

COMPORTAMENTO DA COCHONILHA *Planococcus minor* (MASKELL) (HEMIPTERA: PSEUDOCOCCIDAE): O PAPEL DAS ANTENAS NA LOCALIZAÇÃO DA PLANTA HOSPEDEIRA¹

Lenira Viana Costa Santa-Cecília²; Kethullyn Henrique Silva³; Lara Sales⁴; Ernesto Prado⁵

¹Trabalho financiado pelo Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café – Consórcio Pesquisa Café

²Pesquisadora, D.Sc., IMA/EPAMIG, Lavras-MG, scecilia@epamig.br

³Bióloga, Bolsista Consórcio Pesquisa Café - Lavras-MG, keth-94@hotmail.com

⁴Doutoranda, DEN-UFLA, Lavras-MG, larasalesbio@gmail.com

⁵Eng. Agrônomo, Ph.D., Consultor Entomologia, Lavras-MG, epradoster@gmail.com

RESUMO: A importância dos sentidos olfativos na seleção da planta hospedeira pela cochonilha *Planococcus minor* (Maskell) (Hemiptera: Pseudococcidae) foi estudada submetendo-se ninfas de terceiro instar com e sem antenas aos testes de odores e de livre escolha. A atratividade foi avaliada por meio de um olfatômetro de quatro vias, onde ninfas de *P. minor* com e sem antenas foram expostas aos odores das folhas de plantas hospedeiras, cafeeiro (*Coffea arabica* cv. Mundo Novo) e manjeriço (*Ocimum basilicum*) e não-hospedeiras, grama (*Paspalum notatum*). Foi registrada a escolha final após 15 minutos e o tempo de permanência em cada via escolhida. Os mesmos substratos foram utilizados para o teste de livre escolha (preferência alimentar). Com ninfas sofreram a amputação das antenas, eliminando-se os segmentos apical e subapical, e a mesma quantidade foi deixada intacta. Nos testes de livre escolha, as ninfas com e sem antenas foram liberadas em placas de Petri contendo seções foliares de cafeeiro alternadas com manjeriço e cafeeiro com grama, as quais foram mantidas em uma camada de ágar (1%) para manter a turgescência das folhas. As avaliações foram realizadas 24, 48 e 72 horas, compilando-se o número de cochonilhas presentes em cada substrato foliar. Nos testes de atratividade, as ninfas com antenas foram atraídas pelos estímulos olfativos das plantas hospedeiras, café e manjeriço, contudo, uma proporção dos insetos (35%) não apresentou resposta. As cochonilhas sem antenas não distinguiram a planta hospedeira da não-hospedeira (grama). Ninfas com e sem antenas, quando expostas aos odores de cafeeiro e manjeriço, não apresentaram preferência entre esses substratos. Esses resultados indicam que a amputação da antena reduz a habilidade de *P. minor* em distinguir os odores de fontes alimentares. No teste de livre escolha, embora *P. minor* tenha se alojado em todos os substratos testados, os resultados indicaram que esta cochonilha distingue uma planta hospedeira da não-hospedeira, uma vez que houve preferência para alimentação no cafeeiro em relação à grama. Diferentemente, na ausência de antenas essa preferência foi perdida.

PALAVRAS-CHAVE: Preferência alimentar, Olfatometria, *Coffea arabica*, *Ocimum basilicum*, *Paspalum notatum*.

BEHAVIOR OF *Planococcus minor* (MASKELL) (HEMIPTERA: PSEUDOCOCCIDAE): THE ROLE OF ANTENNAE AT THE LOCATION OF THE HOST PLANT

ABSTRACT: The importance of the olfactory stimuli during the host plant selection by *Planococcus minor* (Maskell) (Hemiptera: Pseudococcidae) was studied by testing third instar nymphs with and without antennae to odor and in free choice tests. The attractiveness was evaluated by means of a four-way olfactometer, where nymphs of *P. minor* with and without antennae were exposed to the odors of host (coffee and basil) and non-host leaves (grass). The settlement and permanency was recorded as a final choice after 15 minutes. In choice tests the nymphs with normal or amputated antennae were released in the center of a Petri dish arena with leaf sections of coffee (*Coffea arabica* cv. Mundo Novo) alternated with basil (*Ocimum basilicum*) or grass (*Paspalum notatum*). Leaf sections were kept on agar layer (1%) to keep leaf turgor. The evaluations were performed at 24, 48 and 72 hours, compiling the number of scale insects present in each leaf substrate. In the attractiveness tests, the nymphs with antennae were attracted to the olfactory stimuli of the host plants, coffee and basil, however a high proportion did not show any response. Whereas those without antennae did not distinguish the host plant from the non-host (grass). Nymphs with and without antennae when exposed to the odors of coffee plants and basil did not show any preference among these substrates. These results indicate that antennae amputation reduces the ability of *P. minor* in distinguishing odors from food sources. In the free choice test, although *P. minor* settled on all tested substrates, the results indicated that this mealybug distinguishes a host plant from the non-host, since there was a preference for feeding the coffee to the grass. Differently, in absence of antennae this preference was lost.

