

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO
DA NATUREZA**

Tiago Teixeira de Resende

**Seleção recorrente de *Urochloa ruziziensis* (R. Germ. e C.M. Evrard) visando a
resistência às cigarrinhas-das-pastagens**

Juiz de Fora

2024

Tiago Teixeira de Resende

Seleção recorrente de *Urochloa ruziziensis* (R. Germ. e C.M. Evrard) visando a resistência às cigarrinhas-das-pastagens

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas. Área de concentração: comportamento ecologia e sistemática.

Orientador: Dr. Alexander Machado Auad
Coorientador: Dr. Fausto de Souza Sobrinho

Juiz de Fora
2024

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Resende, Tiago Teixeira de.

Seleção recorrente em *Urochloa ruziziensis* (R. Germ. e C.M. Evrard) visando a resistência às cigarrinhas-das-pastagens / Tiago Teixeira de Resende. -- 2024.

63 p.

Orientador: Alexander Machado Auad

Coorientador: Fausto de Souza Sobrinho

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Comportamento Animal, 2024.

1. Brachiaria. 2. cigarrinhas-das-pastagens. 3. forrageira. 4. inseto-praga. 5. pastagem. I. Auad, Alexander Machado, orient. II. Souza Sobrinho, Fausto de , coorient. III. Título.

Tiago Teixeira de Resende

Seleção recorrente em *Urochloa ruziziensis* (R. Germ. e C.M. Evrard) visando a resistência às cigarrinhas-das-pastagens

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Biodiversidade e Conservação da Natureza. Área de concentração: Comportamento, Ecologia e Sistemática.

Aprovada em 17 de janeiro de 2025.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Alexander Machado Aued - Orientador

Universidade Federal de Juiz de Fora

Dr. Fausto de Souza Sobrinho - Coorientador

Embrapa

Prof. Dr. Ralph Maturano Pinheiro

Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Bruno Henrique Sardinha de Souza

Universidade Federal de Lavras

Dr. Marcos Rafael Gusmão

Embrapa

Profa. Dra. Melissa Vieira Leite

Centro Superior de Ensino e Pesquisa de Machado - CESEP

Juiz de Fora, 18/12/2024.



Documento assinado eletronicamente por **Fausto de Souza Sobrinho, Usuário Externo**, em 17/01/2025, às 12:13, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ralph Maturano Pinheiro, Professor(a)**, em 17/01/2025, às 12:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Alexander Machado Auad, Usuário Externo**, em 17/01/2025, às 12:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Bruno Henrique Sardinha de Souza, Usuário Externo**, em 17/01/2025, às 13:54, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **MELISSA VIEIRA LEITE, Usuário Externo**, em 17/01/2025, às 22:49, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **MARCOS RAFAEL GUSMÃO, Usuário Externo**, em 23/01/2025, às 07:56, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf (www2.ufjf.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **2166345** e o código CRC **2D5880B5**.

Dedico esse trabalho à minha esposa Mara. Sou muito grato pelo seu incentivo constante, pela sua compreensão e pela sua presença inestimável em minha vida. E ao meu filho Mateus, quem me ensinou o verdadeiro amor de ser pai. Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

A Deus, nosso Criador e meu guia, por me dar força e sabedoria para continuar minha caminhada.

À minha mãe, Maria Luiza, e ao meu pai, João Bosco, por sempre me ensinarem a valorizar os caminhos do estudo, da gratidão e da lealdade, além de me darem a vida e uma educação fundamentada nesses valores. Minha eterna gratidão a vocês.

À minha esposa, Mara, e ao meu filho, Mateus, por estarem sempre ao meu lado, apoiando-me e incentivando a busca pelos meus sonhos, e por confiarem em minhas decisões. Sou profundamente grato pelo amor e suporte de vocês.

Às minhas irmãs, Dalila e Fabíola, pelo carinho constante e por todo apoio que sempre me ofereceram ao longo dessa jornada.

Ao meu orientador, Professor Dr. Alexander Machado Auad, por seu incentivo e pela oportunidade de dar continuidade aos meus estudos. Agradeço pela orientação cuidadosa em todas as etapas deste trabalho, pelas contribuições valiosas à minha formação profissional e pessoal, e pela amizade genuína que sempre demonstrou.

Ao meu coorientador, Dr. Fausto de Souza Sobrinho, por fornecer as plantas utilizadas neste estudo, além de compartilhar informações fundamentais para a realização deste trabalho.

À Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) e ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza, pela oportunidade de realizar meu doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de 5 meses de bolsa, e à UFJF, pela concessão de mais 3 meses de bolsa.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza, pelos conhecimentos transmitidos ao longo da minha formação e pela amizade construída ao longo desse período.

À Embrapa Gado de Leite, pelo suporte imprescindível na realização dos experimentos deste trabalho.

Aos colegas de laboratório que contribuíram nas diversas etapas desta pesquisa. Sem a colaboração dos estagiários, bolsistas, mestrandos, doutorandos e demais colaboradores da Embrapa, a conclusão deste trabalho não teria sido possível.

E, finalmente, a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a concretização deste trabalho, o meu mais sincero agradecimento.

"O conhecimento é o alimento da alma"

Platão

RESUMO

A forrageira *Urochloa ruziziensis* (R. Germ. e C.M. Evrard) Crins (sinônimo *Brachiaria ruziziensis*) é adotada como pastagem devido dentre outras vantagens a sua boa qualidade nutricional. Apesar disso, essa forrageira é suscetível às cigarrinhas-das-pastagens, principal inseto-praga das pastagens no Brasil. Assim, esse estudo foi desenvolvido com o objetivo de selecionar progênies de *U. ruziziensis* resistentes às cigarrinhas-das-pastagens ao longo de 16 ciclos de seleção recorrente e validar a resistência na população oriunda das progênies selecionadas. O capítulo 1 é composto pelo artigo publicado na revista “*Agronomy*”. Neste trabalho foram avaliadas 13.114 plantas de *U. ruziziensis* quanto a resistência às cigarrinhas-das-pastagens, em experimentos conduzidos entre os anos de 2008 e 2023. Cada planta foi infestada com seis ovos do inseto-praga no último estágio embrionário (S4), e mantidas em casa de vegetação. Após 35 a 40 dias foi realizada a contagem das ninfas sobreviventes. A população original de *U. ruziziensis* (POP01-2008) proporcionou sobrevivência ninfal dos insetos-praga de 63%, independente da espécie de cigarrinha-das-pastagens, enquanto para a população melhorada (POP36-2023) a sobrevivência ninfal média foi de 32,8%. Após 16 ciclos de seleção, verificou-se que aproximadamente 63% dos genótipos, 716 plantas, possuíam sobrevivência ninfal igual ou inferior a 33%, e são consideradas resistentes às ninfas de *D. schach* ou *M. spectabilis*. Na sequência, no capítulo 2, foi pesquisada a validação da resistência em progênies obtidas dos genótipos selecionados de *U. ruziziensis* oriundos de dezesseis ciclos de seleção recorrente. Além das progênies selecionadas, avaliou-se a sobrevivência ninfal de *D. schach* ou *M. spectabilis* em *U. ruziziensis* comercial, cv Kennedy. Cada planta foi infestada com seis ovos do inseto-praga no estágio S4 e mantidas em casa de vegetação. Após esse período a sobrevivência das ninfas foi avaliada e, a partir desses dados foi calculada a sobrevivência ninfal. Para a espécie *D. schach* a sobrevivência ninfal média nas diferentes progênies variou de 19 a 64%, com média geral de 36,3%. Já para *M. spectabilis*, a média geral da sobrevivência ninfal foi de 25,4% com uma amplitude de 0 a 57%. Constatou-se que 21 progênies foram classificadas como resistentes a *D. schach* e, 73 progênies resistentes a *M. spectabilis*. Além disso, foram identificadas 19 progênies simultaneamente resistentes as duas espécies dos insetos-praga. A sobrevivência ninfal das cigarrinhas-das-pastagens nas progênies de *U. ruziziensis* melhorada foi significativamente inferior à

da *U. ruziensis* comercial, demonstrando a eficácia da seleção recorrente para obtenção de forrageiras resistentes a esses cercopídeos. A população obtida pelo programa de melhoramento de forrageiras apresenta variabilidade genética e está cada vez mais próxima da obtenção de cultivares de *U. ruziensis* resistentes às ninfas de *D. schach* e de *M. spectabilis*.

Palavras-chave: *Brachiaria*; cigarrinhas-das-pastagens; forrageira; inseto-praga; pastagem.

ABSTRACT

The forage *Urochloa ruziziensis* (R. Germ. and C.M. Evrard) Crins (synonym *Brachiaria ruziziensis*) has great potential to be adopted as pasture due to its good nutritional quality, among other advantages. However, this forage is susceptible to spittlebugs, the main insect pest of pastures in Brazil. Thus, the aim of this study was to select *U. ruziziensis* genotypes resistant to the spittlebug over 16 cycles of recurrent selection and to validate resistance in the population derived from the selected genotypes. Chapter 1 consists of the article published in the journal “*Agronomy*.” In this work, 13,114 *U. ruziziensis* plants were evaluated for resistance to spittlebugs in experiments conducted between 2008 and 2023. Each plant was infested with six eggs of the insect pest at the last embryonic stage (S4) and kept in a greenhouse. After 35 to 40 days, the surviving nymphs were counted. The original population of *U. ruziziensis* (POP01-2008) provided nymphal survival of 63%, regardless of the spittlebug species, while for the improved population (POP36-2023) the average nymphal survival was 32.8%. After 16 selection cycles, it was found that approximately 63% of the genotypes, or 716 plants, exhibited nymphal survival equal to or less than 33%, indicating their resistance to the nymphs of *D. schach* or *M. spectabilis*. Next, in Chapter 2, we investigated the validation of resistance in the progeny obtained from *U. ruziziensis* progenies from sixteen cycles of recurrent selection. In addition to the selected genotypes, nymphal survival was assessed on commercial *U. ruziziensis*, cv Kennedy (treatment control). Each plant was infested with six eggs of the insect pest at the S4 stage and kept in a greenhouse. Following this period, we evaluated the nymphs’ survival and calculated the nymphal survival from this data. For the *D. schach* species, average nymphal survival in the different progenies ranged from 19 to 64%, with an overall average of 36.3%. For *M. spectabilis*, the overall average nymphal survival was 25.4%, with a range from 0 to 57%. We classified 21 progenies as resistant to *D. schach* and 73 progenies as resistant to *M. spectabilis*. In addition, we identified 19 progenies as simultaneously resistant to both insect pest species. Spittlebug nymphs had a much lower chance of survival in the improved *U. ruziziensis* progenies than in the commercial *U. ruziziensis*, demonstrating the effectiveness of recurrent selection in obtaining forage plants resistant to these cercopids. The population obtained by the forage improvement program shows genetic variability and

is getting closer to obtaining *U. ruziziensis* cultivars resistant to *D. schach* and *M. spectabilis* nymphs.

Keywords: *Brachiaria*; spittlebug; forage; insect pest; pasture.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	13
1.2 REFERÊNCIAS	16
2 CAPÍTULO 1 – Artigo publicado: Sixteen years of recurrent selection of ruzi grass for resistance to spittlebugs (Hemiptera: Cercopidae)	19
3 CAPÍTULO 2 - Validação da resistência às cigarrinhas-das-pastagens em progênies de <i>Urochloa ruziziensis</i> (Poales: Poaceae) após dezesseis ciclos de seleção recorrente	42
3.1 Introdução	45
3.2 Material e métodos	47
3.2.1 Localização.....	47
3.2.2 Obtenção e cultivo das plantas forrageiras.....	47
3.2.3 Obtenção dos ovos das cigarrinhas-das-pastagens.....	47
3.2.4 Bioensaio.....	48
3.4 Discussão	55
3.5 Conclusão	59
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	63

1 INTRODUÇÃO GERAL

As gramíneas forrageiras do gênero *Urochloa* foram introduzidas no Brasil em meados da década de 1960, e rapidamente se expandiram por todo o país devido à sua grande capacidade de adaptação a vários tipos de solo, além das boas características agronômicas (WENZL et al. 2001; WENZL et al. 2003; RAO et al. 2006; SOUZA SOBRINHO et al. 2010). O Brasil possui aproximadamente 161 milhões de hectares de pastagens distribuídas por todo o território nacional. As pastagens plantadas estão presentes em cerca de 110 milhões de hectares e podem ser encontradas em todas as regiões (PAVIOT; SANTOS; PEREIRA, 2024).

A degradação de pastagens reduz a capacidade de suporte e compromete a viabilidade do sistema de produção de bovinos a pasto, com impactos econômicos e sociais negativos, além da redução da biodiversidade e do aumento das emissões de Gases de Efeito Estufa (GEE) (PAVIOT; SANTOS; PEREIRA, 2024). Dentre outros fatores, essa degradação pode ocorrer devido ao ataque das cigarrinhas-das-pastagens (Hemiptera: Cercopidae) que constituem um complexo de espécies de insetos especializados na sucção de seiva do xilema de várias gramíneas forrageiras (THOMPSON; GONZÁLEZ, 2005). Estes insetos têm o potencial de causar perdas econômicas que variam de 840 a 2,1 milhões de dólares por ano em todo o mundo (THOMPSON, 2004).

Dentre as gramíneas forrageiras cultivadas no Brasil a *U. ruziziensis* (R. Germ. e C.M. Evrard) Crins (sinônimo *Brachiaria ruziziensis*) se destaca pela boa qualidade nutricional e aceitação pelos bovinos, no entanto esta espécie foi praticamente abandonada pelos produtores rurais no fim do século passado. Entre os principais motivos para isso está sua suscetibilidade às cigarrinhas-das-pastagens (SOUZA SOBRINHO et al., 2022).

Esses cercopídeos ocorrem na região neotropical desde o sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina (PALADINI et al., 2018). As ninfas têm cinco instares que, em condições normais, podem durar de 4 a 9 semanas (PECK; THOMPSON, 2008). As ninfas alimentam-se normalmente da seiva do xilema das raízes (Pires et al. 2000; SUJII et al. 2000). Nesta fase se cobrem com uma espuma que as protege da dessecação, predação, parasitismo e radiação (MARTIN ET AL. 2002; CARVALHO E WEBB 2005; CHEN ET AL. 2018). Na fase adulta introduzem primeiro o estilete no tecido vegetal, e esta ação, combinada com enzimas salivares, quebra as paredes

celulares e causa a morte do tecido foliar (VALÉRIO; NAKANO, 1988), reduzindo assim o teor de clorofila (RESENDE et al., 2014) e a capacidade de rebrota da planta (AGUIAR et al., 2014). Com isso, dependendo dos níveis de infestação, esses insetos podem afetar o rendimento, a qualidade e o consumo da forragem pelo gado, além da persistência da planta.

Dentre as espécies de cigarrinhas-das-pastagens mais frequentes no Brasil estão a *Deois schach* (Fabricius) (VALÉRIO et al., 2001) e a *Mahanarva spectabilis* (Distant) (Hemiptera: Cercopidae) (AUAD et al., 2007). Essas têm causado grandes prejuízos, ameaçando a produtividade de carne e leite. Para reduzir a ocorrência desses insetos-praga, o controle microbiano e químico, nas áreas cultivadas com gramíneas forrageiras no Brasil, tem sido implementado de maneira restrita, o que se deve ao alto custo desses métodos, uma vez que as áreas de pastagens são muito extensas (SOUZA; MATTA; FÁVERO, 2013). O controle por meio do uso da resistência de plantas a insetos, apresenta a vantagem de se constituir num método que se alinha com o sistema de produção. A busca de gramíneas alternativas, visando à composição de um quadro mais diversificado no contexto da exploração, deve ser uma constante. Ao se liberarem novas cultivares com características agrônômicas desejáveis e resistentes às cigarrinhas-das-pastagens será oferecido aos produtores uma alternativa de controle que será de fácil adoção, e também de baixo custo, uma vez que o controle estará sendo efetuado por meio da aquisição e do plantio de sementes, sem custos adicionais; por isso a resistência de plantas representa o principal método de controle no manejo das cigarrinhas-das-pastagens (SOUZA; MATTA; FÁVERO, 2013).

A Embrapa Gado de Leite vem conduzindo o programa de melhoramento de *U. ruziziensis*, ao longo de 17 anos, visando, dentre outras características, a resistência por antibiose às cigarrinhas-das-pastagens *D. schach* e *M. spectabilis*, por meio de ciclos de seleção recorrente, para obtenção de uma população de *U. ruziziensis* que proporcione baixa sobrevivência ninfal das cigarrinhas-das-pastagens (AUAD et al. 2011; AUAD et al. 2013; AUAD et al. 2014; AUAD et al. 2015; AUAD et al. 2016; RESENDE et al. 2024). A seleção recorrente é um processo cíclico de seleção de indivíduos ou famílias dentro de uma população geneticamente heterogênea, seguido de recombinação (intercruzamento) dos indivíduos selecionados para formar uma nova população; esta, por sua vez, é utilizada para iniciar novo ciclo de seleção (CORDEIRO 2001; RAMALHO et al. 2001).

