plant science**, v. 7, p. 1256, 2016.
- EVANS, A.; STREZOV, V.; EVANS, T. J. **Sustainability considerations for electricity generation from biomass** *Renewable and Sustainable Energy Reviews* Pergamon, , 1 jun. 2010.
- FAGARD, M. et al. Nitrogen metabolism meets phytopathology. **Journal of experimental botany**, v. 65, n. 19, p. 5643–5656, 2014.
- FANG, C.; FERNIE, A. R.; LUO, J. Exploring the Diversity of Plant Metabolism. **Trends in Plant Science**, v. 24, n. 1, p. 83–98, 2019.
- FARIAS, J. R. et al. Managing the sugarcane borer, *Diatraea saccharalis*, and corn earworm, *Helicoverpa zea*, using Bt corn and insecticide treatments. **Journal of Insect Science**, v. 13, n. 1, 2013.
- FARRAR, J.; POLLOCK, C.; GALLAGHER, J. Sucrose and the integration of metabolism in vascular plants. **Plant Science**, v. 154, n. 1, p. 1–11, 2000.
- FARTEK, B. et al. Resistance to *Meunaphis sacchari* in the sugarcane cultivar R 365. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 144, n. 3, p. 270–278, 2012.
- FERNANDEZ, A. R. et al. Intentional and unintentional selection during plant domestication: herbivore damage, plant defensive traits and nutritional quality of fruit

and seed crops. **New Phytologist**, 2021.

FERNANDEZ, O. et al. Fortune telling: metabolic markers of plant performance. **Metabolomics**, v. 12, n. 10, p. 1–14, 2016.

FERREIRA, C. A. DA S. et al. Yield and technological quality of sugarcane cultivars under infestation of *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 85, 2 ago. 2018.

FONTES-PUEBLA, A. A.; BERNAL, J. S. Resistance and Tolerance to Root Herbivory in Maize Were Mediated by Domestication, Spread, and Breeding. **Frontiers in plant science**, v. 11, p. 223, 2020.

FRANCISCHINI, F. J. B. et al. *Diatraea saccharalis* history of colonization in the Americas. The case for human-mediated dispersal. **PLoS one**, v. 14, n. 7, p. e0220031, 2019.

FREEMAN, B. C.; BEATTIE, G. A. An overview of plant defenses against pathogens and herbivores. **The Plant Health Instructor**, 2008.

FÜRSTENBERG-HÄGG, J.; ZAGROBELNY, M.; BAK, S. Plant defense against insect herbivores. **International journal of molecular sciences**, v. 14, n. 5, p. 10242–10297, 2013a.

FÜRSTENBERG-HÄGG, J.; ZAGROBELNY, M.; BAK, S. Plant Defense against Insect Herbivores. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 5, p. 10242–10297, 16 maio 2013b.

GAILLARD, M. D. P. et al. Fine-tuning the ‘plant domestication-reduced defense’ hypothesis: specialist vs generalist herbivores. **New Phytologist**, v. 217, n. 1, p. 355–366, 2018.

GALILI, G. et al. The role of photosynthesis and amino acid metabolism in the energy status during seed development. **Frontiers in plant science**, v. 5, p. 447, 2014.

GALLO, D. et al. **Manual de entomologia agrícola**. [s.l: s.n.].

GEREMIAS, L. D.; PARRA, J. R. P. Dispersal of *Trichogramma galloi* in corn for the control of *Diatraea saccharalis*. **Biocontrol Science and Technology**, v. 24, n. 7, p. 751–762, 2014.

GILBERT, L. E. Ecological consequences of a coevolved mutualism between butterflies and plants. **Coevolution of animals and plants**, p. 210–240, 1975.

GIORDANENGO, P. et al. Compatible plant-aphid interactions: how aphids manipulate plant responses. **Comptes rendus biologiques**, v. 333, n. 6–7, p. 516–523, 2010.

GOLDENBERG, L. et al. Diversity among mandarin varieties and natural sub-groups

- in aroma volatiles compositions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 1, p. 57–65, 2016.
- GOLLA, S. K. et al. Antixenosis and antibiosis mechanisms of resistance to pod borer, *Helicoverpa armigera* in wild relatives of chickpea, *Cicer arietinum*. **Euphytica**, v. 214, n. 5, p. 1–16, 2018.
- GOLS, R. et al. Smelling the wood from the trees: non-linear parasitoid responses to volatile attractants produced by wild and cultivated cabbage. **Journal of Chemical Ecology**, v. 37, n. 8, p. 795–807, 2011.
- GOLS, R. Direct and indirect chemical defences against insects in a multitrophic framework. **Plant, Cell & Environment**, v. 37, n. 8, p. 1741–1752, 2014.
- GÓMEZ, S. et al. Methyl jasmonate elicits rapid changes in carbon and nitrogen dynamics in tomato. **New Phytologist**, v. 188, n. 3, p. 835–844, 2010.
- GONG, B.; ZHANG, G. Interactions between plants and herbivores: a review of plant defense. **Acta Ecologica Sinica**, v. 34, n. 6, p. 325–336, 2014.
- GONZÁLEZ-COLOMA, A. et al. Triterpene-based plant defenses. **Phytochemistry Reviews**, v. 10, n. 2, p. 245–260, 2011.
- GOSSET, V. et al. Attacks by a piercing-sucking insect (*Myzus persicae* Sultzer) or a chewing insect (*Leptinotarsa decemlineata* Say) on potato plants (*Solanum tuberosum* L.) induce differential changes in volatile compound release and oxylipin synthesis. **Journal of experimental botany**, v. 60, n. 4, p. 1231–1240, 2009.
- GRANATO, D. et al. Use of principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA) for multivariate association between bioactive compounds and functional properties in foods: A critical perspective. **Trends in Food Science & Technology**, v. 72, p. 83–90, 2018.
- GRIMI, D. A. et al. Field-evolved resistance to Bt maize in sugarcane borer (*Diatraea saccharalis*) in Argentina. **Pest management science**, v. 74, n. 4, p. 905–913, 2018.
- GUPTA, P.; DE, B. Metabolomics analysis of rice responses to salinity stress revealed elevation of serotonin, and gentisic acid levels in leaves of tolerant varieties. **Plant signaling & behavior**, v. 12, n. 7, p. e1335845, 2017.
- HAAG, J. J. et al. Antagonistic Interactions between Competition and Insect Herbivory on Plant Growth Published by: British Ecological Society Linked references are available on JSTOR for this article: Antagonistic interactions between competition and insect herbivory on . v. 92, n. 1, p. 156–167, 2004.
- HAFEEZ, A. et al. Evaluation of biochemical defense response to *Spodoptera litura*

infestation in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) genotypes. 2020.

HAGENBUCHER, S. et al. Constitutive and induced insect resistance in RNAi-mediated ultra-low gossypol cottonseed cotton. **BMC plant biology**, v. 19, n. 1, p. 322, 2019.

HAIDER, I. et al. Assessment of antixenosis and antibiosis levels in rice genotypes against *Sogatella furcifera* (Hemiptera: Delphacidae). **Revista de la Sociedad Entomológica Argentina**, v. 80, n. 2, 2021.

HALITSCHKE, R.; HAMILTON, J. G.; KESSLER, A. Herbivore-specific elicitation of photosynthesis by mirid bug salivary secretions in the wild tobacco *nicotiana attenuata*. **New Phytologist**, v. 191, n. 2, p. 528–535, 2011.

HAMMER, Ø.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. **Palaeontologia electronica**, v. 4, n. 1, p. 9, 2001.

HANLEY, M. E. et al. Plant structural traits and their role in anti-herbivore defence. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v. 8, n. 4, p. 157–178, 2007.

HANN, C. T. et al. Methanol and ethanol modulate responses to danger- and microbe-associated molecular patterns. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, n. October, p. 1–15, 2014.

HAO, L. A. N. et al. Performance and transcriptomic response of the English grain aphid, *Sitobion avenae*, feeding on resistant and susceptible wheat cultivars. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 20, n. 1, p. 178–190, 2021.

HEIL, M. et al. Extraction and quantification of "condensed tannins" as a measure of plant anti-herbivore defence? Revisiting an old problem. **Naturwissenschaften**, v. 89, n. 11, p. 519–524, 2002.

HENDRAWATI, O. et al. Metabolic differentiation of *Arabidopsis* treated with methyl jasmonate using nuclear magnetic resonance spectroscopy. **Plant Science**, v. 170, n. 6, p. 1118–1124, 2006.