KEY WORDS: Food Preference, Olfatometry, *Coffea arabica*, *Ocimum basilicum*, *Paspalum notatum*.

INTRODUÇÃO

Planococcus minor (Maskell) (Pseudococcidae) também conhecida por cochonilha-da-roseta, é considerada uma das principais pragas do cafeeiro (*Coffea* spp.) em determinadas regiões brasileiras. Isso se deve, à frequência de seus ataques com danos significativos à produção, resultantes da sucção de seiva dos botões florais e frutinhas (SANTA-CECILIA; SOUZA, 2014). Aspectos do comportamento dessa cochonilha na seleção do hospedeiro são ainda incipientes e, revestem-se de importância, uma vez que levariam ao entendimento do processo de busca desse inseto por determinadas plantas.

Sabe-se que o processo de seleção de um hospedeiro por um inseto abrange uma sequência de etapas que incluem a localização do habitat e do hospedeiro, aceitação do hospedeiro e utilização para alimentação e/ou reprodução (LE RÜ et al., 1995 a). Um estudo sobre o comportamento de cochonilhas-farinhas na superfície da planta mostrou que o caminhar do inseto sobre a folha, antes da inserção dos estiletes, permite discriminar as plantas com níveis variáveis de antixenose (RENARD, 1993). As cochonilhas ao caminharem pela folha apontam as antenas para frente e notam-se breves contatos do labium na superfície foliar, sendo capazes de identificar informações de natureza olfativa por meio das antenas e as de natureza química e/ou física que poderiam ser detectadas por suas pernas, labium e antenas (LE RÜ et al., 1995 a, b). Contudo, as antenas estariam envolvidas na detecção de substâncias voláteis na superfície durante a exploração da planta (LE RÜ et al., 1995 a). As cochonilhas dos gêneros *Planococcus*, *Phenacoccus* e outros pseudococcídeos possuem sensilas olfativas nas antenas (Salama, 1971; Koteja, 1980; Le Rü et al., 1995 a; Calatayud; Le Rü, 2006) e, partindo do pressuposto que fazem uso das antenas para encontrar a planta hospedeira, objetivou-se nesse trabalho determinar o comportamento da cochonilha-da-roseta ao amputar essas estruturas. Foram testadas as seguintes hipóteses (i) as antenas de *P. minor* auxiliam na escolha alimentar e na distinção de odores das plantas, (ii) a amputação das antenas de *P. minor* faz diminuir a habilidade em distinguir a planta hospedeira.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Controle Biológico de Pragas da EPAMIG Sul /EcoCentro, em Lavras, MG. Para os testes foram selecionadas duas plantas hospedeiras de *P. minor*: manjeriço (*Ocimum basilicum*) e o cafeeiro (*Coffea arabica* cv. Mundo Novo) e, outra não-hospedeira, grama (*Paspalum notatum*).

A atratividade foi avaliada por meio de um olfatômetro de quatro vias (modificado de Vet et al., 1983), onde ninfas de 3º instar, coletadas da criação em laboratório e, deixadas em jejum durante 1 hora, foram expostas aos odores das folhas dessas plantas. Em cada teste uma cochonilha foi liberada na área central e neutra da arena do olfatômetro, e foi considerada como escolha quando o inseto percorreu uma distância de aproximadamente 10 cm em direção a um braço do olfatômetro. Foi contabilizado o tempo de permanência em cada braço e a escolha final ao término dos 15 minutos de exposição da cochonilha aos odores testados. O tempo foi registrado utilizando-se o programa JWatcher. Cada experimento consistiu em confrontar ninfas de *P. minor* com e sem antenas, aos odores de folhas de cafeeiro e manjeriço e, cafeeiro e grama. Foram utilizadas 20 ninfas de *P. minor* com antenas e 20 sem antenas, as quais foram liberadas individualmente no olfatômetro. Assim, a unidade experimental foi constituída por uma ninfa, com ou sem antenas. Após cada teste, a posição dos vidros contendo as fontes de estímulos olfativos foi invertida a fim de anular possíveis interferências olfativas decorrentes dos testes anteriores. Para avaliar a preferência alimentar de *P. minor* com e sem antenas, foram selecionadas 200 ninfas de terceiro instar, as quais ficaram em jejum durante uma hora. Dessas, 100 sofreram a amputação das antenas, eliminando-se o segmento apical e subapical com auxílio de um bisturi. As ninfas foram liberadas em número de 10 por placa de Petri contendo um círculo de papel de filtro fixado no centro e rodeado por seções foliares (5 cm de diâmetro) de cafeeiro alternadas com manjeriço ou grama sobre ágar (1%) para manter a turgescência das folhas. As placas foram vedadas com filme plástico e mantidas à temperatura de 25±1°C, 70±10% UR e escotofase total. Assim, os tratamentos foram em número de dois com cinco repetições para cada combinação, tanto para insetos com antenas quanto para os sem antenas, utilizando-se o delineamento experimental inteiramente casualizado. As avaliações foram realizadas às 24, 48 e 72 horas após as liberações, registrando-se o número de cochonilhas presentes em cada substrato foliar e aquelas que se encontravam fora das folhas não foram contabilizadas. Como preferência alimentar definitiva considerou-se a escolha às 72 horas. Para o teste de livre escolha e na escolha final das ninfas no teste de olfatometria foi utilizado o teste de Qui-Quadrado (χ^2), considerando-se as frequências observadas e esperadas. A porcentagem do tempo de permanência foi comparada pelo teste de Student.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Olfatometria