Nesse contexto, considerando as vantagens da adoção de *U. ruziensis* na alimentação de bovinos e, devido à variabilidade genética dentro de populações dessa forrageira, a seleção recorrente para a obtenção de progênies resistentes às cigarrinhas-das-pastagens pode ser uma boa estratégia. Assim, esse trabalho foi desenvolvido com o objetivo de selecionar progênies de *U. ruziensis* resistentes às espécies de cigarrinhas *D. schach* e *M. spectabilis*, por meio de 16 ciclos de seleção recorrente, além de validar a população obtida a partir das progênies selecionadas quanto a resistência às ninfas desses insetos-praga.

1.2 REFERÊNCIAS

- AGUIAR, D. D. M. et al. *Brachiaria ruziziensis* responses to different fertilization doses and to the attack of *Mahanarva spectabilis* (Hemiptera : Cercopidae) nymphs and adults. **The Scientific World Journal**, v. 2014, p. 1–8, 2014.
- AUAD, A. M. et al. Seleção de genótipos de capim-elefante quanto à resistência à cigarrinha-das-pastagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 8, p. 1077–1081, ago. 2007.
- AUAD, A. M. et al. **Seleção de clones de *Brachiaria ruziziensis* resistentes à *Deois flavopicta* (Hemiptera: Cercopidae)**. 48^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. **Anais...**Belém, PA: 2011.
- AUAD, A. M. et al. **Seleção de clones de *Brachiaria ruziziensis* quanto a resistência à *Mahanarva spectabilis***. XXII Congresso de Pós graduação da UFLA. **Anais...**Lavras, MG: 2013.
- AUAD, A. M. et al. **Identificação De *Brachiaria ruziziensis* resistentes à *Mahanarva spectabilis* (Hemiptera: Cercopidae): quarto ciclo de seleção**. XXXVII Semana de Biologia da UFJF. **Anais...**Juiz de Fora, MG: 2014.
- AUAD, A. M. et al. **Seleção de populações de *Brachiaria ruziziensis* (Germain & Edvard) quanto à resistência a *Deois schach* (Fabricius, 1787) (Hemiptera: cercopidae)**. Semana De Biologia Da UFJF. **Anais...**Juiz de Fora, MG: 2015.
- AUAD, A. M. et al. **Seleção de genótipos de *Brachiaria ruziziensis* (Germain & Evrard) resistentes à *Mahanarva spectabilis* (Distant, 1909) (Hemiptera: Cercopidae)**. XXV Congresso de Pós Graduação da UFLA. **Anais...**Lavras, MG: 2016.
- CARVALHO, G. S.; WEBB, M. D. **Cercopid spittle bugs of the New World (Hemiptera, Auchenorrhyncha, Cercopidae)**. Pensoft, Sofi-Moscow.: [s.n.].
- CHEN, X. et al. The role of biofoam in shielding spittlebug nymphs (Insecta, Hemiptera, Cercopidae) against bright light. **Ecological Entomology**, v. 43, n. 3, p. 273–281, 9 jun. 2018.
- CORDEIRO, A. C. C. **Número de intercruzamentos na eficiência da seleção recorrente na cultura do arroz**. [s.l.] UFLA, 2001.
- MARTIN, A. et al. Network Forming Properties of Various Proteins Adsorbed at the Air/Water Interface in Relation to Foam Stability. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 254, n. 1, p. 175–183, 1 out. 2002.
- PALADINI, A. et al. New World spittlebugs (Hemiptera: Cercopidae: Ischnorhininae): Dated molecular phylogeny, classification, and evolution of aposematic coloration. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 120, p. 321–334, mar. 2018.
- PAVIOT, M. C.; SANTOS, P. M.; PEREIRA, V. DA F. **Políticas públicas para pastagens Da degradação ao uso sustentável**. [s.l: s.n.].

- PECK, D. C.; THOMPSON, V. **Spittlebugs (Hemiptera:Cercopoidea)**, 2008. (Nota técnica).
- PIRES, C. S. S.; PRICE, P. W.; OLIVEIRA, R. C. DE. Distribution of the spittlebug *Deois flavopicta* Stal (Homoptera: Cercopidae) on wild and cultivated host species. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, n. 3, p. 401–412, set. 2000.
- RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B.; SANTOS, J. B. Melhoramento de espécies autógamias. In: **Recursos genéticos & melhoramento: plantas. Rondonópolis**. Rondonópolis: [s.n.]. p. 201–230.
- RAO, I. et al. Selección de híbridos de *Brachiaria* con resistencia a aluminio. **Pasturas Tropicales**, v. 28, n. 1, p. 20–25, 2006.
- RESENDE, T. T. et al. Sixteen Years of Recurrent Selection of Ruzi Grass for Resistance to Spittlebugs (Hemiptera: Cercopidae). **Agronomy**, v. 14, n. 7, p. 1516, 2024.
- RESENDE, T. T.; AUAD, A. M.; FONSECA, M. G. How many adults of *Mahanarva spectabilis* (Hemiptera: Cercopidae) should be used for screening *Brachiaria ruzizensis* (poales: poaceae) resistance? **Journal of Economic Entomology**, v. 107, n. 1, p. 396–402, 1 fev. 2014.
- SOUZA, F. H. D. DE; MATTA, F. DE P.; FÁVERO, A. P. Construção de ideótipos de gramíneas para usos diversos. 2013.
- SOUZA SOBRINHO, F. et al. BRS Integra - nova cultivar de *Urochloa ruzizensis* para a ILPF. **Boletim Técnico - Embrapa**, 2022.
- SOUZA SOBRINHO, F.; AUAD, A. M.; LÉDO, J. F. S. Brazilian Society of Plant Breeding. Printed in Brazil Genetic variability in *Brachiaria ruzizensis* for resistance to spittlebugs. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 10, p. 83–88, 2010.
- SUJII, E. R.; GARCIA, M. A.; FONTES, E. M. G. Movimentos de migração e dispersão de adultos da cigarrinha-das-pastagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 3, p. 471–480, mar. 2000.
- THOMPSON, V. Associative nitrogen fixation, C 4 photosynthesis, and the evolution of spittlebugs (Hemiptera: Cercopidae) as major pests of neotropical sugarcane and forage grasses . **Bulletin of Entomological Research**, v. 94, n. 3, p. 189–200, 2004.
- THOMPSON, V.; GONZÁLEZ, L. R. La identificación y distribución de los salivazos de la caña de azúcar y los pastos (Homoptera: Cercopidae) en Costa Rica. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica)**, v. 75, p. 43–51, 2005.
- VALÉRIO, J. et al. **Spittlebugs: bioecology, host plant resistance and advances in IPM**. International Grassland Congress. **Anais...**Piracicaba: FEALQ,: 2001.
- VALÉRIO, J. R.; NAKANO, O. locais de alimentação e distribuição vertical de adultos da cigarrinha *Zulia entreriana* (Berg, 1879) (Homopteba: Cercopidae) em plantas de *Brachiaria decumbens*. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 17, n. 2, p.

519–529, 1988.

WENZL, P. et al. The High Level of Aluminum Resistance in Signalgrass Is Not Associated with Known Mechanisms of External Aluminum Detoxification in Root Apices. **Plant Physiology**, v. 125, n. 3, p. 1473–1484, 1 mar. 2001.

WENZL, P. et al. Simulating Infertile Acid Soils with Nutrient Solutions. **Soil Science Society of America Journal**, v. 67, n. 5, p. 1457–1469, set. 2003.

2 CAPÍTULO 1 – Artigo publicado

Sixteen years of recurrent selection of ruzi grass for resistance to spittlebugs (Hemiptera: Cercopidae)

Este artigo está publicado no periódico “*Agronomy*” (<https://doi.org/10.3390/agronomy14071516>).

Neste capítulo são apresentados os resultados de 16 ciclos de seleção recorrente de *U. ruziziensis* quanto à resistência a *Deois schach* e *Mahanarva spectabilis*. Foram avaliadas 13.114 plantas de *U. ruziziensis* quanto a resistência às cigarrinhas-das-pastagens, em experimentos conduzidos entre o ano de 2008 e 2023. Cada planta foi infestada com seis ovos do inseto-praga em estágio próximo à eclosão das ninfas (S4), e mantidas em casa de vegetação por até 40 dias. Após esse período, foi realizada a contagem das ninfas sobreviventes. A população original de *U. ruziziensis* (POP01-2008) apresentou sobrevivência ninfal de 63% enquanto para a população melhorada (POP36-2023) a sobrevivência ninfal média foi de 32,8%. Após 16 ciclos de seleção, na POP36-2023, verificou-se que aproximadamente 63% dos genótipos avaliados naquele ciclo, 716 plantas, possuíam sobrevivência ninfal igual ou inferior a 33% e são consideradas resistentes às ninfas de *D. schach* ou *M. spectabilis*.

Article

Sixteen Years of Recurrent Selection of Ruzi Grass for Resistance to Spittlebugs (Hemiptera: Cercopidae)

Tiago Teixeira Resende ¹, Fausto Souza Sobrinho ², Michelle Oliveira Campagnani ³, Bruno Antônio Veríssimo ¹, Luís Augusto Calsavara ³, Flávia Maria Avelar Gonçalves ⁴, José Airtton Rodrigues Nunes ⁴ and Alexander Machado Auad ^{3,*}

¹ Departamento de Biodiversidade e Conservação da Natureza, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora 36036-900, MG, Brazil; tiago.resende@embrapa.br (T.T.R.); bruno_averissimo@hotmail.com (B.A.V.)

² Embrapa Gado de Leite, Departamento de Genética e Melhoramento de Plantas, Juiz de Fora 36038-330, MG, Brazil; fausto.souza@embrapa.br

³ Embrapa Gado de Leite, Departamento de Entomologia, Juiz de Fora 36038-330, MG, Brazil; mcampagnani@gmail.com (M.O.C.); agrocalsavara@gmail.com (L.A.C.)

⁴ Departamento de Biologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras 37203-202, MG, Brazil; avelar@ufla.br (F.M.A.G.); jarnunes@ufla.br (J.A.R.N.)

* Correspondence: alexander.auad@embrapa.br; Tel.: +55-32-3311-7458

Abstract: The forage *Urochloa ruziziensis* ((R. Germ. and C.M. Evrard) Crins (synonym *Brachiaria ruziziensis*) (Poales: Poaceae)) has great potential to be adopted as pasture. However, this forage is susceptible to spittlebugs, the main insect pest of pastures in Brazil. Thus, the objective of this study was to select genotypes of *U. ruziziensis* resistant to *Deois schach* (Fabricius) and *Mahanarva spectabilis* (Distant) (Hemiptera: Cercopidae) through 16 cycles of recurrent selection. The resistance of 13,114 *U. ruziziensis* plants to spittlebugs was evaluated in experiments conducted between 2008 and 2023. Each plant was infested with six eggs of the insect pest at stage S4 and kept in a greenhouse for up to 40 days. After this period, surviving nymphs from the second to fifth instars were counted. The original population of *U. ruziziensis* (POP01-2008) presented a nymphal survival rate of 63%, while for the improved population (POP36-2023) the average nymphal survival rate was 32.8%. The estimated total genetic gain was 15%, and the annual genetic gain was 1%. After 16 selection cycles, in POP36-2023, approximately 63% of the genotypes (716 plants), had nymphal survival rates equal to or less than 33% and were considered resistant to *D. schach* and *M. spectabilis* nymphs.

Keywords: forage; insect pest; signal grass

1 Introduction

Tropical forages play a fundamental role in Brazilian livestock farming, as they are used for direct grazing on approximately 100 million hectares, which corresponds to approximately 90% of the cultivated pastures in Brazil [1]. Therefore, greater efficiency in exploiting the productive potential of tropical pastures can increase the intensification of animal production and its productive capacity [2]. Forage grasses of the genus *Urochloa* play an important role in this endeavor. These plants are adapted to different types of soil and have several favorable agronomic characteristics, which make them attractive for expansion throughout the country [3–6].

The forage grass *Urochloa ruziziensis* ((R. Germ. and C.M. Evrard) Crins (synonym *Brachiaria ruziziensis*) Poales: Poaceae) is of African origin and was introduced into Brazil in 1965 by the Northern Agricultural Research and Experimentation Institute (IPEAN) [7]. This diploid species can be reproduced sexually or through clones and has high potential as a pasture due to its high nutritional quality and productivity [8]. However, this forage grass is susceptible to spittlebugs, among which the main species are *Deois schach* (Fabricius) and *Mahanarva spectabilis* (Distant) (Hemiptera: Cercopidae) [6,9–13].

The spittlebug nymphs feed on xylem in the plant base and produce a foamy substance utilized for self-defense. The adults live and feed on the aerial portion of the plant [14], thus reducing the chlorophyll content [15] and the plant's regrowth capacity [16]. In this context, Thompson [17] made a crude estimate that the world losses to grass feeding spittlebugs is about USD 840–2100 million year⁻¹, excluding damage in Africa and Asia, for which no estimates are possible.

To reduce this negative impact, a combination of control strategies must be carried out for the efficient management of spittlebugs; several studies have been conducted to expand these tactics [18]. According to Buitrago et al. [19], the development of new cultivars through breeding programs that incorporate host plant resistance is a long-term and lowcost strategy, with the main objective of increasing insect pest mortality in the early stages of life.

Therefore, the adoption of *U. ruziziensis* plants resistant to spittlebugs is a promising technique and the resistance characteristic is of greatest interest in tropical forage improvement programs [20]. According to Cardona and Sotelo [21], antibiosis is a type or mechanism of resistance that describes the negative effects of a resistant genotype on the biology of an insect.

To obtain cultivars resistant to spittlebugs, plant screening must be adopted through recurrent selection. This method consists of identifying resistant plants that are crossed or self-fertilized and testing and selecting their progenies; this process is repeated until populations with adequate levels of resistance are obtained [22,23]. Often, the selection and crossing process needs to be repeated for generations, as the gains in each generation can be small due to complex traits and low heritability.

In this context, considering the advantages of adopting *U. ruziziensis* in cattle feed and due to the genetic variability within populations of this forage, it is necessary to adopt recurrent selection to obtain genotypes resistant to spittlebugs. Therefore, the objective of this study was to select genotypes of *U. ruziziensis* resistant to the spittlebug species *D. schach* and *M. spectabilis* through 16 cycles of recurrent selection.

2 Materials and Methods

2.1 Location

The experiments were conducted at Embrapa Gado de Leite, in the municipality of Juiz de Fora, Minas Gerais, Brazil.

2.2 Genetic Material

A total of 13,114 *U. ruziziensis* plants were evaluated for resistance to spittlebugs in experiments conducted between 2008 and 2023 (Table 1).

A population of half-sib progenies composed of 270 plants of *U. ruziziensis* belonging to the Embrapa Gado de Leite forage improvement program provided the genotypes for the beginning of the tests, with successive annual cycles of intercrossing and selection of plants for resistance to spittlebugs throughout the period. In each selection cycle carried out within the breeding program, an average selection intensity was adopted in the range of 20% of the individuals evaluated.

Periodically, according to the needs of the improvement program, genotypes belonging to other lines of research in the program, which had been improved and evaluated for other characteristics of interest, such as productivity and forage quality, were used to introduce new genes into the genotypes that were being improved in terms of resistance to spittlebugs.

In all experiments that were carried out, the standard for susceptibility to spittlebugs was *U. decumbens* Stapf (synonym *Brachiaria decumbens*) cv. Basilisk, and the standard for resistance to spittlebugs was *U. brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf (synonym *Brachiaria brizantha*) cv. Marandu.

2.3 Obtaining the Plants

The seedlings of the tested genetic materials were produced in plastic trays containing commercial substrate (Carolina Soil®—Composition: Sphagnum turf, expanded vermiculite, dolomitic calcareum, agricultural gypsum and NPK fertilizer), where the seeds were deposited and remained for approximately 40 days. The plants were subsequently transplanted into rearing units that contained a substrate composed of soil, sand, and manure in a 3:1:1 ratio.

2.4 Obtaining Pest Insect Eggs

Spittlebugs of the species *D. schach* and *M. spectabilis* collected at the Experimental Field of Embrapa Gado de Leite served as the supply of live material for the tests, which were carried out in a greenhouse.

The adults of the insect pest were collected and transferred to the Entomology Laboratory at Embrapa Gado de Leite, separated by species, and placed in cages (30 × 30 × 55 cm). The forages (*Urochloa decumbens* to *D. schach* and *Cenchrus purpureus* to *M. spectabilis*) were kept inside the cage and served as the insect's feeding substrate. Furthermore, the base of the plant and the floor of the cage were covered with hydrophilic gauze, which was used as an oviposition substrate for the spittlebugs.

Every 4 or 5 days the plants were replaced and the gauze containing the eggs was removed and subjected to a jet of water over a set of sieves. The extracted eggs were withheld through a 400-mesh sieve. Then, the eggs were individualized, counted, and transferred to Petri dishes covered with filter paper and periodically moistened with a 1% copper-sulfate-based solution. The plates containing the eggs were identified with the date and the species of spittlebug, grouped in trays, and placed in a climate-controlled chamber at 25 ± 2 °C with a 12 h photophase and a relative humidity of $70 \pm 10\%$ until the eggs reached the S4 stage, when they were close to the nymph hatching point and were taken for experiments.

Table 1. Populations of *Urochoa ruzizensis* evaluated for resistance to *Deois schach* and *Mahanarva spectabilis* from 2008 to 2023, with the experimental design and total number of plants and plants per year.