HERBERS, K. et al. Salicylic acid-independent induction of pathogenesis-related protein transcripts by sugars is dependent on leaf developmental stage. **Febs Letters**, v. 397, n. 2–3, p. 239–244, 1996.

HEREBIAN, D. et al. Metabolite analysis in *Curcuma domestica* using various GC-MS and LC-MS separation and detection techniques. **Biomedical Chromatography**, v. 23, n. 9, p. 951–965, 2009.

- HERMS, D. A.; MATTSON, W. J. The dilemma of plants: to grow or defend. **The quarterly review of biology**, v. 67, n. 3, p. 283–335, 1992.
- HERNANDEZ-CUMPLIDO, J. et al. Testing the ‘plant domestication-reduced defense’ hypothesis in blueberries: the role of herbivore identity. **Arthropod-Plant Interactions**, v. 12, n. 4, p. 483–493, 2018.
- HILKER, M. et al. Priming and memory of stress responses in organisms lacking a nervous system. **Biological Reviews**, v. 91, n. 4, p. 1118–1133, 1 nov. 2016.
- HILKER, M.; SCHMÜLLING, T. **Stress priming, memory, and signalling in plants**Wiley Online Library, , 2019.
- HOLTZ, A. M. et al. Antibiosis of Eucalyptus plants on *Podisus nigrispinus*. **Phytoparasitica**, v. 38, n. 2, p. 133–139, 2010.
- HONG, J. et al. Plant metabolomics: an indispensable system biology tool for plant science. **International journal of molecular sciences**, v. 17, n. 6, p. 767, 2016.
- HUANG, X. et al. Identification and characterization of (E)- β -caryophyllene synthase and α/β -pinene synthase potentially involved in constitutive and herbivore-induced terpene formation in cotton. **Plant physiology and Biochemistry**, v. 73, p. 302–308, 2013.
- IGAMBERDIEV, A. U.; EPRINTSEV, A. T. **Organic acids: The pools of fixed carbon involved in redox regulation and energy balance in higher plants**Frontiers in Plant ScienceFrontiers Research Foundation, , 15 jul. 2016. Disponível em: <www.frontiersin.org>. Acesso em: 15 jul. 2020
- IRMISCH, S. et al. Herbivore-induced poplar cytochrome P450 enzymes of the CYP 71 family convert aldoximes to nitriles which repel a generalist caterpillar. **The Plant Journal**, v. 80, n. 6, p. 1095–1107, 2014.
- JACOB, V.; TIBÈRE, R.; NIBOUCHE, S. Few sensory cues differentiate host and dead-end trap plant for the sugarcane spotted borer *Chilo sacchariphagus* (Lepidoptera: Crambidae). **Journal of Chemical Ecology**, v. 47, n. 2, p. 153–166, 2021.
- JAIN, S. S. E V. **Fixação biológica de nitrogênio com não leguminosas: um alvo viável ou um dogma?**Ciência atualCurrent Science Association, , [s.d.]. Disponível em: <<https://www.jstor.org/stable/24096726>>. Acesso em: 29 maio. 2019
- JARDIM-MESSEDER, D. et al. Succinate dehydrogenase (mitochondrial complex II) is a source of reactive oxygen species in plants and regulates development and stress responses. **New Phytologist**, v. 208, n. 3, p. 776–789, 2015.

- JÚNIOR, A. L. B. et al. Resistance of *Phaseolus vulgaris* genotypes to *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae): categories and mechanisms. **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 41, n. 2, p. 1611–1621, 2021.
- KALE, M. V. GC-MS analysis of phytochemicals on whole plant extracts *Adiantum capillus-veneris* L.-a potential folklore medicinal plant. **Res J Life Sci Bioinform Pharmaceu Chem Sci**, v. 2, p. 117, 2015.
- KARBAN, R. The ecology and evolution of induced resistance against herbivores. **Functional Ecology**, v. 25, n. 2, p. 339–347, 1 abr. 2011.
- KARBAN, R.; BALDWIN, I. T. **Induced responses to herbivory**. [s.l.] University of Chicago Press, 1997.
- KAUR, A. et al. Defense system in chickpea genotypes differing in tolerance to *Helicoverpa armigera* infestation. **Indian Journal of Plant Physiology**, v. 22, n. 3, p. 324–331, 2017.
- KERCHEV, P. I. et al. Plant responses to insect herbivory: interactions between photosynthesis, reactive oxygen species and hormonal signalling pathways. **Plant, cell & environment**, v. 35, n. 2, p. 441–453, 2012.
- KESSLER, A. The information landscape of plant constitutive and induced secondary metabolite production. **Current Opinion in Insect Science**, v. 8, p. 47–53, 2015.
- KESSLER, A.; BALDWIN, I. T. Plant responses to insect herbivory: The emerging molecular analysis. **Annual Review of Plant Biology**, v. 53, n. 1, p. 299–328, jun. 2002.
- KESSLER, A.; KALSKE, A. Plant secondary metabolite diversity and species interactions. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 49, p. 115–138, 2018.
- KIEP, V. et al. Systemic cytosolic Ca²⁺ elevation is activated upon wounding and herbivory in *Arabidopsis*. **New Phytologist**, v. 207, n. 4, p. 996–1004, 2015.
- KILLINY, N.; HIJAZ, F. Amino acids implicated in plant defense are higher in *Candidatus Liberibacter asiaticus*-tolerant citrus varieties. **Plant Signaling and Behavior**, v. 11, n. 4, p. 1–10, 2016.
- KIM, H. K.; CHOI, Y. H.; VERPOORTE, R. NMR-based metabolomic analysis of plants. 2010.
- KIM, H. K.; VERPOORTE, R. Sample preparation for plant metabolomics. **Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques**, v. 21, n. 1, p. 4–13, 2010.

- KIM, J.; FELTON, G. W. Priming of antiherbivore defensive responses in plants. **Insect Science**, v. 20, n. 3, p. 273–285, 1 jun. 2013.
- KIM, S.-G. et al. Tissue specific diurnal rhythms of metabolites and their regulation during herbivore attack in a native tobacco, *Nicotiana attenuata*. **PLoS one**, v. 6, n. 10, p. e26214, 2011.
- KINNERSLEY, A. M. et al. Promotion of plant growth by polymers of lactic acid. **Plant Growth Regulation**, v. 9, n. 2, p. 137–146, 1990.
- KLIEBENSTEIN, D. J. Quantitative genetics and genomics of plant resistance to insects. **Annual Plant Reviews online**, p. 235–262, 2018.
- KNUDSEN, G. K.; NORLI, H. R.; TASIN, M. The ratio between field attractive and background volatiles encodes host-plant recognition in a specialist moth. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 2206, 2017.
- KOCH, K. Sucrose metabolism: regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development. **Current opinion in plant biology**, v. 7, n. 3, p. 235–246, 2004.
- KÖLLNER, T. G. et al. A maize (E)- β -caryophyllene synthase implicated in indirect defense responses against herbivores is not expressed in most American maize varieties. **Plant Cell**, v. 20, n. 2, p. 482–494, fev. 2008.
- KORTBEEK, R. W. J.; VAN DER GRAGT, M.; BLEEKER, P. M. Endogenous plant metabolites against insects. **European Journal of Plant Pathology**, v. 154, n. 1, p. 67–90, 14 maio 2019.
- KRAPP, A. Plant nitrogen assimilation and its regulation: A complex puzzle with missing pieces. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 25, p. 115–122, 2015.
- KUMUDINI, B. S. et al. Primary plant metabolism during plant–pathogen interactions and its role in defense. **Plant Metabolites and Regulation Under Environmental Stress**, p. 215–229, 2018.
- KUNDU, A.; VADASSERY, J. Chlorogenic acid-mediated chemical defence of plants against insect herbivores. **Plant Biology**, v. 21, n. 2, p. 185–189, 2019.
- KUTYNIOK, M.; MÜLLER, C. Crosstalk between above-and belowground herbivores is mediated by minute metabolic responses of the host *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 17, p. 6199–6210, 2012.
- LAL, M. A. Metabolism of Storage Carbohydrates. In: **Plant Physiology, Development and Metabolism**. [s.l.] Springer, 2018. p. 339–377.
- LATTANZIO, V.; LATTANZIO, V. M. T.; CARDINALI, A. Role of phenolics in the

- resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. **Phytochemistry: Advances in research**, v. 661, n. 2, p. 23–67, 2006.
- LAVANYA, N. S.; AMRUTHESH, N. K. Glycine betaine mediated disease resistance against *Sclerospora graminicola* in Pearl Millet. **Journal of Applied Biology & Biotechnology**, v. 5, n. 3, p. 45–51, 2017.
- LAWO, N. C. et al. The volatile metabolome of grapevine roots: First insights into the metabolic response upon phylloxera attack. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 49, n. 9, p. 1059–1063, 2011.
- LE ROUX, V. et al. Wild *Solanum* resistance to aphids: antixenosis or antibiosis? **Journal of Economic Entomology**, v. 101, n. 2, p. 584–591, 2014.
- LEHNDAL, L.; ÅGREN, J. Herbivory differentially affects plant fitness in three populations of the perennial Herb *Lythrum salicaria* along a Latitudinal gradient. **PLoS ONE**, v. 10, n. 9, p. 1–13, 2015.
- LEISS, K. A. et al. Identification of chlorogenic acid as a resistance factor for thrips in chrysanthemum. **Plant Physiology**, v. 150, n. 3, p. 1567–1575, 2009.
- LEPPIK, E.; TAMMARU, T.; FRÉROT, B. A view of diel variation of maize odorscape. **American Journal of Plant Sciences**, v. 2014, 2014.
- LI, C. et al. Dopamine alleviates salt-induced stress in *Malus hupehensis*. **Physiologia plantarum**, v. 153, n. 4, p. 584–602, 2015.
- LI, F. et al. Responses of tree and insect herbivores to elevated nitrogen inputs: A meta-analysis. **Acta Oecologica**, v. 77, p. 160–167, 2016.
- LI, H. et al. Reducing plant abiotic and biotic stress: Drought and attacks of greenbugs, corn leaf aphids and virus disease in dryland sorghum. **Environmental and Experimental Botany**, v. 63, n. 1–3, p. 305–316, 2008.
- LI, L. et al. Alteration of local and systemic amino acids metabolism for the inducible defense in tea plant (*Camellia sinensis*) in response to leaf herbivory by *Ectropis oblique*. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 683, p. 108301, 2020.
- LI, X. et al. Domestication of tomato has reduced the attraction of herbivore natural enemies to pest-damaged plants. **Agricultural and Forest Entomology**, v. 20, n. 3, p. 390–401, 2018.
- LI, Z. et al. Metabolic pathways regulated by abscisic acid, salicylic acid and γ -aminobutyric acid in association with improved drought tolerance in creeping bentgrass (*Agrostis stolonifera*). **Physiologia Plantarum**, v. 159, n. 1, p. 42–58, 2017.
- LIANG, Y.-S. et al. Metabolomic analysis of methyl jasmonate treated *Brassica rapa*

- leaves by 2-dimensional NMR spectroscopy. **Phytochemistry**, v. 67, n. 22, p. 2503–2511, 2006.
- LIU, J. et al. Silicon Supplementation Alters the Composition of Herbivore Induced Plant Volatiles and Enhances Attraction of Parasitoids to Infested Rice Plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1265, 19 jul. 2017.
- LOJKOVA, L. et al. Enantiomers of carbohydrates and their role in ecosystem interactions: A review. **Symmetry**, v. 12, n. 3, p. 470, 2020.
- LOKVAM, J. et al. Allelochemic function for a primary metabolite: the case of L-tyrosine hyper-production in *Inga umbellifera* (Fabaceae). **American Journal of Botany**, v. 93, n. 8, p. 1109–1115, 2006.
- LORETO, F.; SCHNITZLER, J.-P. Abiotic stresses and induced BVOCs. **Trends in plant science**, v. 15, n. 3, p. 154–166, 2010.
- LOUIS, J. et al. Antibiosis against the green peach aphid requires the *Arabidopsis thaliana* MYZUS PERSICAE-INDUCED LIPASE1 gene. **The Plant Journal**, v. 64, n. 5, p. 800–811, 2010.
- LOUIS, J. et al. Ethylene contributes to maize insect resistance1-mediated maize defense against the phloem sap-sucking corn leaf aphid. **Plant physiology**, v. 169, n. 1, p. 313–324, 2015.
- LUNA-RUIZ, J. DE J.; NABHAN, G. P.; AGUILAR-MELÉNDEZ, A. Shifts in plant chemical defenses of chile pepper (*Capsicum annum* L.) due to domestication in Mesoamerica. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 6, p. 48, 2018.
- MACEDO, C. L. DE et al. Seleção e caracterização de estirpes de *Bacillus thuringiensis* eficientes contra a *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 12, p. 1759–1765, 2012.
- MACEDO, N. et al. Management of pests and nematodes. In: **Sugarcane**. [s.l.] Elsevier, 2015. p. 89–113.
- MACHADO, R. A. R. et al. Leaf-herbivore attack reduces carbon reserves and regrowth from the roots via jasmonate and auxin signaling. **New phytologist**, v. 200, n. 4, p. 1234–1246, 2013.
- MAEDA, H.; DUDAREVA, N. The shikimate pathway and aromatic amino acid biosynthesis in plants. **Annual review of plant biology**, v. 63, p. 73–105, 2012.
- MAFFEI, M. E. Sites of synthesis, biochemistry and functional role of plant volatiles. **South African Journal of Botany**, v. 76, n. 4, p. 612–631, 2010.
- MAFFEI, M. E.; ARIMURA, G.-I.; MITHÖFER, A. Natural elicitors, effectors and

modulators of plant responses. **Natural product reports**, v. 29, n. 11, p. 1288–1303, 2012.

MAFFEI, M. E.; GERTSCH, J.; APPENDINO, G. Plant volatiles: production, function and pharmacology. **Natural product reports**, v. 28, n. 8, p. 1359–1380, 2011.

MAFFEI, M. E.; MITHÖFER, A.; BOLAND, W. Before gene expression: early events in plant–insect interaction. **Trends in plant science**, v. 12, n. 7, p. 310–316, 2007.

MALLIKARJUNA, N. et al. Influence of foliar chemical compounds on the development of *Spodoptera litura* (Fab.) in interspecific derivatives of groundnut. **Journal of Applied Entomology**, v. 128, n. 5, p. 321–328, 2004.

MARTI, G. et al. Metabolomics reveals herbivore-induced metabolites of resistance and susceptibility in maize leaves and roots. **Plant, Cell & Environment**, v. 36, n. 3, p. 621–639, 2013.

MATSUOKA, S. et al. Energy cane: its concept, development, characteristics, and prospects. **Advances in Botany**, v. 2014, 2014.

MCCORMICK, A. C.; UNSICKER, S. B.; GERSHENZON, J. The specificity of herbivore-induced plant volatiles in attracting herbivore enemies. **Trends in plant science**, v. 17, n. 5, p. 303–310, 2012.

MCNEIL, S. D. et al. Enhanced synthesis of choline and glycine betaine in transgenic tobacco plants that overexpress phosphoethanolamine N-methyltransferase. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 98, n. 17, p. 10001–10005, 2001.

MEYER, R. S.; DUVAL, A. E.; JENSEN, H. R. Patterns and processes in crop domestication: an historical review and quantitative analysis of 203 global food crops. **New Phytologist**, v. 196, n. 1, p. 29–48, 2012.

MITHÖFER, A.; BOLAND, W. Plant Defense Against Herbivores: Chemical Aspects. **Annual Review of Plant Biology**, v. 63, n. 1, p. 431–450, 2 jun. 2012.

MOLNÁR, B. P. et al. Electrophysiologically-active maize volatiles attract gravid female European corn borer, *Ostrinia nubilalis*. **Journal of chemical ecology**, v. 41, n. 11, p. 997–1005, 2015.

MOLNÁR, S. et al. A two-agent model applied to the biological control of the sugarcane borer (*Diatraea saccharalis*) by the egg parasitoid *Trichogramma galloi* and the larvae parasitoid *Cotesia flavipes*. **Biosystems**, v. 141, p. 45–54, 2016.

MOORE, P. Temporal and Spatial Regulation of Sucrose Accumulation in the Sugarcane Stem. **Functional Plant Biology**, v. 22, n. 4, p. 661, 2006.