Cafeeiro versus manjeriço: Nas plantas de cafeeiro e manjeriço, ambas consideradas hospedeiras, 35% das ninfas não responderam aos odores. Dentre aquelas com resposta, a escolha final e o tempo de permanência não mostraram diferenças entre os tratamentos (Tabela 1 e Figura 1).

Tabela 1. Escolha final de ninfas de 3º instar de *Planococcus minor* aos 15 minutos de exposição (n=20)

Inseto	Resposta olfativa			Teste de χ^2
	Cafeeiro (vias 1 e 3)	Manjeriçao (vias 2 e 4)	Ausência de Resposta	
<i>P. minor</i> com antena	5	8	7 (35%)	0,7 n.s
<i>P. minor</i> sem antena	8	5	7 (35%)	0,7 n.s

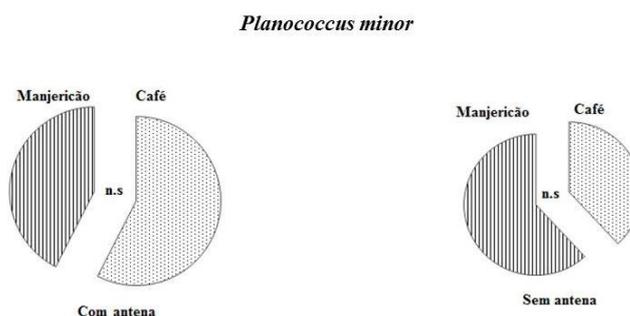


Figura 1. Permanência relativa (%) em teste de olfatometria de ninfas de 3º instar de *Planococcus minor* com e sem antenas. Teste Student: $p=0,354$, $n=15$ e $p=0,223$, $n=14$, respectivamente. Dados analisados com transformação em arco-seno $\sqrt{x/100}$ (n = número de insetos que responderam aos odores).

Cafeeiro versus grama: Algumas ninfas não responderam aos estímulos olfativos oferecidos após 15 minutos de exposição e permaneceram na zona de indecisão. As ninfas com antenas escolheram majoritariamente o cafeeiro, porém quando as antenas foram decepadas não se evidenciou escolha (Tabela 2).

Tabela 2. Escolha final de ninfas de 3º instar de *Planococcus minor* aos 15 minutos de exposição (n=20)

Inseto	Resposta olfativa			Teste de χ^2
	Cafeeiro (vias 1 e 3)	Grama (vias 2 e 4)	Ausência de Resposta	
<i>P. minor</i> com antena	12	1	7 (35%)	9,3 *
<i>P. minor</i> sem antena	8	5	7 (35%)	0,7 n.s

As ninfas com antenas mantiveram-se por mais tempo no cafeeiro ao passo que, ninfas sem antenas não mostraram preferência entre os odores de cafeeiro e grama, distribuindo-se igualmente em todas as vias do olfatômetro (Figura 2).

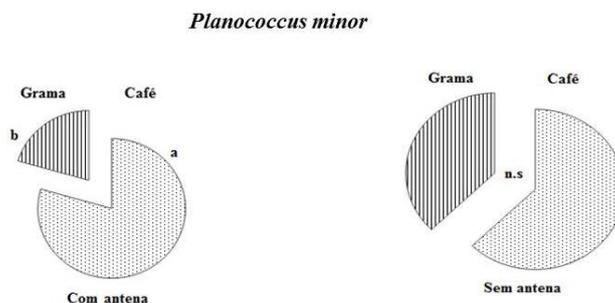


Figura 2. Permanência relativa (%) em teste de olfatometria de ninfas de 3º instar de *Planococcus minor* com e sem antenas. Teste Student: $p<0,001$, $n=15$ e $p=0,144$, $n=14$, respectivamente. Dados analisados com transformação em arco-seno $\sqrt{x/100}$ (n = número de insetos que responderam aos odores).