Experiment	Species of spittlebug	Experimental design	Number of plants	Number of plants/year
POP01-2008	<i>M.spectabilis</i>	RCBD	270	270
POP02-2009	<i>M.spectabilis</i>	RCBD	148	
POP03-2009	<i>D. schach</i>	RCBD	84	
POP04-2009	<i>M.spectabilis</i>	FABD	552	784
POP05-2010	<i>D. schach</i>	RCBD	252	
POP06-2010	<i>M.spectabilis</i>	RCBD	430	
POP07-2010	<i>D. schach</i>	RCBD	216	
POP08-2010	<i>M.spectabilis</i>	FABD	297	
POP09-2010	<i>M.spectabilis</i>	RCBD	450	1645
POP10-2011	<i>M.spectabilis</i>	RCBD	180	180
POP11-2012	<i>M.spectabilis</i>	RCBD	102	
POP12-2012	<i>M.spectabilis</i>	RCBD	216	
POP13-2012	<i>D.schach</i>	RCBD	78	
POP14-2012	<i>M.spectabilis</i>	FABD	240	636
POP15-2013	<i>M.spectabilis</i>	FABD	640	
POP16-2013	<i>M.spectabilis</i>	RCBD	128	
POP17-2013	<i>M.spectabilis</i>	RCBD	240	
POP18-2013	<i>M.spectabilis</i>	RCBD	120	
POP19-2013	<i>M.spectabilis</i>	RCBD	408	1536
POP20-2014	<i>M.spectabilis</i>	RCBD	414	
POP21-2014	<i>M.spectabilis</i>	RCBD	240	
POP22-2014	<i>M.spectabilis</i>	FABD	24	
POP23-2014	<i>D.schach</i>	FABD	132	810
POP24-2015	<i>D.schach</i>	RCBD	315	
POP25-2015	<i>D.schach</i>	RCBD	428	
POP26-2015	<i>D.schach</i>	RCBD	368	1111
POP27-2016	<i>M.spectabilis</i>	FABD	200	
POP28-2016	<i>M.spectabilis</i>	RCBD	750	950
POP29-2017	<i>M.spectabilis</i>	RCBD	315	315
POP30-2018	<i>M.spectabilis</i>	RCBD	300	300
POP31-2019	<i>M.spectabilis</i>	FABD	539	
POP32-2019	<i>M.spectabilis</i>	RCBD	90	629
POP33-2020	<i>D.schach</i>	FABD	1673	1673
POP34-2021	<i>D.schach</i>	FABD	781	781
POP35-2022	<i>D.schach</i>	FABD	357	357
POP36-2023	<i>M.spectabilis</i>	FABD	1137	1137
Total plants evaluated			13114	

Federer augmented blocks design = FABD; Randomized complete block design = RCBD.

2.5 Conducting the Experiments

To evaluate the nymphal survival of spittlebugs, for experiments carried out between 2008 and 2013, *U. ruziziensis* plants (the seedlings obtained as described in Section 2.3) were grown for 60 days in spittlebug rearing units made of PVC measuring 5 cm in diameter × 8 cm in height. In experiments conducted between 2014 and 2019, plants were grown in plastic pots measuring 7.5 cm in diameter × 11 cm in height. The plants evaluated between 2008 and 2019 had the surface layer of soil removed with the aid of a water jet, ensuring the exposure of the superficial roots of the plants, which were the feeding sites for the nymphs of these cercopids.

In trials conducted between 2020 and 2023, the seedlings obtained as described in Section 2.3 were maintained in the same tubes (4 cm in diameter and 14 cm in height) for 60 days, and to stimulate the growth of the roots, which were the feeding sites for the nymphs of the insect pest, the lower part of the tube containing the plant to be evaluated was inserted over an empty tube with the same dimensions.

Each plant was infested with six eggs of the insect pest at stage S4, and to prevent the nymphs from escaping, the pots were properly closed, packed in trays, and kept in a greenhouse for a period that varied between 30 and 40 days, depending on the abiotic factors of the experimental period. After this period, surviving nymphs from the second to fifth instars were counted. The plants tested against insects were never re-evaluated in subsequent experiments. Only their descendants, obtained by crossing the genotypes, were selected. The abiotic factors were recorded with the aid of a data logger and transferred to a computer using HOBOWare® version 3.7.17 software (Onset Co., Ltd., Pocasset, MA, USA). In the experimental period, the mean temperature was 25.6 °C (minimum = 15.4 °C, maximum = 45.9 C) and the mean relative humidity was 80.2% (minimum = 29.6%, maximum = 98.5%) (Supplementary Table S1).

2.6 Experimental Design

The experimental design was completely randomized blocks or Federer-augmented blocks, depending on the selection cycle (Table 1). Nymphal development was allowed to proceed without interference until full maturity. The survival of nymphs from the second to fifth instars was evaluated following the adapted methodology described by Cardona et al. [24], where the number of live nymphs present in each pot was recorded to calculate the percentage nymph survival, which was then used to

classify the genotypes as resistant ($\leq 33\%$ survival) or susceptible ($> 33\%$). Genotypes considered resistant were selected, intercrossed, and their progenies propagated by seeds and evaluated in subsequent cycles.

2.7 Statistical Analysis

To compare the nymphal survival of *M. spectabilis* between the years, the data were tested by analysis of variance and the means were compared using the Scott Knott test at 5% probability, using SISVAR 5.1 software (Universidade Federal de Lavras-Minas Gerais, Brazil).

Additionally, the data also were analyzed using Henderson's linear mixed model approach [25]. The variance components were estimated using the residual maximum likelihood method, with significance verified using the likelihood ratio test at 5% probability. BLUE (*best linear unbiased estimator*) estimates were obtained for the fixed effects, and BLUP (*best linear unbiased predictor*) predictions were obtained for the random effects.

The individual analyses for each experiment considering the fixed control and random genotypes of the *U. ruziensiensis* were carried out using the lme4 package [26] in R software [27] according to the following statistical model:

$$y = 1\mu + X_t\beta_t + Z_bu_b + Z_gu_g + e, \quad (1)$$

where y is a vector of data; μ is a constant associated with the data; β_t is a vector of fixed effects of the population of regular genotypes and of the control; and u_b is a vector of block effects, where $u_b \sim N(0, I_b\sigma_b^2)$. I_b is an identity matrix of order b , where b is the number of blocks and σ_b^2 is the variance associated with the block effect; u_g is a vector of the effects of regular genotypes, where $u_g \sim N(0, I_g\sigma_g^2)$. I_g is an identity matrix of order g , where g is the number of regular genotypes of *U. ruziensiensis* and σ_g^2 is the variance associated with the effect of regular genotypes; e is the vector of errors, where $e \sim N(0, I_n\sigma_e^2)$. I_n is an identity matrix of order n , where n is the amount of useful data and σ_e^2 is the variance associated with the experimental error; $1, X_t, Z_b, Z_g$ represents the vectors of 1 s of order n , which are the design matrices of the effects β_t, u_b, u_g , respectively.

The following parameters were estimated from the individual analyses: the selective accuracy on genotype average ($r_{\bar{g}g}$) using the estimator [28]: $r_{\bar{g}g} = \sqrt{1 - \frac{PEV}{\sigma_g^2}}$,

where \overline{PEV} is the average variance of the prediction error associated with the genotype BLUP; the coefficient of experimental variation (CV_e) using the estimator (Pimentel-Gomes 2000) $CV_e = \frac{\sqrt{\hat{\sigma}_e^2}}{\bar{y}}$, where \bar{y} is the overall mean of each experiment; and the generalized heritability (h_L^2) of [29] on the genotype mean, given by $h_g^2 = 1 - \left[\frac{v_{BLUP}}{2 \times \hat{\sigma}_g^2} \right]$, where v_{BLUP} is the average variance of the prediction error of the difference between the BLUPs of two genotypes.

Genetic progress was then estimated using the method of the Vencovsky et al. [30], which is based on genotypes from the breeding population in two successive years. The average genetic gain (GG) per year relative to the previous year was estimated using the following equation:

$$GG = \frac{\sum_{k=1}^{n-1} (\bar{y}_j - \bar{y}_i) - (\bar{y}_{c_j} - \bar{y}_{c_i})}{n - 1} \quad (2)$$

where \bar{y}_i and \bar{y}_j are the averages of the regular genotypes in years i and j, respectively, where $j = i + 1$; and \bar{y}_{c_i} and \bar{y}_{c_j} are the averages of the genotypes of the *U. ruziziensis* in years i and j, respectively.

In addition, a graphical analysis of the percentage of genotypes associated with nymphal survival was carried out for the experiments conducted each year. With this information, for each year, the frequency of genotypes was divided into 2 groups of plants were considered, one composed of plants that showed nymphal survival equal to or less than 33% and the other with nymphal survival greater than 33%, following to the classification adapted established by Cardona et al. [24] for those genotypes that were considered resistant and susceptible, respectively.

3 Results

A discrepancy was observed in the nymphal survival of spittlebug nymphs fed on *U. brizantha* and *U. decumbens* plants, which were used as the resistant and susceptible controls, respectively. According to all the experiments, the average genotypic value for nymphal survival of the insects that fed on the cultivar Marandu (*U. brizantha*) was 55.18% of that observed when the host was the cultivar Basilisk (*U. decumbens*) (Table 2). The only exception was when the experiment was conducted in 2019, when the average genotypic values for nymphal survival were similar.

Table 2. Average genotypic values for nymphal survival of spittlebugs on *Urochoa ruziziensis* genotypes and resistant and susceptible control plants and estimates of genetic gain each year (year/year) or considering the first evaluation cycle (year/first year) in the period from 2008 to 2023.

Year	Average genotypic value \pm SE			Genetic gain (%)	
	Genotypes of <i>U. ruziziensis</i>	Standard		Year/year	Year/first year
		Resistant	Susceptible		
2008	63.73 \pm 2.4	35.00 \pm 8.03	66.67 \pm 10.54	-	-
2009	43.45 \pm 3.0	34.38 \pm 6.57	60.90 \pm 4.60	-31.81	-31.81
2010	50.80 \pm 4.0	22.04 \pm 5.68	50.10 \pm 4.99	16.91	11.53
2011	39.05 \pm 6.5	26.67 \pm 9.87	58.62 \pm 11.48	-23.14	-18.45
2012	50.75 \pm 6.4	45.21 \pm 6.34	56.71 \pm 5.44	29.96	18.36
2013	58.91 \pm 4.1	30.93 \pm 4.49	60.43 \pm 4.74	16.09	12.81
2014	51.42 \pm 6.5	25.83 \pm 2.69	66.76 \pm 3.41	-12.72	-11.76
2015	60.84 \pm 2.5	55.79 \pm 7.48	76.60 \pm 5.83	18.32	14.78
2016	40.55 \pm 3.9	40.00 \pm 7.18	75.00 \pm 9.69	-33.36	-31.84
2017	29.67 \pm 5.2	36.67 \pm 13.33	63.33 \pm 6.24	-26.81	-17.06
2018	37.00 \pm 7.6	0.00 \pm 0.00	26.67 \pm 19.44	24.68	11.49
2019	51.55 \pm 8.4	46.69 \pm 5.08	46.28 \pm 5.01	39.32	22.83
2020	18.02 \pm 1.2	19.57 \pm 4.10	35.51 \pm 4.64	-65.05	-52.62
2021	23.67 \pm 1.4	9.77 \pm 2.93	25.29 \pm 4.58	31.41	8.88
2022	42.40 \pm 2.5	37.88 \pm 8.44	57.58 \pm 11.32	79.11	29.39
2023	32.83 \pm 2.2	14.35 \pm 5.79	44.91 \pm 7.04	-22.59	-15.03
Average	43.41 \pm 4.24	30.05 \pm 6.13	54.46 \pm 7.44		
Genetic gain				-1.00	-15.00

* Initial plant population—no data to estimate gain. For genetic gain, negative values (-) indicate a reduction in the survival of the insect pest and positive values (+) indicate an increase in the survival of the insect pest in the evaluated population.

The general averages, considering all the experiments carried out during the study period, for the genotypic value for nymphal survival of *D. schach* and *M. spectabilis* nymphs were 43.41% when fed on the different genotypes of *U. ruziziensis* and 30.05% and 54.46% for the resistant and susceptible controls, respectively. Even though it is considered resistant, the Marandu cultivar provided conditions for the development of insects (Table 2), but the average survival rate was less than 33%.

In each of the experiments conducted in different years, variability was observed between the genotypes of *U. ruziziensis* that arose from different selection cycles ($F = 124.6$; $p < 0.0001$, $df = 15$). In the first trial, carried out in 2008, a 41 to 100% variation in the nymphal survival of the insect pest was observed, with an average of 63.72% for the genotypic value for nymphal survival, which was the highest average for the period

from 2008 to 2023, characterized as a population of plants susceptible to spittlebugs (Table 2, Figure 1).

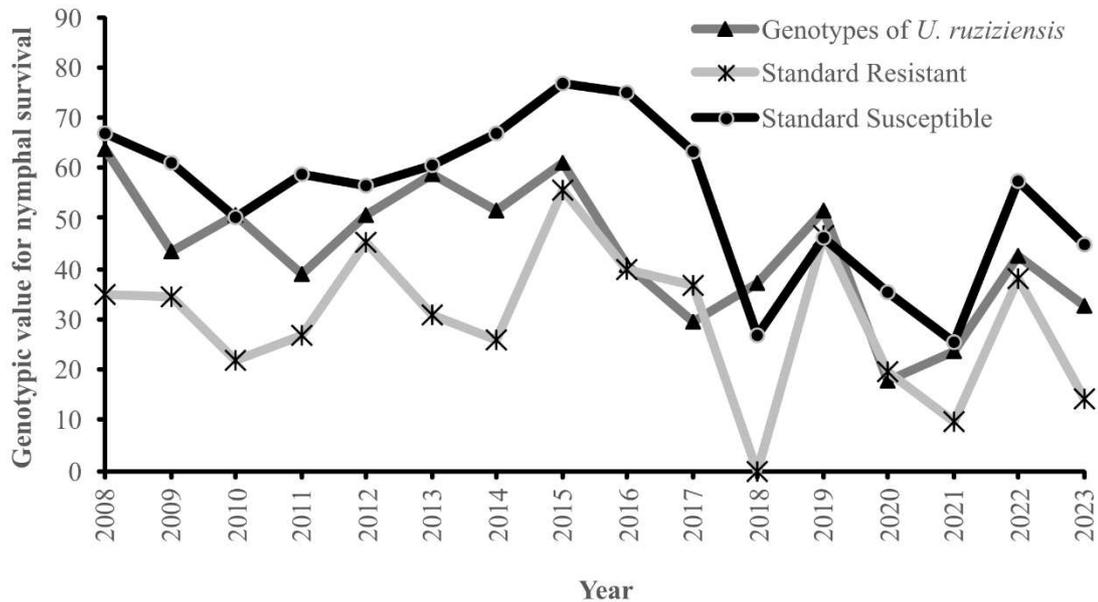


Figure 1. Average genotypic value for the nymphal survival of spittlebugs in genotypes of *Urochloa ruziziensis*, the resistance standard, and the susceptible standard evaluated over 16 cycles of recurrent selection

In successive experiments conducted over the years, a reduction in nymphal survival was observed, demonstrating the success of the selection of *U. ruziziensis* plants, given that the improved plants were unfavorable to the development of insects in each cycle. The lowest averages ($F = 124.6$; $p < 0.0001$; $df = 15$) for nymphal survival were observed in assessments carried out in 2020 and 2021, followed by 2017, 2018, and 2023 (Table 1, Figure 1). Although the average genotypic value for the nymphal survival of the improved genotypes was always lower than that of the initial plant population, the sets of plants evaluated in 2010, 2012, 2013, 2015, 2018, 2019, 2021, and 2022 showed increases in the average genotypic value of nymphal survival in relation to the population tested in the previous year (Table 2, Figure 1).

According to the data from the first and last years, there was a reduction of 51.49% in the genotypic value of survival spittlebug nymphs that fed on *U. ruziziensis* plants. In other words, the original population presented a genotypic value of 63.73%, while for the improved population this value was 32.83% on average (Table 2, Figure 1).

Given the genetic variability of *U. ruzizensis*, it was possible to estimate the genetic gain from selection using the genotypic value for the nymphal survival of spittlebug nymphs (Table 2). The heritability (h^2_g) was estimated and varied from 38.40 to 12.20 for the genotypic values of nymphal survival in the *U. ruzizensis* genotypes tested between 2008 and 2023. The selective accuracy values were moderate to high in 80% of the evaluated population.

Excluding the environmental component present in the evaluations, the estimate of the genetic gain with the selection of plants less favorable to the development of spittlebug nymphs was 15%, with a 1% gain per year (Table 2).

The increase in the number of individuals with the desired phenotype was also observed graphically, as shown in figures 2 and 3. In the first evaluation, which was carried out in 2008, no plants were observed in the 16.7 and 33% nymphal survival classes. In contrast, according to the data from the 2023 population assessments, the majority of the tested plants exhibited this phenotype, that is, low insect survival. More than 50% of the plants evaluated in the first 8 years of selection, that is, between 2008 and 2015, had nymphal survival greater than 33%. In populations evaluated between 2016 and 2023, excluding only the population evaluated in 2019, more than 50% of the tested genotypes had nymphal survival rates less than 33%, reinforcing the greater possibility of identifying and selecting resistant materials in improved populations due to the increase in the frequency of resistance genes to spittlebugs (Figure 2). Recurrent selection contributed to a considerable increase in the number of genotypes resistant to the insect pest, considering that after 16 selection cycles in POP36-2023, approximately 63% of the genotypes, a total of 716 plants, had nymphal survival equal to or less than 33% (Figures 2 and 3).