- MOORE, P. H.; PATERSON, A. H.; TEW, T. Sugarcane: The Crop, the Plant, and Domestication. **Sugarcane: Physiology, Biochemistry, and Functional Biology**, p. 1–17, 2013.
- MOREIRA, X. et al. Plant domestication decreases both constitutive and induced chemical defences by direct selection against defensive traits. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–11, 2018.
- MOTTAGHINIA, L. et al. Antibiosis and antixenosis of six commonly produced potato cultivars to the green peach aphid, *Myzus persicae* Sulzer (Hemiptera: Aphididae). **Neotropical entomology**, v. 40, n. 3, p. 380–386, 2011.
- MUDGE, E. M.; MURCH, S. J.; BROWN, P. N. Chemometric analysis of cannabinoids: chemotaxonomy and domestication syndrome. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 1–9, 2018.
- MUHLEMANN, J. K.; KLEMPIEN, A.; DUDAREVA, N. Floral volatiles: from biosynthesis to function. **Plant, cell & environment**, v. 37, n. 8, p. 1936–1949, 2014.
- MURALI-BASKARAN, R. K. et al. Role of kairomone in biological control of crop pests- A review. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 101, p. 3–15, 2018.
- NACZK, M.; SHAHIDI, F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 41, n. 5, p. 1523–42, 28 ago. 2006.
- NADEEM, S.; HAMED, M. Biological control of sugarcane borers with inundative releases of *Trichogramma chilonis* (Ishii)(Hymenoptera: Trichogrammatidae) in farmer fields. **Pakistan J. Agric. Sci**, v. 48, n. 1, p. 71–74, 2011.
- NAIKOO, M. I. et al. Role and regulation of plants phenolics in abiotic stress tolerance: An overview. **Plant Signaling Molecules: Role and Regulation under Stressful Environments**, p. 157–168, 2019.
- NASELLI, M. et al. Olfactory response of the zoophytophagous mirid *Nesidiocoris tenuis* to tomato and alternative host plants. **Arthropod-Plant Interactions**, v. 11, n. 2, p. 121–131, 2017.
- NAVARRO, D.; FOXCROFT, D. Learning statistics with jamovi: A tutorial for psychology students and other beginners (Version 0.70). **Tillgänglig online: <http://learnstatswithjamovi.com> [Hämtad 14 december]**, 2019.
- NIBOUCHE, S.; TIBERE, R. Mechanism of resistance to the spotted stalk borer, *Chilo sacchariphagus*, in the sugarcane cultivar R570. **Entomologia experimentalis et applicata**, v. 135, n. 3, p. 308–314, 2010.

- NINKOVIC, V.; MARKOVIC, D.; RENSING, M. Plant volatiles as cues and signals in plant communication. **Plant, Cell & Environment**, v. 44, n. 4, p. 1030–1043, 2021.
- NYKÄNEN, H.; KORICHEVA, J. Damage-induced changes in woody plants and their effects on insect herbivore performance: A meta-analysis. **Oikos**, v. 104, n. 2, p. 247–268, 2004.
- OERKE, E.-C. Crop losses to pests. **The Journal of Agricultural Science**, v. 144, n. 1, p. 31–43, 2006.
- OERKE, E.-C.; DEHNE, H.-W. Safeguarding production—losses in major crops and the role of crop protection. **Crop Protection**, v. 23, n. 4, p. 275–285, abr. 2004.
- OHASHI, T.; OHTA, S.; ÔMURA, H. The Role of N, N, N-Trimethylglycine in Oviposition of *Eurema mandarina* on *Albizia julibrissin*. **Journal of chemical ecology**, v. 45, n. 4, p. 371–377, 2019.
- OLIVEIRA, C. M. et al. Crop losses and the economic impact of insect pests on Brazilian agriculture. **Crop Protection**, v. 56, p. 50–54, 1 fev. 2014a.
- OLIVEIRA, C. M. et al. Crop losses and the economic impact of insect pests on Brazilian agriculture. **Crop Protection**, v. 56, p. 50–54, 1 fev. 2014b.
- OVIEDO, M. A. Z.; GIRALDO, A. S. Control microbiológico de *Diatraea saccharalis* Fabricius (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE) en caña panelera a nivel de campo. **Boletín Científico. Centro de Museos**, v. 22, n. 2, 2018.
- PALMGREN, M. G. et al. Are we ready for back-to-nature crop breeding? **Trends in plant science**, v. 20, n. 3, p. 155–164, 2015.
- PANERO, F. S. et al. Aplicação da análise exploratória de dados na discriminação geográfica do quiabo do Rio Grande do Norte e Pernambuco. **Eclética Química**, v. 34, n. 3, p. 33–40, 2009.
- PARÉ, P. W.; TUMLINSON, J. H. Plant volatiles as a defense against insect herbivores. **Plant physiology**, v. 121, n. 2, p. 325–332, 1999.
- PARK, J. et al. Multivariate analysis of sorghum volatiles for the fast screening of sugarcane aphid infestation. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 23, n. 4, p. 901–908, 2020.
- PARRA, J. R. P. Biological control in Brazil: An overview. **Scientia Agricola**, v. 71, n. 5, p. 420–429, 1 out. 2014.
- PARRA, J. R. P.; JUNIOR, A. C. Applied biological control in Brazil: from laboratory assays to field application. **Journal of Insect Science**, v. 19, n. 2, p. 5, 2019.
- PASTOR, V. et al. Preparing to fight back: generation and storage of priming

- compounds. **Frontiers in plant science**, v. 5, p. 295, 2014.
- PAUDEL, S. et al. Induced plant defenses against herbivory in cultivated and wild tomato. **Journal of Chemical Ecology**, v. 45, n. 8, p. 693–707, 1 ago. 2019.
- PAUDEL, T. B.; SEIDL-ADAMS, I.; TUMLINSON, J. H. Herbivore-specific plant volatiles prime neighboring plants for nonspecific defense responses. **Plant, Cell & Environment**, v. 43, n. 3, p. 787–800, 19 mar. 2020.
- PEDRAZA, R. O. Recent advances in nitrogen-fixing acetic acid bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, v. 125, n. 1, p. 25–35, jun. 2008.
- PEDRAZA, R. O. et al. Azospirillum inoculation and nitrogen fertilization effect on grain yield and on the diversity of endophytic bacteria in the phyllosphere of rice rainfed crop. **European Journal of Soil Biology**, v. 45, n. 1, p. 36–43, 2009.
- PEÑAFLOR, M.; BENTO, J. M. S. Herbivore-induced plant volatiles to enhance biological control in agriculture. **Neotropical entomology**, v. 42, n. 4, p. 331–343, 2013.
- PEÑAFLOR, M. F. G. V. et al. Effects of single and multiple herbivory by host and non-host caterpillars on the attractiveness of herbivore-induced volatiles of sugarcane to the generalist parasitoid *Cotesia flavipes*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 165, n. 1, p. 83–93, 2017.
- PENG, J. et al. Herbivore-induced volatiles of cabbage (*Brassica oleracea*) prime defence responses in neighbouring intact plants. **Plant Biology**, v. 13, n. 2, p. 276–284, 1 mar. 2011.
- PEÑUELAS, J. et al. Caterpillars of *Euphydryas aurinia* (Lepidoptera: Nymphalidae) feeding on *Succisa pratensis* leaves induce large foliar emissions of methanol. **New Phytologist**, v. 167, n. 3, p. 851–857, 2005.
- PEREIRA, F. F. et al. Parasitism and emergence of *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) larvae, pupae and adults. **Florida Entomologist**, v. 98, n. 1, p. 377–380, 2015.
- PÉREZ-JARAMILLO, J. E. et al. Linking rhizosphere microbiome composition of wild and domesticated *Phaseolus vulgaris* to genotypic and root phenotypic traits. **The ISME journal**, v. 11, n. 10, p. 2244–2257, 2017.
- PÉREZ-JARAMILLO, J. E.; MENDES, R.; RAAIJMAKERS, J. M. Impact of plant domestication on rhizosphere microbiome assembly and functions. **Plant molecular biology**, v. 90, n. 6, p. 635–644, 2016.
- PÉREZ, A. G. et al. Aroma Components and Free Amino Acids in Strawberry Variety