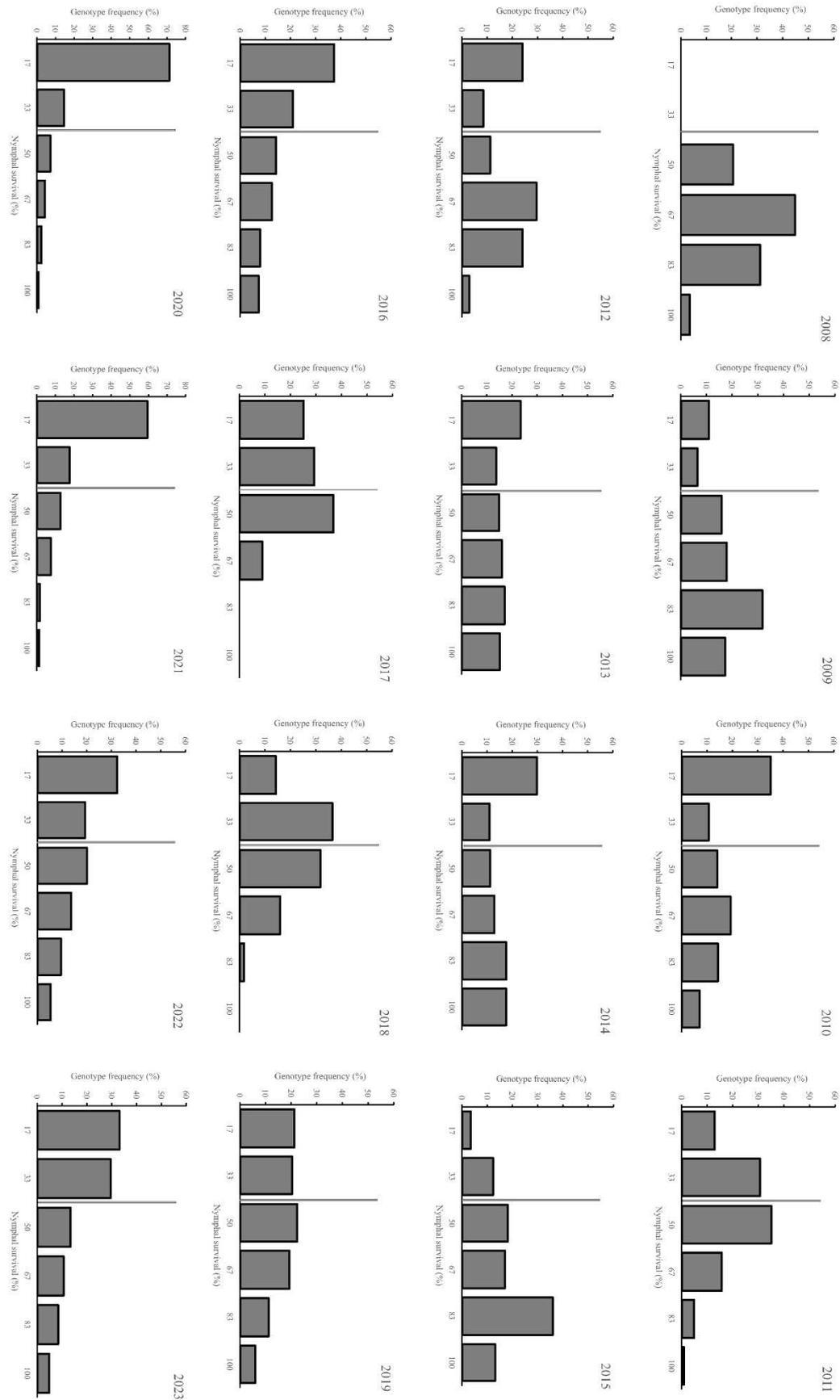


Figure 2. Annual frequency distribution of genotypes (%) of *Urochloa ruziziensis* with nymphal survival greater than 33% (susceptible) or equal to or less than 33% (resistant) between 2008 and 2023.

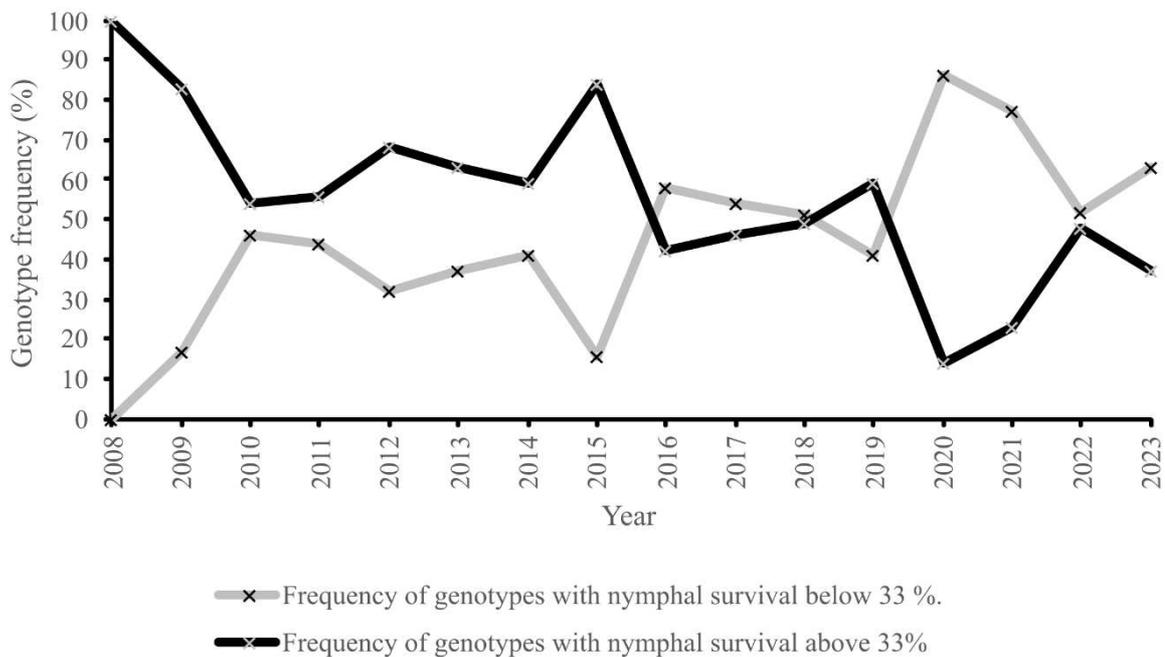


Figure 3. Frequency distribution of genotypes (%) of *Urochloa ruziziensis* with nymphal survival greater than 33% (susceptible) or equal to or less than 33% (resistant).

4 Discussion

Although *U. ruziziensis* has good nutritional quality and is accepted by livestock, this forage species was practically abandoned by rural producers at the end of the last century. Among the main reasons for this abandonment was its susceptibility to spittlebugs [31]. In the early 2000s, however, *U. ruziziensis* began to be cultivated again, its planted area annually expanding, and is currently the main forage species used in integrated cultivation systems involving crops, livestock, and forestry (ILPF) [31]. As it is fully diploid and sexual, unlike other species of the genus, the generation and use of genetic variability is more viable. This approach facilitates and favors genetic improvement, which has achieved considerable gains for different traits of forage importance, based on the phenotypic recurrent selection strategy. Even for resistance to spittlebugs, the main pest that attacks this forage in Brazil, the results of the selection cycles were promising [32].

With this plant improvement strategy, it is possible to evolve from a population of plants susceptible to spittlebugs to an improved population in which more than 60% of the plants are considered resistant to the insect pest (Figures 2 and 3). Cardona et al. [24] studied the resistance of the genus *Urochloa* to spittlebugs and established that plants with a nymphal survival percentage less than 33% should be considered resistant to this pest. This category includes, for example, the cultivar Marandu (*U.*

brizantha), which is considered a standard of resistance to spittlebugs in Brazilian growing conditions. In the first assessment of resistance to spittlebugs, which was carried out in 2008, 100% of the genotypes showed nymphal survival greater than 33%. After 16 selection cycles, approximately 63% of the plants showed nymphal survival less than 33% and were considered resistant to spittlebugs. In the second assessment, 100% of the genotypes showed nymphal survival greater than 33%. After 16 selection cycles, approximately 63% of the plants showed nymphal survival less than 33% and were considered resistant to spittlebugs (Figures 1–3).

The average genotypic values for nymphal survival obtained for the Basilisk and Marandu cultivars reinforced the idea of them being representative cultivars of susceptibility and resistance to spittlebugs, respectively, and demonstrated that these cultivars were suitable for use as standards in our study (Table 2, Figure 1). These results reinforce the efficiency of the evaluations and the ability of the methodology to detect differences in the genotypic value for the nymphal survival of spittlebug nymphs in host *Urochloa* plants over 16 cycles of recurrent selection.

Similar results showing increases in resistance to spittlebugs for *Urochloa* species via recurrent phenotypic selection have already been reported by other authors [33–40].

Employing this same improvement strategy, Miles et al. [34] managed to identify promising *Urochloa* plants in terms of resistance to spittlebugs, starting from the fifth selection cycle. In the current work, in the second selection cycle, it was verified that almost 20% of the evaluated genotypes were considered resistant to spittlebug nymphs, and from the eighth selection cycle onward, at least 50% of the evaluated materials showed nymphal survival less than 33% and were therefore considered resistant. In this context, it is important to highlight the unprecedented fact of this research, in which 16 cycles of recurrent selection of *U. ruziziensis* were conducted, increasing the reliability of the genotypes selected as resistant to spittlebugs.

According to Miles et al. [34], there is a need for subsequent cycles to increase favorable alleles for resistance to spittlebugs. This increase in favorable alleles within the improved population makes it possible, in practice, to more easily identify individuals who present the desired phenotypic characteristics as they become more frequent. This fact is evidenced in the present work, in which in subsequent cycles of recurrent selection, the evaluated genotypes promoted a considerable reduction in the survival of *D. schach* and *M. spectabilis* nymphs. The recurrent selection strategy has

been used successfully in several crops with varied objectives, always aiming to increase the allelic frequency and, consequently, favorable genotypes within the improved population [41–44].

The heritability was considered moderate-to-high according to the classification proposed by Resende 2002 [45]. Heritability indicates the degree by which individuals pass their traits over the generations and can also imply something about the genetic control of traits. In this sense, a high heritability value indicates that there is a good chance of genetic gain from selection [46].

The mean heritability for clones from the initial population was 38.40% for the average genotype value for nymphal survival, showing that the variability of plant resistance traits against *D. schach* and *M. spectabilis* can be transferred to subsequent generations. Also, these results indicate the efficiency of selection within *U. ruziziensis* for plant resistance traits. Similarly, Silva et al. [47] reported a high heritability for the resistance traits of *U. ruziziensis* against *Collaria oleosa* (Hemiptera: Miridae).

According to Juhász et al. [48], accuracy refers to the correlation between the expected genetic values and the true genetic value of an individual. The higher the accuracy to a given individual, the higher the reliability of the assessment and the expected genetic value, as well as the higher the gain from selection. In the current work, we estimated a value above 60% for the genotypic values of nymphal survival in the *U. ruziziensis* genotypes tested, reinforcing the reliability of the results.

The estimated gain from selection is influenced, among other factors, by the heritability of the trait under consideration and the intensity of selection applied to each cycle [42,49–51]. In all selection cycles carried out within the breeding program, an average selection intensity was adopted, in the range of 20% of the individuals evaluated. This association led to an estimate of genetic gain with selection of 1% per year, that is, a 15% gain in the period evaluated (Table 2), indicating that within the improved population, there is, over time, an increase in the frequency of favorable alleles related to resistance to cercopid nymphs favoring their selection in future cycles.

Recurrent phenotypic selection is a method that allows the insertion of new sources of variability throughout breeding cycles [42,50]; this method is efficient for the improvement of forage plants and can be verified in the working population of *U. ruziziensis* under evaluation in this work. The genetic improvement of any plant species aims to increase different characteristics to obtain a product that meets demand, and

different characteristics generally increase in each species. These different characteristics can occur at the same time or in isolation [50,52].

When selection is carried out for different traits at the same time, normally, the gains obtained for each trait are smaller than they would be if they were carried out individually, even if heritability is high [50,52]. The improvement of *U. ruziziensis* aims to obtain cultivars that combine high production, high biomass quality, and tolerance to the main abiotic stresses, such as drought, cold, and toxic aluminum, and biotic stresses [32]. As a result, the estimated gains from selection for resistance to the insect pest in this work were not linear over the years (Figure 1). Although unfavorable, these results were expected within the breeding strategy used, as recurrent selection was not based solely on resistance to the insect and there was interest in introducing other alleles into the population.

It was observed that in years in which greater emphasis was placed on the selection of plants resistant to spittlebugs, the gains obtained for this characteristic were more pronounced, which was the case for populations evaluated between 2008 and 2009, 2016 and 2017, and 2019 and 2020. Conversely, when selection did not prioritize this characteristic or new genotypes were inserted into the working population aiming to increase the genetic variability, the gain estimates for resistance to spittlebugs were unfavorable and there was an increase in the nymphal survival of the insect pest. Similar results for a reduction in the average number of populations improved by the introduction of genetic variability from germplasm banks or other sources have been commonly noted in different crops [52,53].

According to Souza Sobrinho et al. [31], improved forages contribute to the food security of livestock by reducing the chances of limited forage availability due to pest attacks and by providing alternative cultivars, thereby reducing the genetic vulnerability that occurs when cultivating large areas with just one or a few forage species/cultivars. It is therefore suggested that the improved population in the current research be subjected to a new stage, in which it will be cloned and subjected to attack by the insect pest in order to confirm the resistance of *U. ruziziensis*, guaranteeing the producer a reduction in the problems caused by spittlebug.

It can be observed from the results of this work that the gains from selection for resistance to pasture spittlebugs in *U. ruziziensis* are considerable and of great relevance for this forage species. Therefore, the strategy adopted by the *U. ruziziensis* breeding program is efficient, resulting in gains for most of the characteristics evaluated

throughout the cycles. In the current improved population (POP36-2023), new cultivars that combine important forage characteristics, such as resistance to spittlebugs, are expected, which seemed impossible or at least unlikely a few years ago.

5 Conclusions

Thus, after 16 cycles of recurrent selection, it became possible to identify 716 genotypes of *U. ruziziensis* with nymphal survival rates less than 33%, that is, those resistant to *D. schach* and *M. spectabilis*, enabling the development of a cultivar resistant to these spittlebugs.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/agronomy14071516/s1>, Table S1: Abiotic factors of the greenhouse where the experiments were conducted.

Author Contributions: T.T.R.: Data curation, Investigation, Methodology, Visualization, Writing; F.S.S.: Conceptualization, Data curation, Investigation, Methodology, Visualization, Writing; M.O.C.: Investigation, Writing—review and editing; B.A.V.: Investigation, Writing—review and editing; L.A.C.: Investigation, Writing—review and editing; F.M.A.G.: Static analysis; J.A.R.N.: Static analysis; A.M.A.: Conceptualization, Data curation, Funding acquisition, Investigation, Methodology, Project administration, Resources, Visualization, Writing. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: The authors express their gratitude to Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Brazil (Finance Code 307956/2023-7), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais—FAPEMIG, Brazil (Finance Code CAG APQ-00732-18; APQ-03630-23), and Associação para o Fomento à Pesquisa de Melhoramento de Forrageiras—UNIPASTO, Brazil.

Data Availability Statement: The datasets generated or evaluated during this study are available from the first author upon reasonable request.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Simeão, R.; Silva, A.; Valle, C.; Resende, M.D.; Medeiros, S. Genetic Evaluation and Selection Index in Tetraploid *Brachiaria ruziziensis*. *Plant Breed.* 2016, 135, 246–253. [CrossRef]
2. Martha, G.B., Jr.; Alves, E.; Contini, E. Land-Saving Approaches and Beef Production Growth in Brazil. *Agric. Syst.* 2012, 110, 173–177. [CrossRef]
3. Wenzl, P.; Patiño, G.M.; Chaves, A.L.; Mayer, J.E.; Rao, I.M. The High Level of Aluminum Resistance in Signal-grass Is Not Associated with Known Mechanisms of External Aluminum Detoxification in Root Apices. *Plant Physiol.* 2001, 125, 1473–1484. [CrossRef] [PubMed]
4. Wenzl, P.; Mancilla, L.I.; Mayer, J.E.; Albert, R.; Rao, I.M. Simulating Infertile Acid Soils with Nutrient Solutions. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 2003, 67, 1457–1469. [CrossRef]
5. Rao, I.; Miles, J.W.; García, R.; Ricaurte, J. Selección de Híbridos de *Brachiaria* Con Resistencia a Aluminio. *Pasturas Trop.* 2006, 28, 20–25.
6. Souza Sobrinho, F.; Auad, A.M.; Lédo, J.F.S. Brazilian Society of Plant Breeding. Printed in Brazil Genetic Variability in *Brachiaria ruziziensis* for Resistance to Spittlebugs. *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* 2010, 10, 83–88. [CrossRef]
7. Serrão, E.A.S.; Neto, M.S. Informações Sobre Duas Espécies de Gramíneas Forrageiras Do Gênero *Brachiaria* Na Amazônia: *B. Decumbens* Stapf e *B. ruziziensis* Germain et Everard; Instituto de Pesquisa e Experimentação Agropecuária do Norte: Belém, Brazil, 1971.
8. Pessoa-Filho, M.; Azevedo, A.L.S.; Sobrinho, F.S.; Gouvea, E.G.; Martins, A.M.; Ferreira, M.E. Genetic Diversity and Structure of Ruzigrass Germplasm Collected in Africa and Brazil. *Crop Sci.* 2015, 55, 2736–2745. [CrossRef]
9. Keller-Grein, G.; Maass, B.L.; Hanson, J. Natural Variation in *Brachiaria* and Existing Germplasm Collections. In *Brachiaria: Biology, Agronomy, and Improvement*; Miles, J.W., Maass, B.L., Valle, C.B., Eds.; Centro Internacional de Agricultura Tropical: Cali, Colombia, 1996; pp. 16–42.
10. Lascano, V.P.B.; Euclides, C.E. Nutritional Quality and Animal Production of *Brachiaria* Pastures. In *Brachiaria: Biology, Agronomy, and Improvement*; Miles, J.W., Maass, B.L., Valle, C.B., Eds.; Centro Internacional de Agricultura Tropical: Cali, Colombia, 1996; pp. 106–123.
11. Schöbel, C.; Carvalho, G.S. Niche Modeling of Economically Important *Mahanarva* (Hemiptera, Cercopidae) Species in South and Central America: Are Brazilian Spittlebug Sugarcane Pests Potential Invaders of South and Central America? *J. Econ. Entomol.* 2019, 113, 115–125. [CrossRef] [PubMed]
12. Souza Sobrinho, F. Melhoramento de Forrageiras No Brasil. In *Forragicultura e Pastagens: Temas em Evidência*; Evangelista, A.R., Amaral, P.N.C., Padovani, R.F., Tavares, V.B., Salvador, F.M., Peron, A.J., Eds.; UFLA: Lavras, Brazil, 2005; pp. 65–120.
13. Sotelo; Paola, A.; María, F.; Miller, A.F.; Cardona, C.; Miles, J.W.; Sotelo, P.A.; Sotelo, G.; Montoya, J. Sublethal Effects of Antibiosis Resistance on the Reproductive Biology of Two Spittlebug (Hemiptera: Cercopidae) Species Affecting *Brachiaria* spp. *J. Econ. Entomol.* 2008, 101, 564–568. [CrossRef]

14. Valério, J.; Cardona, C.; Peck, D.; Sotelo, G. Spittlebugs: Bioecology, Host Plant Resistance and Advances in IPM. In Proceedings of the International Grassland Congress, Sao Paulo, Brazil, 11–21 February 2001; FEALQ: Piracicaba, Brazil, 2001; pp. 217–221.
15. Resende, T.T.; Auad, A.M.; Fonseca, M.G. How Many Adults of *Mahanarva spectabilis* (Hemiptera: Cercopidae) Should Be Used for Screening *Brachiaria ruziziensis* (Poales: Poaceae) Resistance? J. Econ. Entomol. 2014, 107, 396–402. [CrossRef]
16. Aguiar, D.D.M.; Auad, A.M.; Fonseca, M.G.; Leite, M.V. *Brachiaria ruziziensis* Responses to Different Fertilization Doses and to the Attack of *Mahanarva spectabilis* (Hemiptera: Cercopidae) Nymphs and Adults. Sci. World J. 2014, 2014, 543813. [CrossRef] [PubMed]
17. Thompson, V. Associative Nitrogen Fixation, C 4 Photosynthesis, and the Evolution of Spittlebugs (Hemiptera: Cercopidae) as Major Pests of Neotropical Sugarcane and Forage Grasses. Bull. Entomol. Res. 2004, 94, 189–200. [CrossRef] [PubMed]
18. Auad, A.M.; de Carvalho, C.A.; da Silva, D.M.; Deresz, F. Flutuação Populacional de Cigarrinhas-das-Pastagens Em Braquiária e Capim-Elefante. Pesqui. Agropecu. Bras. 2009, 44, 1205–1208. [CrossRef]
19. Buitrago, P.A.E.; Manzano, M.R.; Hernández, L.M. Spittlebugs (Hemiptera: Cercopidae): Integrated Pest Management on Gramineous Crops in the Neotropical Ecozone. Front. Sustain. Food Syst. 2022, 6, 891417. [CrossRef]
20. Pereira, J.F.; Azevedo, A.L.S.; Pessoa-Filho, M.; Romanel, E.A.D.C.; Pereira, A.V.; Vigna, B.B.Z.; Souza, F.D.; Benites, F.R.G.; Ledo, F.J.D.S.; Brito, G.G.D.; et al. Research Priorities for Next-Generation Breeding of Tropical Forages in Brazil. Crop Breed. Appl. Biotechnol. 2018, 18, 314–319. [CrossRef]
21. Cardona, C.; Sotelo, G. Mecanismos de Resistencia a Insectos: Naturaleza e Importancia En La Formulación de Estrategias de Mejoramiento Para Incorporar Resistencia a Salivazo En Brachiaria. Pasturas Trop. 2005, 27, 2.
22. Barnes, D.K.; Goplen, B.P.; Baylor, J.E. Highlights in the USA and Canada. In Alfalfa and Alfalfa Improvement; Hanson, A.A., Barnes, D.K., Jr., Hill, R.R., Eds.; American Society of Agronomy: Madison, WI, USA, 1988.
23. Casler, M.D.; Pedersen, J.F.; Eizenga, G.C.; Stratton, S.D. Germplasm and Cultivar Development. In Cool-Season Forage Grasses; Moser, L.E., Buxton, D.R., Casler, M.D., Eds.; American Society of Agronomy: Madison, WI, USA, 1996.
24. Cardona, C.; Miles, J.W.; Sotelo, G. An Improved Methodology for Massive Screening of *Brachiaria* spp. Genotypes for Resistance to *Aeneolamia varia* (Homoptera: Cercopidae). J. Econ. Entomol. 1999, 92, 490–496. [CrossRef]
25. Mrode, R.; Thompson, R. Linear Models for the Prediction of Animal Breeding Values; Mrode, R., Ed.; CABI: Oxfordshire, UK, 2014; ISBN 9781780643915.
26. Bates, D.; Mächler, M.; Bolker, B.; Walker, S. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using Lme4. J. Stat. Softw. 2015, 67, 1–48. [CrossRef]
27. R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing; Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria, 2022.

28. Resende, M.D.V.; Duarte, J.B. Precisão e Controle de Qualidade Em Experimentos de Avaliação de Cultivares. *Pesqui. Agropecuária Trop.* 2007, 37, 182–194.
29. Cullis, B.R.; Smith, A.B.; Coombes, N.E. On the Design of Early Generation Variety Trials with Correlated Data. *J. Agric. Biol. Environ. Stat.* 2006, 11, 381–393. [CrossRef]
30. Vencovsky, R.; Moraes, A.; Garcia, J.; Teixeira, N. Progresso Genético Em Vinte Anos de Melhoramento Do Milho No Brasil. In *Proceedings of the 9o Congresso de Milho e Sorgo, Anais*; EMBRAPA-CNPMS: Sete Lagoas, Brazil, 1986; pp. 300–307.
31. Souza Sobrinho, F.; Auad, A.M.; Santos, A.M.B.; Gomide, C.A.M.; Martins, C.E.; Castro, C.R.T.; Paciullo, D.S.C.; Benites, F.R.G.; Rocha, W.S.D. *Boletim Técnico*; Embrapa: Juiz de Fora, Brazil, 2022.
32. Souza Sobrinho, F.; Benites, F.R.G. Melhoramento Genético de *Brachiaria ruziziensis*: Histórico e Estratégias. In *Tópicos Especiais em Ciência Animal IV*; Martins, C.B., Deminicis, B.B., Moreira, G.R., Mendonça, P.P., Eds.; CAUFES: Alegre, Brazil, 2016; pp. 309–329.
33. Cardona, C.; Fory, P.; Sotelo, G.; Pabon, A.; Diaz, G.; Miles, J.W. Antibiosis and Tolerance to Five Species of Spittlebug (Homoptera: Cercopidae) in *Brachiaria* spp.: Implications for Breeding for Resistance. *J. Econ. Entomol.* 2004, 97, 635–645. [CrossRef] [PubMed]
34. Miles, J.W.; Cardona, C.; Sotelo, G. Recurrent Selection in a Synthetic *Brachiaria* grass Population Improves Resistance to Three Spittlebug Species. *Crop Sci.* 2006, 46, 1088–1093. [CrossRef]
35. Auad, A.M.; Resende, T.T.; Santos, D.R.; Souza Sobrinho, F.; Fonseca, M.G.; Madalena, I.S.P. Seleção de Clones de *Brachiaria ruziziensis* resistentes à *Deois flavopicta* (Hemiptera: Cercopidae). In *Proceedings of the 48a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Belém, Brazil, 18–21 July 2011*.
36. Auad, A.M.; Souza Sobrinho, F.; Resende, T.T.; Benites, F.R.G. Seleção de Clones de *Brachiaria ruziziensis* Quanto a Resistência à *Mahanarva Spectabilis*. In *Proceedings of the XXII Congresso de Pós graduação da UFLA, Lavras, Brazil, 14–18 October 2013*; p. 4.
37. Auad, A.M.; Resende, T.T.; Souza Sobrinho, F.; Toledo, A.M.O.; Lucindo, T.S. Identificação De *Brachiaria ruziziensis* resistentes à *Mahanarva spectabilis* (Hemiptera: Cercopidae): Quarto Ciclo de Seleção. In *Proceedings of the XXXVII Semana de Biologia da UFJF, Juiz de Fora, Brazil, 10–14 November 2014*.
38. Auad, A.M.; Souza Sobrinho, F.; Fonseca, M.G.; Resende, T.T.; Parchen, H.A.; Rodrigues, B.S.; Lucindo, T.S. Seleção de Populações de *Brachiaria ruziziensis* (Germain & Edvard) Quanto à Resistência a *Deois schach* (Fabricius, 1787) (Hemiptera: Cercopidae). In *Proceedings of the Semana De Biologia Da UFJF, Juiz de Fora, Brazil, 19–25 October 2015*.
39. Auad, A.M.; Resende, T.T.; Souza Sobrinho, F.; Silva, S.E.B.; Claudino, S.S.; Rodrigues, B.S. Seleção de Genótipos de *Brachiaria ruziziensis* (Germain & Evrard) Resistentes à *Mahanarva spectabilis* (Distant, 1909) (Hemiptera: Cercopidae). In *Proceedings of the XXV Congresso de Pós Graduação da UFLA, Lavras, Brazil, 22–27 November 2016*.

40. Toledo, A.M.O.; Auad, A.M.; Fonseca, C.S.; Souza Sobrinho, F.; Resende, T.T.; Rodrigues, B.S.; Borges, R.A. Seleção de Genótipos de *Brachiaria ruziziensis* (Germain & Edvard) Resistentes à *Deois schach* (Fabricius, 1787) (Hemiptera:Cercopidae). In Proceedings of the Semana de Biologia da UFJF, Juiz de Fora, Brazil, 19–25 October 2015; pp. 1–3.
41. Berilli, A.P.C.G.; Pereira, M.G.; dos Trindade, R.S.; da Costa, F.R.; Cunha, K.S.D. Resposta a Seleção No 11o Ciclo de Seleção Recorrente Recíproca Entre Famílias de Irmãos completos de Milho. *Acta Sci. Agron.* 2013, 35, 435–441. [CrossRef]
42. Ramalho, M.A.P.; Santos, J.B.; Pinto, C.A.B.P. *Genética Na Agropecuária*, 2nd ed.; UFLA: Lavras, Brazil, 2000.
43. Pereira de Castro, A.; Breseghello, F.; Furtini, I. Population Improvement via Recurrent Selection Drives Genetic Gain in Upland Rice Breeding. *Heredity* 2023, 131, 201–210. [CrossRef] [PubMed]
44. Fritsche-Neto, R.; Sabadin, F.; DoVale, J.C.; Borges, K.L.R.; de Souza, P.H.; Crossa, J.; Garbuglio, D.D. Realized Genetic Gains via Recurrent Selection in a Tropical Maize Haploid Inducer Population and Optimizing Simultaneous Selection for the next Cycles. *Crop Sci.* 2023, 63, 2865–2876. [CrossRef]
45. Resende, M.D.V. *Software Selegen-Reml/Blup*; Embrapa Floresta: Colombo, Brazil, 2002; p. 67.
46. Missio, R.F.; Dias, L.A.S.; Moraes, M.L.T.; Resende, M.D.V. Selection of *Pinus caribaea* Var. *Bahamensis* Progenies Based on the Predicted Genetic Value. *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* 2004, 4, 399–407. [CrossRef]
47. Silva, D.M.; de Moraes, J.C.; Auad, A.M.; das Fonseca, M.G.; Souza Sobrinho, F. Genetic Variability of *Brachiaria ruziziensis* Clones to *Collaria oleosa* (Hemiptera: Miridae) Based on Leaf Injuries. *Am. J. Plant Sci.* 2013, 4, 2418–2424. [CrossRef]
48. Juhász, A.C.P.; de Moraes, D.L.B.; Soares, B.O.; Pimenta, S.; de Rabello, H.O.; de Resende, M.D.V. Parâmetros Genéticos e Ganho Com a Seleção Para Populações de Pinhão Manso (*Jatropha curcas*). *Pesqui. Florest. Bras.* 2010, 30, 25–35. [CrossRef]
49. Vencovsky, R.; Barriga, P. *Genética Biométrica No Fito Melhoramento*; Sociedade Brasileira de Genética: Ribeirão Preto, Brazil, 1992.
50. Borém, A. *Melhoramento de Plantas*, 20th ed.; UFV: Viçosa, Brazil, 1997.
51. Cruz, C.D.; Carneiro, P.C. *Modelos Biométricos Aplicados Ao Melhoramento de Plantas*; Ceres: Viçosa, Brazil, 2003.
52. Fradgley, N.; Gardner, K.A.; Bentley, A.R.; Howell, P.; Mackay, I.J.; Scott, M.F.; Mott, R.; Cockram, J. Multi-Trait Ensemble Genomic Prediction and Simulations of Recurrent Selection Highlight Importance of Complex Trait Genetic Architecture for Long-Term Genetic Gains in Wheat. *Silico Plants* 2023, 5, diad002. [CrossRef]
53. Benites, F.R.G.; Pinto, C.A.B.P. Genetic Gains for Heat Tolerance in Potato in Three Cycles of Recurrent Selection. *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* 2011, 11, 133–140. [CrossRef]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

3 CAPÍTULO 2

Validação da resistência às cigarrinhas-das-pastagens em progênies de *Urochloa ruziziensis* (Poales: Poaceae) após dezesseis ciclos de seleção recorrente

RESUMO

As gramíneas forrageiras são a base da alimentação do rebanho bovino brasileiro. Apesar de possuírem boa palatabilidade e qualidade, a maioria dessas forrageiras é suscetível às cigarrinha-das-pastagens. Dessa forma, o presente estudo foi desenvolvido com objetivo de validar a população melhorada de *Urochloa ruziziensis*, oriunda de dezesseis ciclos de seleção recorrente, quanto a resistência às ninfas de *Deois schach* (Fabricius) e *Mahanarva spectabilis* (Distant) (Hemiptera: Cercopidae). Além das progênies melhoradas, avaliou-se a sobrevivência ninfal em *U. ruziziensis* comercial, cv Kennedy (tratamento controle). O experimento foi conduzido em blocos, e foram avaliadas 54 progênies melhoradas de *U. ruziziensis* quanto à resistência a *D. schach* e, 87 progênies quanto à resistência a *M. spectabilis*. Dentre esses materiais, foram avaliadas simultaneamente 52 progênies quanto à resistência as duas espécies de cigarrinhas-das-pastagens. Cada planta foi infestada com seis ovos do inseto-praga, no último estágio embrionário (S4), e mantidas em casa de vegetação por 35 dias. Após esse período a sobrevivência das ninfas do primeiro ao quinto instar foi avaliada e a partir desses dados foi calculada a sobrevivência ninfal. Para a espécie *D. schach* a sobrevivência ninfal média nas diferentes progênies variou de 19 a 64%, com média geral de 36,3%. Já para *M. spectabilis*, a média geral da sobrevivência ninfal foi de 25,4% com uma amplitude de 0 a 57%. Constatou-se que 21 progênies foram classificadas como resistentes a *D. schach* (Sobrevivência ninfal inferior a 33%) e 73 progênies resistentes à *M. spectabilis*. Além disso, foram identificadas 19 progênies simultaneamente resistentes as duas espécies dos insetos-praga. A sobrevivência ninfal das cigarrinhas-das-pastagens na população de *U. ruziziensis* melhorada foi significativamente inferior à da *U. ruziziensis* comercial, demonstrando a eficácia da seleção recorrente para obtenção de forrageiras resistentes a esses cercopídeos. A população obtida pelo

programa de melhoramento de forrageiras está cada vez mais próxima da obtenção de cultivares de *U. ruziziensis* resistentes às ninfas de *D. schach* e de *M. spectabilis*.