- Chandler during Ripening. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, n. 11, p. 2232–2235, 1 nov. 1992.
- PERKOVICH, C.; WARD, D. Aboveground herbivory causes belowground changes in twelve oak *Quercus* species: a phylogenetic analysis of root biomass and non-structural carbohydrate storage. **Oikos**, 2021.
- PETERSON, R. K. D.; VARELLA, A. C.; HIGLEY, L. G. Tolerance: the forgotten child of plant resistance. **PeerJ**, v. 5, p. e3934, 2017.
- PICAZO-ARAGONÉS, J.; TERRAB, A.; BALAO, F. Plant volatile organic compounds evolution: Transcriptional regulation, epigenetics and polyploidy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 23, p. 8956, 2020.
- PICHERSKY, E.; GERSHENZON, J. The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. **Current opinion in plant biology**, v. 5, n. 3, p. 237–243, 2002.
- PICHERSKY, E.; NOEL, J. P.; DUDAREVA, N. Biosynthesis of plant volatiles: Nature's diversity and ingenuity. **Science**, v. 311, n. 5762, p. 808–811, 2006.
- PICHERSKY, E.; RAGUSO, R. A. Why do plants produce so many terpenoid compounds? **New Phytologist**, v. 220, n. 3, p. 692–702, 2018.
- PINTO-ZEVALLOS, D. M. et al. Compostos orgânicos voláteis na defesa induzida das plantas contra insetos herbívoros. **Química Nova**, v. 36, n. 9, p. 1395–1405, 2013.
- POMPIDOR, N. et al. Three founding ancestral genomes involved in the origin of sugarcane. **Annals of botany**, v. 127, n. 6, p. 827–840, 2021.
- POTT, D. M.; OSORIO, S.; VALLARINO, J. G. From central to specialized metabolism: An overview of some secondary compounds derived from the primary metabolism for their role in conferring nutritional and organoleptic characteristics to fruit. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, n. June, 2019.
- PRACHAROENWATTANA, I. et al. Arabidopsis has a cytosolic fumarase required for the massive allocation of photosynthate into fumaric acid and for rapid plant growth on high nitrogen. **The Plant Journal**, v. 62, n. 5, p. 785–795, 26 fev. 2010.
- PROFFIT, M. et al. Attraction and oviposition of *Tuta absoluta* females in response to tomato leaf volatiles. **Journal of Chemical Ecology**, v. 37, n. 6, p. 565–574, 2011.
- PUNIA, A. et al. Effect of gallic acid on the larvae of *Spodoptera litura* and its parasitoid *Bracon hebetor*. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–11, 2021.
- PURUGGANAN, M. D. Evolutionary insights into the nature of plant domestication. **Current Biology**, v. 29, n. 14, p. R705–R714, 2019.

- PURUGGANAN, M. D.; FULLER, D. Q. The nature of selection during plant domestication. **Nature**, v. 457, n. 7231, p. 843–848, 2009.
- QUINTANA-RODRIGUEZ, E. et al. Plant volatiles cause direct, induced and associational resistance in common bean to the fungal pathogen *Colletotrichum lindemuthianum*. **Journal of Ecology**, v. 103, n. 1, p. 250–260, 2015.
- RAND, T. A.; RICHMOND, C. E.; DOUGHERTY, E. T. Modeling the combined impacts of host plant resistance and biological control on the population dynamics of a major pest of wheat. **Pest management science**, v. 76, n. 8, p. 2818–2828, 2020.
- RANI, P. U.; PRATYUSHA, S. Role of castor plant phenolics on performance of its two herbivores and their impact on egg parasitoid behaviour. **BioControl**, v. 59, n. 5, p. 513–524, 2014.
- RASHID, M. H.-O.; CHUNG, Y. R. Induction of Systemic Resistance against Insect Herbivores in Plants by Beneficial Soil Microbes. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. October, p. 1–11, 20 out. 2017.
- RASMANN, S. et al. Recruitment of entomopathogenic nematodes by insect-damaged maize roots. **Nature**, v. 434, n. 7034, p. 732–737, abr. 2005.
- REJEB, I. BEN; PASTOR, V.; MAUCH-MANI, B. Plant responses to simultaneous biotic and abiotic stress: molecular mechanisms. **Plants**, v. 3, n. 4, p. 458–475, 2014.
- RIBEIRO, T. F. L. **Maceió 2015**. [s.l.] Universidade Federal de Alagoas- UFAL, 2015.
- RIFFEL, A. et al. Exposure to sugarcane borer-induced plant volatile (E)-caryophyllene enhances parasitoid recruitment. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, p. eea.13081, 24 jul. 2021.
- RIVOIRA, L. et al. New approaches for extraction and determination of betaine from *Beta vulgaris* samples by hydrophilic interaction liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 409, n. 21, p. 5133–5141, 2017.
- RODRIGUEZ-SAONA, C. et al. Tracing the history of plant traits under domestication in cranberries: potential consequences on anti-herbivore defences. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, n. 8, p. 2633–2644, 2011.
- RODRIGUEZ-SAONA, C. et al. Differential susceptibility of wild and cultivated blueberries to an invasive frugivorous pest. **Journal of chemical ecology**, v. 45, n. 3, p. 286–297, 2019.
- ROHDE, A. et al. Molecular phenotyping of the *pal1* and *pal2* mutants of *Arabidopsis thaliana* reveals far-reaching consequences on phenylpropanoid, amino acid, and

- carbohydrate metabolism. **The Plant Cell**, v. 16, n. 10, p. 2749–2771, 2004.
- ROWEN, E.; KAPLAN, I. Eco-evolutionary factors drive induced plant volatiles: A meta-analysis. **New Phytologist**, v. 210, n. 1, p. 284–294, 2016.
- ROY, N.; BARIK, A. The impact of variation in foliar constituents of sunflower on development and reproduction of *Diacrisia casignetum* Kollar (Lepidoptera: Arctiidae). **Psyche**, v. 2012, 2012.
- SABINO, A. R. **O metaboloma da cana-de-açúcar (*Saccharum sp.*) na resposta à herbivoria**. [s.l.] Universidade Federal de Alagoas, 2017.
- SABINO, A. R. et al. 1H NMR metabolomic approach reveals chlorogenic acid as a response of sugarcane induced by exposure to *Diatraea saccharalis*. **Industrial Crops and Products**, v. 140, p. 111651, 2019a.
- SABINO, A. R. et al. 1H NMR metabolomic approach reveals chlorogenic acid as a response of sugarcane induced by exposure to *Diatraea saccharalis*. **Industrial Crops and Products**, v. 140, n. January, p. 111651, nov. 2019b.
- SAIRANEN, I. et al. Soluble carbohydrates regulate auxin biosynthesis via PIF proteins in *Arabidopsis*. **The Plant Cell**, v. 24, n. 12, p. 4907–4916, 2012.
- SAITO, K.; DIXON, R. A.; WILLMITZER, L. **Plant metabolomics**. [s.l.] Springer Science & Business Media, 2006. v. 57
- SAKAMOTO, A.; MURATA, N. The role of glycine betaine in the protection of plants from stress: clues from transgenic plants. **Plant, Cell & Environment**, v. 25, n. 2, p. 163–171, 2002.
- SANDOVAL, S. S.; SENÔ, K. C. A. Comportamento e controle da *Diatraea saccharalis* na cultura da cana-de-açúcar. **Nucleus**, v. 7, n. 1, p. 1–16, 2010.
- SANTOLAMAZZA-CARBONE, S. et al. Antibiotic properties of the glucosinolates of *Brassica oleracea* var. *acephala* similarly affect generalist and specialist larvae of two lepidopteran pests. **Journal of Pest Science**, v. 89, n. 1, p. 195–206, 2016.
- SARDANS, J. et al. Metabolic responses of *Quercus ilex* seedlings to wounding analysed with nuclear magnetic resonance profiling. **Plant Biology**, v. 16, n. 2, p. 395–403, 2014.
- SCARPARI, M. S.; BEAUCLAIR, E. G. F. DE. Anatomia e botânica. **DINARDO-MIRANDA, LL; VASCONCELOS, ACM; LANDELL, MGA Cana-de-Açúcar. 1ed. Campinas: Instituto Agronômico**, p. 45–56, 2008.
- SCHENCK, C. A.; MAEDA, H. A. Tyrosine biosynthesis, metabolism, and catabolism in plants. **Phytochemistry**, v. 149, p. 82–102, 2018.