Palavras-chave: cercopídeos; forrageiras; insetos-praga

ABSTRACT

Forage grasses constitute the primary diet of Brazilian cattle. Although they offer good palatability and nutritional quality, the majority are highly susceptible to pasture spittlebugs. Therefore, this study was conducted with the objective of validate the progeny of *Urochloa ruziziensis* genotypes from sixteen cycles of recurrent selection for resistance to the nymphs of *Deois schach* (Fabricius) and *Mahanarva spectabilis* (Distant) (Hemiptera: Cercopidae). Genotypes of *U. ruziziensis* from 16 cycles of selection for resistance to spittlebug from Embrapa Gado de Leite's forage improvement program were used in this research. In addition to the improved genotypes, nymphal survival was assessed in commercial *U. ruziziensis*, cv Kennedy. The experiment was conducted in completely randomized blocks, and 54 improved genotypes of *U. ruziziensis* were evaluated for resistance to *D. schach* and 87 genotypes for resistance to *M. spectabilis*. Of these materials, 52 genotypes were evaluated simultaneously for their resistance to the two species of spittlebug. Each plant was infested with six eggs of the insect pest at the last embryonic stage (S4) and kept in a greenhouse for 35 days. After this period, the survival of the first to fifth instar nymphs was assessed, and the percentage of nymphal survival was calculated from this data. For *D. schach*, average nymphal survival in the different genotypes ranged from 19 to 64%, with an overall average of 36.3%. For *M. spectabilis*, the overall average nymphal survival was 25.4%, with a range from 0 to 57%. It was found that 21 genotypes were classified as resistant to *D. schach* (nymphal survival of less than 33%) and 73 genotypes as resistant to *M. spectabilis*. In addition, 19 genotypes were identified as simultaneously resistant to both species of insect pest. The nymphal survival of spittlebugs in the improved *U. ruziziensis* population was significantly lower than that of commercial *U. ruziziensis*, demonstrating the effectiveness of recurrent selection in obtaining forage plants resistant to these cercopids. The population obtained by the forage improvement program is getting closer to obtaining *U. ruziziensis* cultivars resistant to *D. schach* and *M. spectabilis* nymphs.

Keywords: cercopidae; forage grass; insect pests

3.1 Introdução

As forrageiras são a base da alimentação do rebanho bovino brasileiro, que é estimado em 197 milhões de cabeças em uma área de 161 milhões de hectares ocupadas por pastos (REPORT, 2024). Estima-se que 80% da área de pastagem do Brasil é cultivada com gramíneas do gênero *Urochloa* (EMBRAPA, 2021), sendo a *Urochloa brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf (synonym *Brachiaria brizantha*) cv. *Marandu* a forrageira predominante (SANTOS FILHO, 1998). Apesar das vantagens apresentadas por essa cultivar, como a resistência à cigarrinha-das-pastagens, o bom valor forrageiro e a alta produção de massa verde, sabe-se que existe alta vulnerabilidade genética nesse sistema de monocultivo; pois, de acordo com Assis (2009) as extensas áreas ocupadas por essa cultivar estão sujeitas a um colapso, desencadeado por fatores bióticos ou abióticos para os quais ela não foi selecionada inicialmente.

Nesse contexto, estudos veem sendo desenvolvidos com a *Urochloa ruziziensis* ((R. Germ. and C.M. Evrard) Crins (synonym *Brachiaria ruziziensis*) Poales: Poaceae) que por ser espécie diploide com reprodução sexuada, é possível realizar a seleção e recombinação de genótipos e seleção daqueles melhores (Souza Sobrinho 2005). No entanto, apesar da boa palatabilidade e qualidade, essa forrageira é suscetível à cigarrinha-das-pastagens (LASCANO e EUCLIDES 1996, KELLER-GREIN et al. 1996, SOTELO et al. 2008, SOUZA SOBRINHO et al. 2010). Dentre as pesquisas de destaque com essa espécie forrageira, estão aquelas que fazem a caracterização da resistência a ninfas de cigarrinhas-das-pastagens (CARDONA et al. 2004; SOUZA SOBRINHO et al. 2010; ALVARENGA et al. 2019; RESENDE et al. 2024) e o desenvolvimento de plantas forrageiras com resistência do tipo antibiose, por meio da seleção recorrente de forrageiras (MILES et al. 2006; RESENDE et al. 2024). Ressalta-se a importância desses estudos; pois, o ataque das cigarrinhas-das-pastagens reduz, dentre outros aspectos, a qualidade da forragem, o seu crescimento, produção de matéria seca, palatabilidade e persistência (AUAD et al. 2007; VALÉRIO e NAKANO 1988; PECK E THOMPSON 2008; SOUZA SOBRINHO et al. 2010; RESENDE et al. 2014; CONGIO et al. 2020; RESENDE et al. 2024).

Dentre as espécies de cigarrinhas-das-pastagens mais frequentes no Brasil estão as dos gêneros *Deois* (VALÉRIO et al. 2001) e *Mahanarva* (AUAD et al. 2007). Tendo em vista que o controle químico desses cercopídeos é economicamente e

ecologicamente pouco favoráveis, a busca por genótipos resistentes é o método de controle mais indicado (SOUZA SOBRINHO et al. 2010). Neste contexto, a Embrapa Gado de Leite vem conduzindo o programa de melhoramento de *U. ruziziensis*, ao longo de 17 anos, visando, dentre outras características, a resistência por antibiose às cigarrinhas-das-pastagens *Deois schach* (Fabricius) e *Mahanarva spectabilis* (Distant) (Hemiptera: Cercopidae), por meio de ciclos de seleção recorrente, para obtenção de uma cultivar de *U. ruziziensis* que proporcione baixa sobrevivência ninfal das cigarrinhas-das-pastagens (AUAD et al. 2011; AUAD et al. 2013; AUAD et al. 2014; AUAD et al. 2015; AUAD et al. 2016; RESENDE et al. 2024).

A seleção recorrente é um processo cíclico de seleção de indivíduos ou famílias dentro de uma população geneticamente heterogênea, seguido de recombinação (intercruzamento) dos indivíduos selecionados para formar uma nova população; esta, por sua vez, é utilizada para iniciar novo ciclo de seleção (CORDEIRO 2001; RAMALHO et al. 2001). É um processo dinâmico e contínuo, que envolve a obtenção de indivíduos, a avaliação, a seleção e o intercruzamento dos melhores, visando, desse modo, aumentar a frequência de alelos favoráveis (GERALDI 1997). Nesse contexto, Resende et al. (2024) verificaram que a seleção recorrente contribuiu para um aumento considerável no número de progênies de *U. ruziziensis* resistentes a duas espécies de cigarrinhas-das-pastagens. Esses autores constataram que após 16 ciclos de seleção aproximadamente 63% das progênies avaliadas apresentaram sobrevivência ninfal igual ou inferior a 33%.

Dessa forma, o presente estudos foi desenvolvido com o objetivo de validar uma população melhorada de *U. ruziziensis*, após dezesseis ciclos de seleção recorrente, quanto a resistência às ninfas de *D. schach* e *M. spectabilis*.

3.2 Material e métodos

3.2.1 Localização

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Entomologia e casa de vegetação da Embrapa Gado de Leite, no município de Juiz de Fora, Minas Gerais e, no Campo Experimental José Henrique Bruschi, Coronel Pacheco, Minas Gerais.

3.2.2 Obtenção e cultivo das plantas forrageiras

Uma população melhorada de *U. ruziziensis* advinda de 16 ciclos de seleção quanto a resistência às cigarrinhas-das-pastagens, originária do programa de melhoramento de forrageiras da Embrapa Gado de Leite foi utilizada na presente pesquisa. Além da população melhorada, avaliou-se a sobrevivência ninfal em *U. ruziziensis* comercial, cv Kennedy, com a finalidade de comparar a resistência às cigarrinhas-das-pastagens entre a população melhorada e a cultivar comercial.

Adotou-se as cultivares comerciais *U. decumbens* Stapf (sinonímia *Brachiaria decumbens*) cv. Basilisk como padrão de suscetibilidade, e a *U. brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf (sinônimo *Brachiaria brizantha*) cv. Marandu como padrão de resistência às cigarrinhas-das-pastagens.

As plantas forrageiras foram cultivadas a partir de sementes em bandejas plásticas contendo substrato comercial (Carolina Soil®-Composição: Turfa de Sphagnum, vermiculita expandida, calcário dolomítico, gesso agrícola e adubo NPK), e se desenvolveram por 40 dias, após esse período foram transplantadas para tubetes (4 cm de diâmetro e 14 cm de altura), contendo o mesmo substrato.

3.2.3 Obtenção dos ovos das cigarrinhas-das-pastagens

Adultos das espécies *D. schach* e *M. spectabilis* foram coletadas no Campo Experimental da Embrapa Gado de Leite. Esses foram levados para o Laboratório de Entomologia, separados por espécie e colocados em gaiolas (30 × 30 × 55 cm). As forrageiras (*Urochloa decumbens* para *D. schach* e *Cenchrus purpureus* (sinônimo *Pennisetum purpureum*) para *M. spectabilis*) foram mantidas no interior da gaiola e serviram de substrato alimentar para o inseto. Além disso, a base da planta e o assoalho da gaiola foram cobertos com gaze hidrófila, que foi utilizada como substrato de oviposição para as cigarrinhas.

A cada 4 ou 5 dias as gazes, que continham os ovos, foram retiradas das gaiolas e submetidas a um jato de água sobre um conjunto de peneiras. Os ovos extraídos ficaram retidos numa peneira de 400 mesh. Em seguida, os ovos foram transferidos para placas de Petri cobertas com papel filtro e, periodicamente umedecidas com uma solução à base de sulfato de cobre a 1%, para evitar contaminação com fungos. As placas contendo os ovos foram identificadas com a data e com a espécie de cigarrinha, agrupadas em bandejas e acondicionadas em câmara climatizada a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ com fotofase de 12 h e umidade relativa de $70 \pm 10\%$, até que os ovos atingissem o estágio S4 (estádio embrionário próximo a eclosão da ninfa) e foram destinados aos experimentos.

3.2.4 Bioensaio

As plantas foram mantidas em tubetes (4 cm de diâmetro e 14 cm de altura) por 60 dias. Para estimular o crescimento das raízes, sítio de alimentação das ninfas, na parte inferior de cada tubete, contendo as plantas, foi inserido um tubete vazio com as mesmas dimensões.

O experimento foi conduzido em blocos, e para a população de *U. ruzizensis* melhorada foram avaliadas 54 progênies, com 8 repetições, quanto à resistência a *D. schach* e 87 progênies, com 7 repetições, quanto à resistência a *M. spectabilis*, perfazendo o total de 1041 plantas de *U. ruzizensis*. Dentre esses materiais, foram avaliados simultaneamente 52 progênies quanto à resistência as duas espécies de cigarrinhas-das-pastagens. Já para a *U. ruzizensis* comercial adotou-se 38 repetições para *D. schach*, e 59 repetições para *M. spectabilis*.

Cada planta foi infestada com seis ovos do inseto-praga no estágio S4, sendo este nível de infestação insuficiente para produzir competição intraespecífica (Cardona et al. 1999, 2004). Para evitar a fuga das ninfas, os tubetes foram devidamente fechados com auxílio de espuma, acondicionados em bandejas e mantidos em casa de vegetação por 35 dias. Durante esse período, a temperatura média registrada foi de $25,7^\circ\text{C}$ (variação de $16,5$ a $40,2^\circ\text{C}$) e a umidade relativa média de $82,4\%$ (variação de $47,1$ a $97,1\%$).

A sobrevivência das ninfas do primeiro ao quinto instar foi avaliada seguindo a metodologia adaptada descrita por Cardona et al. (1999), onde o número de ninfas vivas presentes em cada tubete foi registado para calcular a percentagem de

sobrevivência ninfal, e posteriormente utilizada para classificar as progênies como resistentes, intermediárias ou susceptíveis às ninfas das cigarrinhas-das-pastagens.

3.2.5 Análise estatística

Para comparar a sobrevivência ninfal das cigarrinhas-das-pastagens foi realizado o teste estatístico do tipo contraste, levando em consideração a sobrevivência ninfal média geral, independente da espécie de cigarrinha, ou considerando cada uma das espécies, *D. schach* ou *M. spectabilis*. Por meio dessa análise, comparou-se a sobrevivência ninfal média da população de *U. ruzizensis* melhorada com a *U. ruzizensis* comercial, com *U. brizantha* e com *U. decumbens*. Para essa análise, utilizou-se o software SISVAR 5.1 (Universidade Federal de Lavras-Minas Gerais, Brasil).

Para comparar a sobrevivência ninfal de *D. schach* ou de *M. spectabilis* entre as progênies de *U. ruzizensis* melhoradas e a cultivar de *U. ruzizensis* comercial, os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade, utilizando o software SISVAR 5.1.

Além disso, foi efetuada uma análise gráfica em função da sobrevivência ninfal e as progênies foram classificadas como resistentes (sobrevivência ninfal até 33%), intermediárias (34-50%) ou suscetíveis (acima de 50%) seguindo a classificação estabelecida por Cardona et al. (1999). Essa análise gráfica também foi utilizada para comparar a sobrevivência ninfal das 52 progênies avaliadas simultaneamente as duas espécies de cigarrinhas-das-pastagens.

3.3 Resultados

Constatou-se diferença significativa na sobrevivência ninfal de *M. spectabilis* em função das progênies de *U. ruzizensis* ($F=2,09$; $p<0,0001$; $df=54$) e também foram detectados efeitos significativos para a espécie de cigarrinha avaliada ($F=76,42$; $p<0,0001$; $df = 01$).

Por meio da análise tipo contraste verificou-se proximidade na sobrevivência ninfal entre a população melhorada e a testemunha resistente quando foram submetidas a *M. spectabilis* ou quando se desconsiderou a espécie de cigarrinha-das-pastagens (*D. schach* e *M. spectabilis*), porém sobrevivências superiores foram

verificadas nas progênies melhoradas comparadas a cv comercial e a cv susceptível (Tabela 1). Para a espécie *D. schach* o contraste da população melhorada foi significativo somente com a testemunha susceptível (Tabela 1).

Tabela 1 – Análise do tipo contraste comparando as progênies de *U. ruziziensis* melhoradas com *U. ruziziensis* comercial, com *U. brizantha* e com *U. decumbens* quanto à sobrevivência ninfal de *D. schach* ou de *M. spectabilis* ou de *D. schach* e *M. spectabilis*.

Forrageiras	<i>U. ruziziensis</i> - CV comercial		<i>U. brizantha</i>		<i>U. decumbens</i>	
	p	F	p	F	p	F
<i>U. ruziziensis</i> melhorada	<i>D. schach</i>					
	0,409	0,68	0,704	0,15	0,023	5,23
	<i>M. spectabilis</i>					
	0,000	33,65	0,485	0,49	0,000	25,62
	<i>D. schach</i> e <i>M. spectabilis</i>					
	0,000	21,18	0,160	0,52	0,000	23,80

Para a espécie *D. schach* a sobrevivência ninfal média nas diferentes progênies variou de 19 a 64%, com média geral de 36,3% (Figura 1). Já para *M. spectabilis*, a média geral da sobrevivência ninfal foi de 25,4% com uma amplitude de 0 a 57% (Figura 2). Denotando assim alta variabilidade genética dentro da população melhorada de *U. ruziziensis* advindas de 16 ciclos de intercruzamentos; além da nítida diferença de resposta das progênies em função da espécie de cigarrinha-das-pastagens.

As progênies de *U. ruziziensis* melhoradas foram divididas em dois grupos por meio do teste de Scott-Knot quanto à resistência a *D. schach* ($F=1,38$, $p=0,043$, $df=56$). O primeiro grupo foi composto por 36 progênies, com sobrevivência do inseto-praga variando 19,5 a 41,8%, e correspondeu a 66% do total de progênies avaliados para essa espécie. Esse grupo de progênies apresentou sobrevivência ninfal significativamente igual à testemunha resistente, *U. brizantha*. O segundo grupo foi composto por 18 progênies, incluindo a cv Kennedy que apresentou sobrevivência ninfal média de 44,4% e da testemunha susceptível, *U. decumbens*, com 60,3% sobrevivência ninfal média (Figura 1).