- SCHILMILLER, A. L.; LAST, R. L.; PICHERSKY, E. Harnessing plant trichome biochemistry for the production of useful compounds. **The Plant Journal**, v. 54, n. 4, p. 702–711, 2008.
- SCHNEE, C. et al. The Maize Gene terpene synthase 1 Encodes a Sesquiterpene Synthase Catalyzing the Formation of (E)-Farnesene, (E)-Nerolidol, and (E,E)-Farnesol after Herbivore Damage. **Society**, v. 130, n. December, p. 2049–2060, 2002.
- SCHNITZLER, M.; PETEREIT, F.; NAHRSTEDT, A. Trans-Aconitic acid, glucosylflavones and hydroxycinnamoyltartaric acids from the leaves of *Echinodorus grandiflorus* ssp. *aureus*, a Brazilian medicinal plant. **Revista Brasileira de farmacognosia**, v. 17, p. 149–154, 2007.
- SCHOONHOVEN, L. M. et al. **Insect-plant biology**. [s.l.] Oxford University Press on Demand, 2005.
- SCHRÖDER, M. L. et al. Olfactory responses of *Rhopalosiphum padi* to three maize, potato, and wheat cultivars and the selection of prospective crop border plants. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 157, n. 2, p. 241–253, 2015.
- SCHWACHTJE, J. et al. SNF1-related kinases allow plants to tolerate herbivory by allocating carbon to roots. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, n. 34, p. 12935–12940, 2006.
- SCHWACHTJE, J. et al. Primed primary metabolism in systemic leaves: a functional systems analysis. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 1–11, 2018.
- SCHWACHTJE, J.; BALDWIN, I. T. Why does herbivore attack reconfigure primary metabolism? **Plant physiology**, v. 146, n. 3, p. 845–851, 2008.
- SELIN-RANI, S. et al. Toxicity and physiological effect of quercetin on generalist herbivore, *Spodoptera litura* Fab. and a non-target earthworm *Eisenia fetida* Savigny. **Chemosphere**, v. 165, p. 257–267, 2016.
- SEO, D.-J. et al. Antifungal activity of gallic acid purified from *Terminalia nigrovenulosa* bark against *Fusarium solani*. **Microbial pathogenesis**, v. 56, p. 8–15, 2013.
- SHAH, A.; SMITH, D. L. Flavonoids in agriculture: Chemistry and roles in, biotic and abiotic stress responses, and microbial associations. **Agronomy**, v. 10, n. 8, p. 1209, 2020.
- SHARMA, A. et al. Entomopathogenic Fungi: A Potential Source for Biological Control of Insect Pests. In: **Phytobiomes: Current Insights and Future Vistas**. [s.l.] Springer, 2020. p. 225–250.
- SHARMA, R.; SOHAL, S. K. Toxicity of gallic acid to melon fruit fly, *Bactrocera*

- cucurbitae (Coquillett)(Diptera: Tephritidae). **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 46, n. 17, p. 2043–2050, 2013.
- SHARMA, R.; SOHAL, S. K. Oviposition response of melon fruit fly, *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) to different phenolic compounds. **Journal of Biopesticides**, v. 9, n. 1, p. 46, 2016.
- SHI, X. et al. The salicylic acid-mediated release of plant volatiles affects the host choice of *Bemisia tabaci*. **International journal of molecular sciences**, v. 17, n. 7, p. 1048, 2016.
- SHIBULA, K.; VELAVAN, S. Determination of phytochemicals in methanolic extract of *Annona muricata* leaf using GC-MS technique. **International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research**, v. 7, n. 6, p. 1251–1255, 2015.
- SHIVARAMU, S. et al. What signals do herbivore-induced plant volatiles provide conspecific herbivores? **Arthropod-Plant Interactions**, v. 11, n. 6, p. 815–823, 2017.
- SHOOROOEI, M. et al. Antixenosis and antibiosis of some melon (*Cucumis melo*) genotypes to the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) and a possible mechanism for resistance. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 88, n. 1, p. 73–78, 2013.
- SILVA-BRANDÃO, K. L. et al. 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.
- SILVA, M. F. DA; FUNICHELLO, M.; SOUZA, D. M. DE. Performance of insecticides in control of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) in sugarcane. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 87, 2020.
- SILVA, R. R. DA et al. Biotic and abiotic stress-induced phenylpropanoids in leaves of the mango (*Mangifera indica* L., Anacardiaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, p. 206–211, 2012.
- SILVA FILHO, B. F. DA. Análise da resposta ecológica da cana-de-açúcar (*Saccharum* sp) em resposta à herbivoria por *Diatraea saccharalis*. 2014.
- SILVA, J. P. G. F. et al. Assessing antixenosis of soybean entries against *Piezodorus guildinii* (Hemiptera: Pentatomidae). **Arthropod-Plant Interactions**, v. 8, n. 4, p. 349–359, 2014.
- SILVA, P. et al. Chemical Differentiation of Sugarcane Cultivars Based on Volatile Profile and Chemometric Analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 69, n. 11, p. 3548–3558, 2021.

- SILVA, T. R. F. B. et al. Effect of the flavonoid rutin on the biology of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 38, p. 165–170, 2016.
- SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. [s.l.] Artmed Editora, 2016.
- SINGH, B.; SHARMA, R. A. Plant terpenes: defense responses, phylogenetic analysis, regulation and clinical applications. **3 Biotech**, v. 5, n. 2, p. 129–151, 2015.
- SINGH, P. et al. Insecticidal potential of defense metabolites from *Ocimum kilimandscharicum* against *Helicoverpa armigera*. **PLoS One**, v. 9, n. 8, p. e104377, 2014.
- SINGH, S. K. Explorations of plant's chemodiversity: role of nitrogen-containing secondary metabolites in plant defense. In: **Molecular aspects of plant-pathogen interaction**. [s.l.] Springer, 2018. p. 309–332.
- SMEEKENS, S. Sugar-Induced Signal Transduction in Plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 51, n. 1, p. 49–81, jun. 2000.
- SMITH-BECKER, J. et al. Accumulation of salicylic acid and 4-hydroxybenzoic acid in phloem fluids of cucumber during systemic acquired resistance is preceded by a transient increase in phenylalanine ammonia-lyase activity in petioles and stems. **Plant Physiology**, v. 116, n. 1, p. 231–238, 1998.
- SMITH, C. M.; CLEMENT, S. L. Molecular bases of plant resistance to arthropods. **Annual Review of Entomology**, v. 57, p. 309–328, 2012a.
- SMITH, C. M.; CLEMENT, S. L. Molecular bases of plant resistance to arthropods. **Annual review of entomology**, v. 57, p. 309–328, 2012b.
- SOBHY, I. S.; BRUCE, T. J. A.; TURLINGS, T. C. J. Priming of cowpea volatile emissions with defense inducers enhances the plant's attractiveness to parasitoids when attacked by caterpillars. **Pest management science**, v. 74, n. 4, p. 966–977, 2018.
- SOHAL, S. K.; SHARMA, R. Bioactivity of pyrogallol against melon fruit fly, *Bactrocera cucurbitae*. **Phytoparasitica**, v. 39, n. 4, p. 361–367, 2011.
- SOLÍS-MONTERO, V. et al. Herbivory and anti-herbivore defences in wild and cultivated *Cnidioscolus aconitifolius*: disentangling domestication and environmental effects. **AoB Plants**, v. 12, n. 3, p. plaa023, 2020.
- SOSINSKA, A.; MALESZEWSKI, S. Alanine metabolism in leaves of rape plants treated with low temperature. **Zeitschrift für Pflanzenphysiologie**, v. 88, n. 1, p. 55–

59, 1978.

SPITELLER, D.; BOLAND, W. N. -(17-Acyloxy-acyl)-glutamines: Novel Surfactants from Oral Secretions of Lepidopteran Larvae †. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 68, n. 23, p. 8743–8749, nov. 2003.

SRIKANTH, J.; SUBRAMONIAN, N.; PREMACHANDRAN, M. N. Advances in transgenic research for insect resistance in sugarcane. **Tropical Plant Biology**, v. 4, n. 1, p. 52–61, 2011.

STEINBRENNER, A. D. et al. Herbivore-Induced Changes in Tomato (*Solanum lycopersicum*) Primary Metabolism: A Whole Plant Perspective. **Journal of Chemical Ecology**, v. 37, n. 12, p. 1294–1303, 2011.

STENBERG, J. A. A conceptual framework for integrated pest management. **Trends in plant science**, v. 22, n. 9, p. 759–769, 2017.

STENBERG, J. A.; MUOLA, A. How should plant resistance to herbivores be measured? **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 663, 2017.