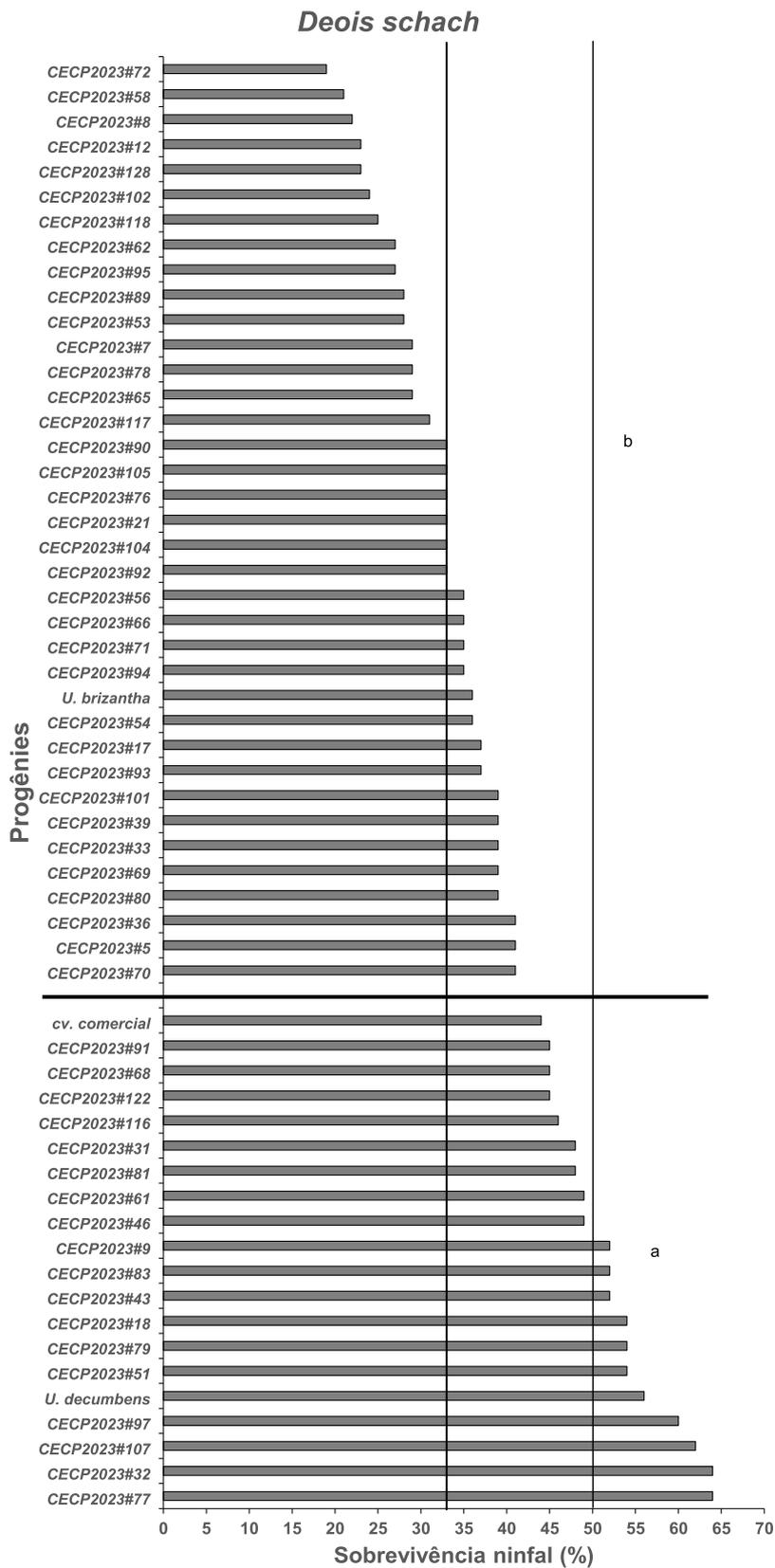


Figura 1- Sobrevivência ninfal de *D. schach* em progênie de *U. ruziziensis* melhoradas, *U. ruziziensis* (cv. Comercial), e na testemunha suscetível (*U. decumbens*) e na resistente (*U. brizantha*). Médias seguidas por letras iguais não diferiram entre si pelo teste de Scott nott ao nível de 5% de probabilidade.

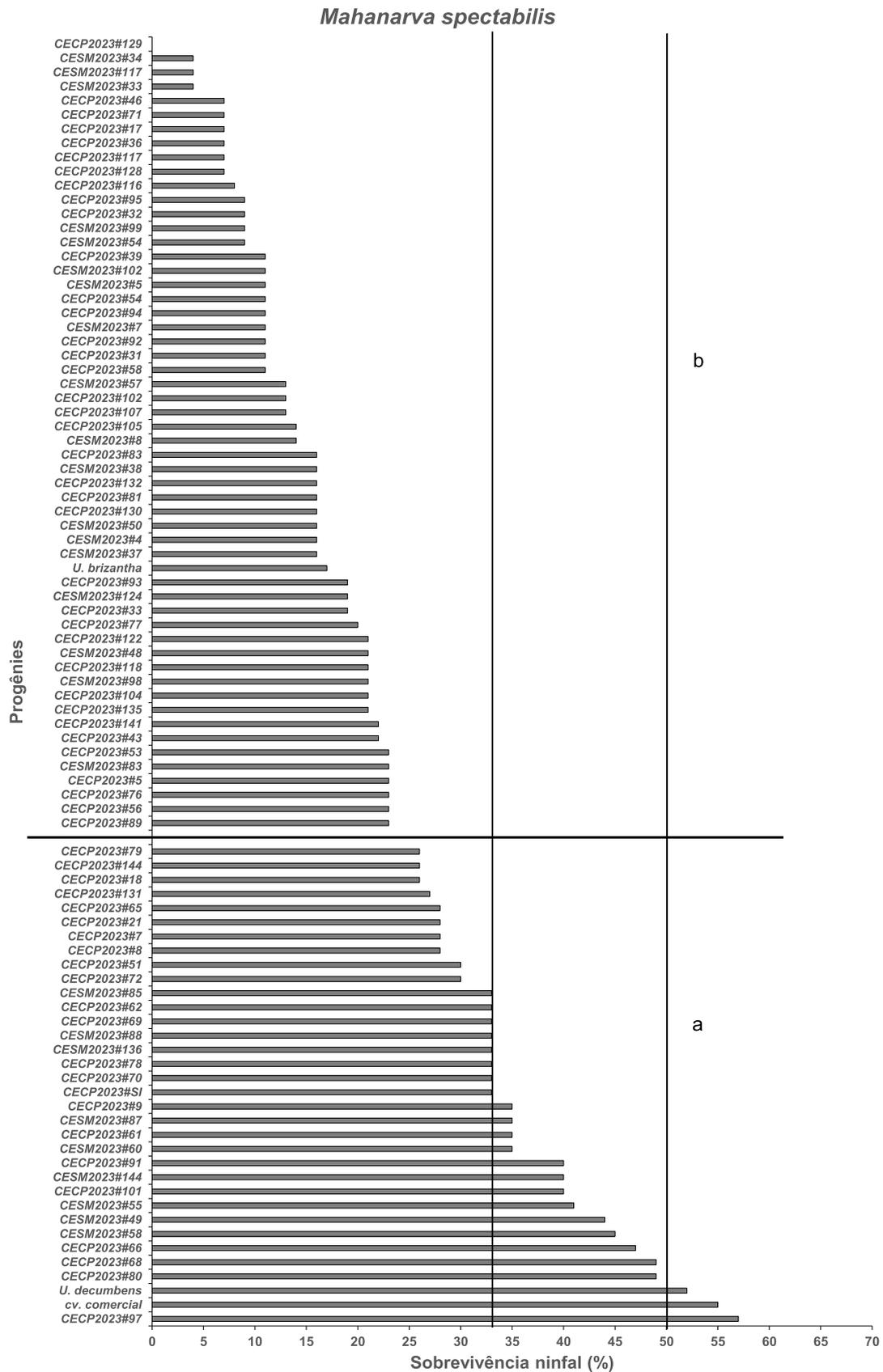


Figura 2- Sobrevivência ninfal de *M. spectabilis* em progênies de *U. ruziensiis* melhoradas, *U. ruziensiis* (cv.comercial), e na testemunha suscetível (*U. decumbens*) e na resistente (*U. brizantha*). Médias seguidas por letras iguais não diferiram entre si pelo teste de Scott nott ao nível de 5% de probabilidade.

No ensaio em que foi avaliada a resistência a *M. spectabilis*, verificou-se a divisão das progênies em dois grupos pelo teste de Scott-knott ($F=2,04$, $p < 0.0001$, $df = 90$). O primeiro grupo foi composto por 55 progênies de *U. ruziziensis* melhoradas com sobrevivência ninfal variando de 0 a 23%, e correspondem a 63,2% do total de progênies avaliadas para essa espécie. Essas progênies apresentaram sobrevivência ninfal significativamente igual à testemunha resistente, *U. brizantha*, que apresentou 17,4% de sobrevivência ninfal. O segundo grupo foi composto por 32 progênies de *U. ruziziensis* melhorados, juntamente com a cv Kennedy e a testemunha susceptível *U. decumbens* com média de sobrevivência ninfal de 52,5 e 55,5% respectivamente (Figura 2).

Seguindo a classificação proposta por Cardona et al. (1999), no qual as plantas são selecionadas por promoverem sobrevivência ninfal menor que 33%, constatou-se que 38,9% das progênies, pertencentes à população de *U. ruziziensis* melhorada, foram classificadas como resistentes a *D. schach*, o que corresponde a 21 progênies. Para essa espécie de cercopídeo a *U. ruziziensis* comercial proporcionou resistência intermediária, conforme estabelecido pela classificação de Cardona et al. (1999) são plantas com sobrevivência ninfal entre de 34 a 50% (Figura 1). Seguindo esse mesmo critério para *M. spectabilis*, classificou-se 87,9% das progênies de *U. ruziziensis* melhoradas como resistentes, o que corresponde a 73 progênies. Já a *U. ruziziensis* comercial foi classificada como susceptível (Figura 2).

Analisando-se as 52 progênies de *U. ruziziensis* melhoradas, e considerando a escala proposta por Cardona et al (1999) citada anteriormente, foram identificadas 19 progênies resistentes simultaneamente as duas espécies de cigarrinhas-das-pastagens (sobrevivência ninfal igual ou menor a 33%), 6 progênies com resistência intermediária (sobrevivência ninfal entre 34 e 50%) e apenas 1 progênie susceptível (com sobrevivência ninfal superior a 50%). Além disso, foi verificado que 17 progênies apresentaram resistência intermediária para *D. schach* e foram resistentes a *M. spectabilis* e 9 progênies foram susceptíveis a *D. schach* e resistentes à *M. spectabilis* (Figura 3).

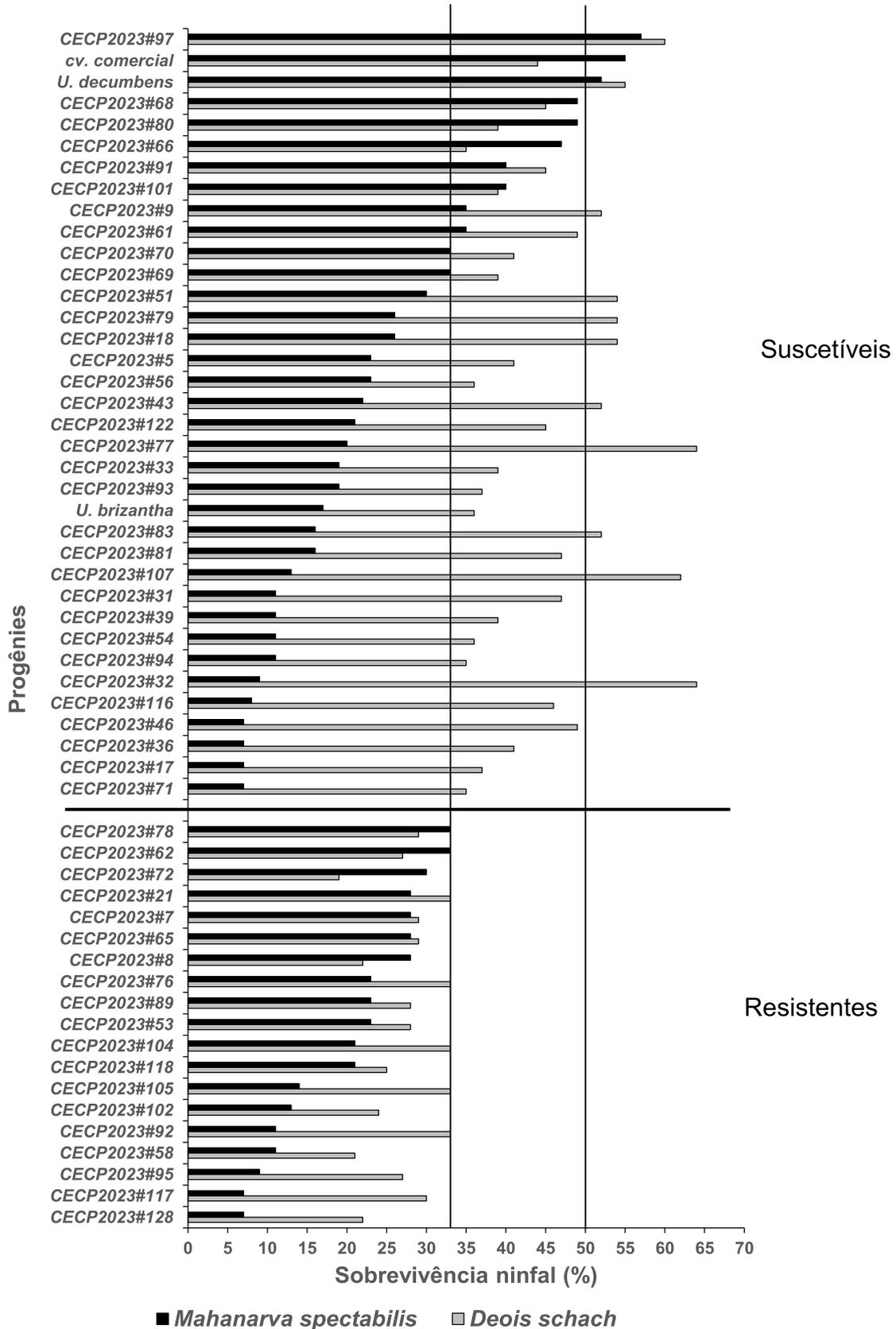


Figura 3- Sobrevivência ninfal de *D. schach* e *M. spectabilis* em progênies de *U. ruzizensis* melhoradas, *U. ruzizensis* (cv.comercial), e na testemunha susceptível (*U. decumbens*) e na resistente (*U. brizantha*).

3.4 Discussão

Pragas e hospedeiros estão sempre buscando alternativas para a sobrevivência, em um processo evolutivo mútuo (PARRA, 2002). As plantas confrontam diretamente os herbívoros, afetando o desempenho biológico, principalmente em relação à sobrevivência e ao sucesso reprodutivo (GOTYAL et al. 2015). No presente estudo, a variabilidade quanto à sobrevivência ninfal de *D. schach* e de *M. spectabilis* na população de *U. ruziziensis* melhorada foi confirmada. Diante dessa variabilidade foi possível identificar, por meio da análise do tipo contraste, que a população melhorada de *U. ruziziensis* promove sobrevivência ninfal média de *D. schach* e de *M. spectabilis* próxima daquelas alimentadas da testemunha resistente (*U. brizantha*), ou seja, houve aumento da frequência de alelos de resistência às duas espécies de cigarrinha-das-pastagens na população obtida a partir de genótipos advindos de 16 ciclos de seleção recorrente.

No presente trabalho, observou-se variação na sobrevivência ninfal para as duas espécies de cigarrinhas-das-pastagens em função das progênes de *U. ruziziensis*, o que também foi verificado para diversas espécies desses insetos-praga, em genótipos de *Urochloa* sp., por outros autores (FERRUFINO AND LAPOINTE 1989; LAPOINTE et al. 1992; CARDONA et al. 1999; CARDONA et al. 2004; MILES et al. 2006; AUAD et al. 2011; AUAD et al. 2014; AUAD et al. 2015; AUAD et al. 2016; RESENDE et al. 2024) e em Capim-Elefante (AUAD et al. 2007).

O Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) foi pioneiro no desenvolvimento de técnicas para triagem de resistência dentro de *Urochloa spp* para várias espécies de cigarrinhas-das-pastagens, incluindo *Aeneolamia varia* (Fabricius, 1787), *Notozulia entreriana* (Berg, 1879), *Mahanarva fimbriolata* (Stål, 1854), *Zulia colombiana* (Scudder, 1875) e *Z. pubsecens* (Fabricius, 1794) (CARDONA et al. 1999; SOTELO et al. 2008; PARSA et al. 2011; AGUIRRE et al. 2013). Essa técnica vem sendo adotada pelo programa de melhoramento de *U. ruziziensis* da Embrapa Gado de Leite por 16 ciclos de seleção (Resende et al. 2024). Na população obtida a partir dos genótipos selecionados no 16º ciclo foi possível identificar progênes resistentes, ou pelo menos com resistência intermediária, simultaneamente às duas espécies de cigarrinhas-das-pastagens avaliadas.

Teste em progênes de *U. ruziziensis* para verificar o efeito de antibiose às cigarrinhas-das-pastagens tem sido realizadas desde 2008 (AUAD et al. 2011, 2013,

2014, 2015, 2016; SOUZA SOBRINHO et al., 2010; RESENDE et al 2024) sempre destacando a existência de variabilidade genética dessa espécie forrageira. É evidente a atuação da seleção recorrente, com aumento da frequência de alelos para resistência às ninfas das cigarrinhas-das-pastagens, e conseqüente aumento do número de progênies resistentes a esses insetos-praga.

Carvalho e Webb (2005) destacam que dada a diversidade entre as espécies de cigarrinhas-das-pastagens, muitas vezes se pode esperar que os híbridos de *Urochloa* selecionados como resistentes a algumas espécies de cigarrinhas-das-pastagens em testes de resistência, apresentem respostas diferentes para outras espécies. Por meio dos resultados do presente trabalho foi possível observar tal ocorrência, tendo em vista que algumas progênies se apresentaram resistente exclusivamente à *D. schach* e outras à *M. spectabilis*. Porém, foram identificadas 19 progênies resistentes (sobrevivência ninfal até 33%) às duas espécies de cigarrinhas-das-pastagens simultaneamente, demonstrando a eficácia da seleção recorrente para obtenção de plantas resistentes às esses cercopídeos. Estudos relacionados com a identificação de resistência múltipla às cigarrinhas-das-pastagens são fundamentais, pois o plantio de uma cultivar resistente promoverá redução das gerações subsequentes de mais de uma espécie dos insetos-praga, tendo em vista que espécies de cigarrinhas-das-pastagens economicamente importantes podem coexistir em um determinado ambiente (PABÓN et al. 2007)

A obtenção de cultivares resistentes às cigarrinhas-das-pastagens tem sido objetivo constante do programa de melhoramento de forrageiras, tendo em vista o prejuízo ocasionado por esses insetos-praga. Segundo Ribeiro et al. (2022) gramíneas forrageiras atacadas por *Deois flexuosa* tem vários parâmetros afetados, tais como a produção de matéria seca, perfilhamento e os teores de fibra e proteína. Neste contexto, Congio et al. (2020) constataram que *Mahanarva* sp. pode diminuir a produtividade da carne bovina em até 74% e o rendimento da forrageira variando de 31 a 43%. Além disso, segundo Valério et al. (2001) e Resende et al. (2014) sob ataque severo, toda a parte aérea da planta seca e pode até morrer. Neste contexto, de acordo com Valério et al. (2001) e Aguirre et al. (2013) a resistência da planta hospedeira pode ser um método eficaz para combater as cigarrinhas-das-pastagens, pois é de baixo custo, sustentável, ambientalmente correta e é compatível com outras táticas de manejo.

Apesar da identificação de progênies de *U. ruziziensis* resistentes exclusivamente à cada espécie do cercopídeo ou simultaneamente a essas, a população melhorada de *U. ruziziensis* ainda apresenta variabilidade genética com progênies susceptíveis. Embora essa variabilidade seja positiva para a continuidade do melhoramento visando a resistência às cigarrinhas-das-pastagens (população de trabalho), essa população não deve ser usada comercialmente.

É importante destacar que a população de plantas avaliadas no trabalho foi obtida a partir da população avaliada por Resende et al. (2024), a qual já tinha sido submetida à 25 ensaios experimentais quanto a resistência a *M. spectabilis* e 11 ensaios quanto a resistência à *D. schach*, o que pode explicar o maior número de progênies resistentes à *M. spectabilis* em comparação à *D. schach* no presente trabalho. Abdeen et al. (2005) e Pabón et al. (2007) destacam a necessidade de expressão combinada de genes de defesa com diferentes mecanismos de ação no desenvolvimento de resistência múltipla de plantas a insetos. Assim, novos ciclos de seleção recorrente quanto à resistência às ninfas de *D. schach* devem ser priorizados, visando aumentar frequência de genes de resistência à essa espécie de cigarrinha na população de *U. ruziziensis* melhorada.

A obtenção de novas cultivares de gramíneas forrageiras favorece a mudança de monocultura de pastagens extensivas para pastagens diversificadas, com misturas de gramíneas não hospedeiras, e/ou resistentes contribuindo para a redução de hospedeiros para cigarrinhas (BUIRAGO et al. 2022). Por meio dos resultados do presente trabalho é evidente a aproximação da obtenção de cultivares de *U. ruziziensis* resistentes às duas espécies de cigarrinhas-das-pastagens avaliadas, pelo fato de terem ocasionado redução da sobrevivência ninfal dos insetos-praga comparado com aqueles alimentados de *U. ruziziensis* comercial, que apresentou sobrevivência ninfal média de 44% para *D. schach* e 55% para *M. spectabilis*, confirmando a susceptibilidade dessa espécie forrageira, anterior aos ciclos de cruzamentos para obtenção das plantas resistentes.

Cardona et al. (2010) verificaram, após seleção recorrente com base em dados fenotípicos, que a maioria dos híbridos de *Urochloa* por eles testados foram classificados como resistentes devido à baixa sobrevivência ninfal. Miles et al. (2006) destaca que isso é resultado do aumento nos níveis de resistência do tipo antibiose e na combinação de resistência a várias espécies de cigarrinhas. Resende et al (2024) também constataram aumento significativa no número de plantas resistentes às

cigarrinhas-das-pastagens, partindo de uma população susceptível, intercruzadas anualmente, e após 16 ciclos de seleção obtiveram um significativo número de progênes resistentes a *D. schach* e a *M. spectabilis*. Apesar disso, conforme observado por meio dos resultados do presente estudo é evidente a necessidade de novos ciclos de seleção quanto a resistência às ninfas de *D. schach*, pois a população avaliada ainda apresenta grande segregação, pois cerca de 61% das progênes melhoradas ainda apresentam resistência intermediária ou são susceptíveis à essa espécie de cigarrinha-das-pastagens. Por outro lado, pode-se inferir que a obtenção de uma cultivar dessa espécie forrageira resistente a *M. spectabilis* está mais próximo tendo em vista que aproximadamente 88% das progênes avaliadas no presente trabalho se apresentaram resistentes à essa espécie de cigarrinha-das-pastagens.

Visando o contínuo avanço do programa de melhoramento de *U. ruziensis*, deve-se estabelecer critérios para a seleção simultânea de progênes resistentes as ninfas e aos adultos das cigarrinhas-das-pastagens, tendo em vista a capacidade de dispersão e alto nível das injúrias causadas por essa última fase da vida do inseto. Lopes et al (2009) sugerem que os mecanismos de resistência às duas fases de vida das cigarrinhas-das-pastagens são independentes. No entanto, considerando a alta mortalidade ninfal nas progênes resistentes, acredita-se que haverá menor número de adultos e, conseqüentemente redução nas injúrias que levariam a prejuízos na qualidade e quantidade de forragem ofertada ao gado.

3.5 Conclusão

A partir das progênies de *U. ruzizensis* desenvolvidas, pelo programa de melhoramento de forrageiras da Embrapa Gado de Leite, a obtenção de cultivares de *U. ruzizensis* resistentes às ninfas de *D. schach* e de *M. spectabilis* está cada vez mais próxima.

A sobrevivência ninfal das cigarrinhas-das-pastagens na população de *U. ruzizensis* melhorada foi significativamente inferior à da *U. ruzizensis* comercial, demonstrando a eficácia da seleção recorrente para obtenção de forrageiras resistentes a esses cercopídeos.

Foi possível selecionar 19 progênies resistentes simultaneamente às duas espécies de cigarrinhas-das-pastagens.

3.6 Referências

- ABDEEN, A. et al. Multiple insect resistance in transgenic tomato plants over-expressing two families of plant proteinase inhibitors. **Plant Molecular Biology**, v. 57, n. 2, p. 189–202, jan. 2005.
- 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.
- ALVARENGA, R. et al. Tolerance to nymphs and adults of *Mahanarva spectabilis* (Hemiptera: Cercopidae) by forage plants in fertilized soils. **Pest Management Science**, v. 75, n. 8, p. 2242–2250, 14 ago. 2019.
- ASSIS, G. M. L. DE. Melhoramento Genético de Forrageiras Tropicais: Importância e Complexidade. In: GONÇALVES, R. C.; OLIVEIRA, L. C. DE (Ed.). **Embrapa Acre: ciência e tecnologia para o desenvolvimento sustentável do Sudoeste da Amazônia**. Rio Branco, AC: [s.n.]. p. 209–220.
- AUAD, A. M. et al. Seleção de genótipos de capim-elefante quanto à resistência à cigarrinha-das-pastagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 8, p. 1077–1081, ago. 2007.
- AUAD, A. M. et al. Seleção de clones de *Brachiaria ruziziensis* resistentes à *Deois flavopicta* (Hemiptera: Cercopidae). 48ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. **Anais...**Belém, PA: 2011.
- AUAD, A. M. et al. Seleção de clones de *Brachiaria ruziziensis* quanto a resistência à *Mahanarva spectabilis*. XXII Congresso de Pós graduação da UFLA. **Anais...**Lavras, MG: 2013.
- AUAD, A. M. et al. Identificação de *Brachiaria ruziziensis* resistentes à *Mahanarva spectabilis* (Hemiptera: Cercopidae): quarto ciclo de seleção. XXXVII Semana de Biologia da UFJF. **Anais...**Juiz de Fora, MG: 2014.
- AUAD, A. M. et al. Seleção de populações de *Brachiaria ruziziensis* (Germain & Edvard) quanto à resistência a *Deois schach* (Fabricius, 1787) (Hemiptera: cercopidae). Semana De Biologia Da UFJF. **Anais...**Juiz de Fora, MG: 2015.
- AUAD, A. M. et al. Seleção de genótipos de *Brachiaria ruziziensis* (Germain & Evrard) resistentes à *Mahanarva spectabilis* (Distant, 1909) (Hemiptera: Cercopidae). XXV Congresso de Pós Graduação da UFLA. **Anais...**Lavras, MG: 2016.
- BUITRAGO, P. A. E.; MANZANO, M. R.; HERNÁNDEZ, L. M. Spittlebugs (Hemiptera: cercopidae): integrated pest management on gramineous crops in the neotropical ecozone. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 6, n. July, p. 1–17, 2022.
- CARDONA, C. et al. Antibiosis and tolerance to five species of spittlebug (Homoptera: Cercopidae) in *Brachiaria* spp.: Implications for breeding for resistance. **Journal of Economic Entomology**, v. 97, n. 2, p. 635–645, 2004.
- CARDONA, C. et al. Independence of resistance in brachiaria spp. to nymphs or to adult spittlebugs (Hemiptera: Cercopidae): Implications for breeding for resistance. **Journal of Economic Entomology**, v. 103, n. 5, p. 1860–1865, 2010.
- CARDONA, C.; MILES, J. W.; SOTELO, G. An Improved Methodology for Massive

- Screening of *Brachiaria* spp . Genotypes for Resistance to *Aeneolamia varia* (Homoptera : Cercopidae). **J. Econ. Entomol.**, v. 92, n. 2, p. 490–496, 1999.
- CARVALHO, G. S.; WEBB, M. D. Cercopid spittle bugs of the New World (Hemiptera, Auchenorrhyncha, Cercopidae). **Pensoft**, Sofí-Moscow.: [s.n.].
- CONGIO, G. F. S. et al. Spittlebug damage on tropical grass and its impact in pasture-based beef production systems. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 10758, 1 jul. 2020.
- CORDEIRO, A. C. C. Número de intercruzamentos na eficiência da seleção recorrente na cultura do arroz. [s.l.] **UFLA**, 2001.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. BRS Integra: nova cultivar de *Urochloa ruziziensis* para a ILPF. Juiz de Fora, MG: **Embrapa Gado de Leite**, 2021. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1140781/1/COT-93-BRS-Integra-nova-cultivar-de-Urochloa-ruziziensis-para-a-ILPF.pdf>. Acesso em: 23 jan. 2025.
- FERRUFINO, A.; LAPOINTE, S. L. Host plant resistance in *Brachiaria* grasses to the spittlebug *Zulia colombiana*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 51, n. 2, p. 155–162, 5 jun. 1989.
- GERALDI, I. O. Selección recorrente em el mejoramiento de plantas. In: **Selección recorrente em arroz**. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1997. p. 3–11.
- GOTYAL, B. S. et al. Host Plant Resistance in Cultivated Jute and Its Wild Relatives Towards Jute Hairy Caterpillar *Spilosoma obliqua* (Lepidoptera: Arctiidae). **Florida Entomologist**, v. 98, n. 2, p. 721–727, jun. 2015.
- KELLER-GREIN, G.; MAASS, B.; HANSON, J. Natural variation in *Brachiaria* and existing germplasm collections. In: MILES, J.; MAASS, B.; VALLE, C. (Eds.). Publicatio ed. **CIAT**: [s.n.]. p. 16–42.
- LAPOINTE, S. L. et al. Antibiosis to Spittlebugs (Homoptera: Cercopidae) in Accessions of *Brachiaria* spp. **Journal of Economic Entomology**, v. 85, n. 4, p. 1485–1490, 1992.
- LASCANO, C.; EUCLIDES, V. Nutritional quality and animal production of *Brachiaria* pastures. In: MILES, J.; MAASS, B.; VALLE, C. (Eds.). **Brachiaria: Biology, Agronomy, and Improvement**. Publicatio ed. [s.l.] CIAT, 1996. p. 106–123.
- MILES, J. W.; CARDONA, C.; SOTELO, G. Recurrent selection in a synthetic brachiariagrass population improves resistance to three spittlebug species. **Crop Science**, v. 46, n. 3, p. 1088–1093, 2006.
- PABÓN, A. et al. Response of resistant and susceptible *Brachiaria* spp. genotypes to simultaneous infestation with multiple species of spittlebugs (Hemiptera: Cercopidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 100, n. 6, p. 1896–1903, 2007.
- PARRA, J. R. P. **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. [s.l.] Editora Manole Ltda, 2002.
- PARSA, S.; SOTELO, G.; CARDONA, C. Characterizing Herbivore Resistance Mechanisms: Spittlebugs on *Brachiaria* spp. as an Example. **Journal of Visualized Experiments**, n. 52, 19 jun. 2011.

- PECK, D. C.; THOMPSON, V. **Spittlebugs (Hemiptera:Cercopoidea)**, 2008. (Nota técnica).
- RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B.; SANTOS, J. B. Melhoria de espécies autógamias. In: **Recursos genéticos & melhoria: plantas. Rondonópolis**. Rondonópolis: [s.n.]. p. 201–230.
- REPORT, B. **Abiec**, 2024. 2024.
- RESENDE, T. T. et al. Sixteen Years of Recurrent Selection of Ruzi Grass for Resistance to Spittlebugs (Hemiptera: Cercopidae). **Agronomy**, v. 14, n. 7, p. 1516, 2024.
- RESENDE, T. T.; AUAD, A. M.; FONSECA, M. G. How many adults of *Mahanarva spectabilis* (Hemiptera: Cercopidae) should be used for screening *Brachiaria ruziziensis* (poales: poaceae) resistance? **Journal of Economic Entomology**, v. 107, n. 1, p. 396–402, 1 fev. 2014.
- RIBEIRO, L. DO P. et al. *Deois flexuosa* (Hemiptera: Cercopidae) in Perennial Forage Species (Poaceae): Quali-quantitative Impacts and Tolerance Expression. **Neotropical Entomology**, v. 51, n. 5, p. 777–794, 2022.
- SANTOS FILHO, L. F. Produção de sementes: o ponto de vista do setor privado brasileiro. In: MILES, J. W.; MAASS, B. L.; VALLE, C. B. (Eds.). **Brachiaria: biologia, agronomia y mejoramiento**. Cali: CIAT. Campo Grande, MS, Brasil: Embrapa Gado de Corte, 1998. p. 156–162.
- SOTELO, P. et al. Sublethal effects of antibiosis resistance on the reproductive biology of two spittlebug (Hemiptera: Cercopidae) species affecting *Brachiaria* spp. **Journal of Economic Entomology**, v. 101, p. 564–568, 2008.
- SOUZA SOBRINH, F.; AUAD, A. M.; LEDO, F. J. Genetic variability in *Brachiaria ruziziensis* for resistance to spittlebugs. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 10, p. 83–88, 2010.
- SOUZA SOBRINHO, F. Melhoria de forrageiras no Brasil. In: EVANGELISTA, A. et al. (Eds.). **Forragicultura e pastagens: Temas em evidência**. Lavras, MG: UFLA, 2005. p. 65–120.
- VALÉRIO, J. et al. **Spittlebugs: bioecology, host plant resistance and advances in IPM**. International Grassland Congress. **Anais...**Piracicaba: FEALQ, 2001.
- VALÉRIO, J. R.; NAKANO, O. Locais de alimentação e distribuição vertical de adultos da cigarrinha *Zulia entreciana* (Berg, 1879) (Homoptera: Cercopidae) em plantas de *Brachiaria decumbens*. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 17, n. 2, p. 519–529, 1988.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após 16 ciclos de seleção recorrente, foram identificados 716 genótipos de *U. ruziensis* resistentes aos cercopídeos *D. schach* e *M. spectabilis*.

As progênes obtidas a partir dos genótipos de *U. ruziensis* melhorados foram validadas quanto a resistência às ninfas de *D. schach* e *M. spectabilis*, e foi possível selecionar 19 progênes resistentes simultaneamente às espécies de cigarrinhas-das-pastagens avaliadas.

A sobrevivência ninfal das cigarrinhas-das-pastagens na população melhorada de *U. ruziensis* foi significativamente menor em comparação à cultivar comercial, evidenciando a eficácia do processo de seleção recorrente na obtenção de forrageiras resistente a esses insetos-praga.

O programa de melhoramento de forrageiras da Embrapa Gado de Leite alcançou um número expressivo de progênes resistentes às ninfas de cigarrinhas-das-pastagens, aproximando-se cada vez mais da obtenção de cultivares de *U. ruziensis* resistentes às ninfas de *D. schach* e a *M. spectabilis*.