STEWART-JONES, A.; POPPY, G. M. Comparison of glass vessels and plastic bags for enclosing living plant parts for headspace analysis. **Journal of Chemical Ecology**, v. 32, n. 4, p. 845–864, 12 abr. 2006.

STOUT, M. J. **Host-Plant Resistance in Pest Management**. [s.l.] Elsevier Inc., 2014.

STURZA, V. S. et al. Nonpreference for Oviposition of Sugarcane Borer (Lepidoptera: Crambidae) in Sugarcane Seedlings Is Influenced by Ripening Group and Plant Age. **Environmental entomology**, v. 49, n. 3, p. 692–698, 2020.

SUGIMOTO, K. et al. Intake and transformation to a glycoside of (Z)-3-hexenol from infested neighbors reveals a mode of plant odor reception and defense. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 111, n. 19, p. 7144–7149, 2014.

SULPICE, R.; MCKEOWN, P. C. Moving toward a comprehensive map of central plant metabolism. **Annual review of plant biology**, v. 66, p. 187–210, 2015.

SUN, J. et al. Similar metabolic changes induced by HIPVs exposure as herbivore in *ammopiptanthus mongolicus*. **PLoS ONE**, v. 9, n. 4, p. 1–10, 2014.

SUN, P. et al. My way: noncanonical biosynthesis pathways for plant volatiles. **Trends in Plant Science**, v. 21, n. 10, p. 884–894, 2016.

SUN, Y. et al. TPS46, a rice terpene synthase conferring natural resistance to bird cherry-oat aphid, *Rhopalosiphum padi* (Linnaeus). **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 110, 2017.

SUZUKI, N. et al. Abiotic and biotic stress combinations. **New Phytologist**, v. 203, n.

1, p. 32–43, 2014.

SWEETMAN, C. et al. Regulation of malate metabolism in grape berry and other developing fruits. **Phytochemistry**, v. 70, n. 11–12, p. 1329–1344, 2009.

SYTAR, O. et al. Phytohormone priming: regulator for heavy metal stress in plants. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 38, n. 2, p. 739–752, 2019.

SZCZEPANIEC, A. et al. Higher expression of induced defenses in teosintes (*Zea* spp.) is correlated with greater resistance to fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 146, n. 2, p. 242–251, 2013.

TADEGE, M.; DUPUIS, I.; KUHLEMEIER, C. Ethanol fermentation: New functions for an old pathway. **Trends in Plant Science**, v. 4, n. 8, p. 320–325, 1999.

TAIZ, L. et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal Diversidade vegetal**. [s.l.: s.n.]. v. 6 ed.

TAKEMOTO, H.; TAKABAYASHI, J. Parasitic wasps *Aphidius ervi* are more attracted to a blend of host-induced plant volatiles than to the independent compounds. **Journal of chemical ecology**, v. 41, n. 9, p. 801–807, 2015.

TALAPATRA, S. K.; TALAPATRA, B. Photosynthesis. In: **Chemistry of Plant Natural Products Stereochemistry, Conformation, Synthesis, Biology, and Medicine**. [s.l.: s.n.]. p. 2002–241.

TAMIRU, A. et al. Maize landraces recruit egg and larval parasitoids in response to egg deposition by a herbivore. **Ecology Letters**, v. 14, n. 11, p. 1075–1083, nov. 2011.

TAMIRU, A.; KHAN, Z. R.; BRUCE, T. J. New directions for improving crop resistance to insects by breeding for egg induced defence. **Current Opinion in Insect Science**, v. 9, p. 51–55, 1 jun. 2015.

TAMRAT, S. et al. Germination ecology of wild and domesticated *Ensete ventricosum*: evidence for maintenance of sexual reproductive capacity in a vegetatively propagated perennial crop. **bioRxiv**, 2020.

TAN, X.; LIU, T. Aphid-induced plant volatiles affect the attractiveness of tomato plants to *Bemisia tabaci* and associated natural enemies. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 151, n. 3, p. 259–269, 2014.

TAO, L.; HUNTER, M. D. Allocation of resources away from sites of herbivory under simultaneous attack by aboveground and belowground herbivores in the common milkweed, *Asclepias syriaca*. **Arthropod-Plant Interactions**, v. 7, n. 2, p. 217–224, 2013.

TAVARES, S. DOS S. **Ecologia Química da Cana-de-açúcar: Caracterização**

das respostas de defesa em diferentes cultivares de cana-de-açúcar. [s.l.: s.n.].

THOMSON, V. P. et al. Compensation for herbivory by *Cucumis sativus* through increased photosynthetic capacity and efficiency. **Oecologia**, v. 134, n. 2, p. 167–175, 2003.

TITARENKO, E. et al. Jasmonic acid-dependent and-independent signaling pathways control wound-induced gene activation in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Physiology**, v. 115, n. 2, p. 817–826, 1997.

TOMAZ, A. C. et al. Assessing resistance of sugarcane varieties to sugarcane borer *Diatraea saccharalis* Fab. (Lepidoptera: Crambidae). **Bulletin of entomological research**, v. 108, n. 4, p. 547–555, 2018.

TONELLI, M. et al. Attraction of entomopathogenic nematodes to sugarcane root volatiles under herbivory by a sap-sucking insect. **Chemoecology**, v. 26, n. 2, p. 59–66, 2016.

TUMLINSON, J. H.; ENGELBERTH, J. Fatty acid-derived signals that induce or regulate plant defenses against herbivory. In: **Induced plant resistance to herbivory**. [s.l.] Springer, 2008. p. 389–407.

TURCOTTE, M. M.; TURLEY, N. E.; JOHNSON, M. T. J. The impact of domestication on resistance to two generalist herbivores across 29 independent domestication events. **New Phytologist**, v. 204, n. 3, p. 671–681, 2014.

TURLEY, N. E.; GODFREY, R. M.; JOHNSON, M. T. J. Evolution of mixed strategies of plant defense against herbivores. **New Phytologist**, v. 197, n. 2, p. 359–361, 2013.

TURLINGS, T. C. J.; ERB, M. Tritrophic Interactions Mediated by Herbivore-Induced Plant Volatiles: Mechanisms, Ecological Relevance, and Application Potential. **Annual Review of Entomology**, v. 63, n. 1, p. 433–452, 7 jan. 2018.

TZIN, V.; GALILI, G. New insights into the shikimate and aromatic amino acids biosynthesis pathways in plants. **Molecular plant**, v. 3, n. 6, p. 956–972, 2010.

UCHIMIYA, M.; KNOLL, J. E. Accumulation of carboxylate and aromatic fluorophores by a pest-resistant sweet sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] genotype. **ACS omega**, v. 4, n. 24, p. 20519–20529, 2019.

UL HASSAN, M. N.; ZAINAL, Z.; ISMAIL, I. Green leaf volatiles: biosynthesis, biological functions and their applications in biotechnology. **Plant biotechnology journal**, v. 13, n. 6, p. 727–739, 2015.

UNSICKER, S. B.; KUNERT, G.; GERSHENZON, J. Protective perfumes: the role of vegetative volatiles in plant defense against herbivores. **Current opinion in plant**

biology, v. 12, n. 4, p. 479–485, 2009.

VAN DEN DOOL, H., & DEC. KRATZ, P. A GENERALIZATION OF THE RETENTION INDEX SYSTEM INCLUDING LINEAR TEMPERATURE PROGRAMMED GAS-LIQUID PARTITION CHROMATOGRAPHY. **JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY**, v. 11, 1963.

VAN VELZEN, E.; ETIENNE, R. S. The importance of ecological costs for the evolution of plant defense against herbivory. **Journal of Theoretical Biology**, v. 372, p. 89–99, 2015.

VAN WAARDE, A. Alcoholic fermentation in multicellular organisms. **Physiological zoology**, v. 64, n. 4, p. 895–920, 1991.

VANDENBORRE, G.; SMAGGHE, G.; VAN DAMME, E. J. M. Plant lectins as defense proteins against phytophagous insects. **Phytochemistry**, v. 72, n. 13, p. 1538–1550, 2011.

VEERASAMY, R. et al. Validation of QSAR Models - Strategies and Importance. **International Journal of Drug Design and Discovery**, v. 2, n. 3, p. 511–519, 2011.

VELIKOVA, V. et al. Influence of feeding and oviposition by phytophagous pentatomids on photosynthesis of herbaceous plants. **Journal of Chemical Ecology**, v. 36, n. 6, p. 629–641, 21 maio 2010.

VILLAMAR-TORRES, R. et al. Volatile organic compounds: plant natural defense mechanisms against herbivorous arthropods and an opportunity for plant breeding of cotton. 2018.

VISAKORPI, K. et al. Small-scale indirect plant responses to insect herbivory could have major impacts on canopy photosynthesis and isoprene emission. **New Phytologist**, v. 220, n. 3, p. 799–810, 2018.

VITIELLO, A. et al. Zucchini plants Alter gene expression and emission of (E)- β -Caryophyllene following *Aphis gossypii* infestation. **Frontiers in plant science**, v. 11, p. 2089, 2021.

VLOT, A. C.; DEMPSEY, D. A.; KLESSIG, D. F. Salicylic Acid, a Multifaceted Hormone to Combat Disease. **Annual Review of Phytopathology**, v. 47, n. 1, p. 177–206, set. 2009.

VOLL, L. M. et al. Antisense inhibition of enolase strongly limits the metabolism of aromatic amino acids, but has only minor effects on respiration in leaves of transgenic tobacco plants. [plantsfile:///C:/Users/Demetrios/Desktop/artigo_professor_2021/scholar\(72\).ris](file:///C:/Users/Demetrios/Desktop/artigo_professor_2021/scholar(72).ris). **New Phytologist**, v. 184, n. 3, p. 607–618, 2009.

- WADOOD, S. A. et al. Geographical discrimination of Chinese winter wheat using volatile compound analysis by HS-SPME/GC-MS coupled with multivariate statistical analysis. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 55, n. 1, p. e4453, 2020.
- WANG, G. P. et al. Overaccumulation of glycine betaine enhances tolerance to drought and heat stress in wheat leaves in the protection of photosynthesis. **Photosynthetica**, v. 48, n. 1, p. 117–126, 2010.
- WANG, L. et al. Metabolic responses of poplar to *Apriona germari* (Hope) as revealed by metabolite profiling. **International journal of molecular sciences**, v. 17, n. 6, p. 923, 2016.
- WANG, L. et al. The important role of the citric acid cycle in plants. **Genomics and Applied Biology**, v. 8, 2017.
- WANG, Y. et al. Overexpression of the tyrosine decarboxylase gene MdTyDC confers salt tolerance in apple. **Environmental and Experimental Botany**, v. 180, p. 104244, 2020.
- WAR, A. R. et al. Herbivore induced plant volatiles: Their role in plant defense for pest management. **Plant Signaling & Behavior**, v. 6, n. 12, p. 1973–1978, 28 dez. 2011.
- WAR, A. R. et al. **Mechanisms of plant defense against insect herbivores** **Plant Signaling and Behavior** Landes Bioscience, , 2012a. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/psb.21663>>. Acesso em: 7 out. 2020
- WAR, A. R. et al. Mechanisms of plant defense against insect herbivores. **Plant signaling & behavior**, v. 7, n. 10, p. 1306–20, 1 out. 2012b.
- WAR, A. R. et al. Effect of plant secondary metabolites on legume pod borer, *Helicoverpa armigera*. **Journal of Pest Science**, v. 86, n. 3, p. 399–408, 2013.
- WARD, J. L. et al. Assessment of ¹H NMR spectroscopy and multivariate analysis as a technique for metabolite fingerprinting of *Arabidopsis thaliana*. **Phytochemistry**, v. 62, n. 6, p. 949–957, 2003.
- WEBSTER, B. et al. Volatiles functioning as host cues in a blend become nonhost cues when presented alone to the black bean aphid. **Animal Behaviour**, v. 79, n. 2, p. 451–457, 2010.
- WHITE, W. H. et al. Registration of two sugarcane germplasm clones with antibiosis to the sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae). **Journal of Plant Registrations**, v. 5, n. 2, p. 248–253, 2011.
- WIDHALM, J. R.; DUDAREVA, N. A familiar ring to it: biosynthesis of plant benzoic acids. **Molecular plant**, v. 8, n. 1, p. 83–97, 2015.

- WINTER, T. R. et al. Heavy metal stress can prime for herbivore-induced plant volatile emission. **Plant, cell & environment**, v. 35, n. 7, p. 1287–1298, 2012.
- WOODHEAD, S.; COOPER-DRIVER, G. Phenolic acids and resistance to insect attack in *Sorghum bicolor*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 7, n. 4, p. 309–310, 1979.
- WORLEY, B.; POWERS, R. Multivariate Analysis in Metabolomics. **Current Metabolomics**, v. 1, n. 1, p. 92–107, 1 nov. 2013.
- WU, J.; BALDWIN, I. T. New insights into plant responses to the attack from insect herbivores. **Annual review of genetics**, v. 44, p. 1–24, 2010.
- WU, X. et al. The roles of jasmonate signalling in nitrogen uptake and allocation in rice (*Oryza sativa* L.). **Plant, cell & environment**, v. 42, n. 2, p. 659–672, 2019.
- XIAOCHUANG, C. et al. Glycine increases cold tolerance in rice via the regulation of N uptake, physiological characteristics, and photosynthesis. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 112, p. 251–260, 2017.
- XIU, C. et al. Volatiles from aphid-infested plants attract adults of the multicolored Asian lady beetle *Harmonia axyridis*. **Biological Control**, v. 129, p. 1–11, 1 fev. 2019.
- YANG, F. et al. Analysis of key genes of jasmonic acid mediated signal pathway for defense against insect damages by comparative transcriptome sequencing. **Scientific reports**, v. 5, n. 1, p. 1–12, 2015.
- YANG, F. et al. Direct and indirect plant defenses induced by (Z)-3-hexenol in tomato against whitefly attack. **Journal of Pest Science**, v. 93, n. 4, p. 1243–1254, 14 set. 2020.
- YANG, G. et al. Electroantennogram and behavioral responses of *Cotesia plutellae* to plant volatiles. **Insect Science**, v. 23, n. 2, p. 245–252, 2016.
- YANG, H. et al. Transcriptomic and phytochemical analyses reveal root-mediated resource-based defense response to leaf herbivory by *Ectropis oblique* in tea plant (*Camellia sinensis*). **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 67, n. 19, p. 5465–5476, 2019.
- YU, H. et al. Electrophysiological and behavioral responses of *Microplitis mediator* (Hymenoptera: Braconidae) to caterpillar-induced volatiles from cotton. **Environmental entomology**, v. 39, n. 2, p. 600–609, 2010.
- ZAYED, M. Z.; SAMLING, B. Phytochemical constituents of the leaves of *Leucaena leucocephala* from Malaysia. **Int J Pharm Pharm Sci**, v. 8, n. 12, p. 174–179, 2016.
- ZEBELO, S. A.; MAFFEI, M. E. Role of early signalling events in plant–insect

- interactions. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, n. 2, p. 435–448, 2015.
- ZHANG, Q. et al. Plant flavonoids enhance the tolerance to thiamethoxam and flupyradifurone in whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 171, p. 104744, 2021.
- ZHANG, Y.-R. et al. Identification of *Caragana* plant volatiles, overlapping profiles, and olfactory attraction to *Chlorophorus caragana* in the laboratory. **Journal of Plant Interactions**, v. 10, n. 1, p. 41–50, 11 jan. 2015.
- ZHOU, F.; PICHERSKY, E. More is better: the diversity of terpene metabolism in plants. **Current opinion in plant biology**, v. 55, p. 1–10, 2020.
- ZHOU, L.; THORNBURG, R. Wound-inducible genes in plants. **P. Reynolds**, p. 127–167, 1999.
- ZHOU, S. et al. Alteration of plant primary metabolism in response to insect herbivory. **Plant Physiology**, v. 169, n. 3, p. 1488–1498, 2015.
- ZOTARELLI, L. et al. Calibração do medidor de clorofila Minolta SPAD-502 para uso na cultura do milho. **Embrapa Agrobiologia-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2002.
- ZÜST, T.; AGRAWAL, A. A. Mechanisms and evolution of plant resistance to aphids. **Nature plants**, v. 2, n. 1, p. 1–9, 2016.
- ZÜST, T.; AGRAWAL, A. A. Trade-Offs Between Plant Growth and Defense Against Insect Herbivory: An Emerging Mechanistic Synthesis. **Annual Review of Plant Biology**, v. 68, p. 513–534, 2017.