Teste de Livre Escolha

Cafeeiro versus manjeriço: Verificou-se que, para as cochonilhas com antenas houve preferência pelo manjeriço já nas 24 horas após serem liberadas, mantendo-se essa escolha nas avaliações seguintes (48 e 72 horas) (Figura 3, Tabela 3). Contudo, com antenas amputadas, essa preferência foi perdida na avaliação das 48 horas, momento em que as cochonilhas não mostraram preferência para alimentação nos substratos testados. A porcentagem de cochonilhas com antenas sem escolha que se mantiveram na zona de indecisão foi de 34%, aumentando para 56% quando as antenas foram amputadas.

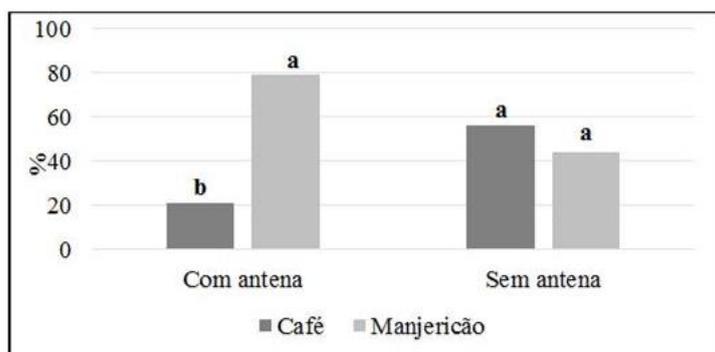


Figura 3. Teste de livre escolha de ninfas de *Planococcus minor* após 72 horas de exposição aos odores de cafeeiro versus manjeriço. Com antena ($\chi^2 = 10,94$; $n=33$) e sem antena (valor $\chi^2 = 0,25$; $n=16$) (χ^2 com significância ao nível de 5% e 1g.l.).

Tabela 3. Preferência das cochonilhas com e sem antenas sobre duas plantas hospedeiras em Teste de livre escolha

Hospedeiro	Com antena	Sem antena
24 horas		
Cafeeiro	7%	0%
Manjeriço	93%	100%
Sem Escolha	40% (20/50)	76% (38/50)
48 horas		
Cafeeiro	18%	46%
Manjeriço	82%	54%
Sem Escolha	24% (12/50)	74% (37/50)
72 horas		
Cafeeiro	21%	79%
Manjeriço	79%	44%
Sem escolha	34% (17/50)	56% (28/50)

Cafeeiro versus grama: As cochonilhas com antenas mostraram preferência pelo cafeeiro somente nas 72 horas após serem liberadas. Diferentemente, quando na ausência de antenas, não houve preferência para alimentação entre as plantas nos tempos estudados (Figura 4, Tabela 4).

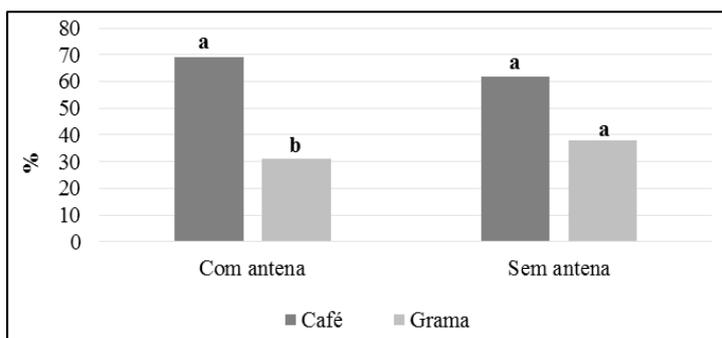


Figura 4. Teste de livre escolha de ninfas de *Planococcus minor* após 72 horas de exposição aos odores de cafeeiro versus grama. Com antena ($\chi^2=4,50$; $n=32$) e sem antena (valor $\chi^2= 0,692$; $n=13$) (χ^2 com significância ao nível de 5% e 1 g.l.).

Tabela 4. Preferência das cochonilhas com e sem antenas sobre uma planta hospedeira e outra não-hospedeira em Teste de livre escolha.

Hospedeiro	Com antena	Sem antena
24 horas		
Cafeeiro	44,5%	55%
Gramma	55,5%	44%
Sem escolha	64% (32/50)	82% (41/50)
48 horas		
Cafeeiro	68%	67%
Gramma	32%	33%
Sem escolha	42% (21/50)	76% (38/50)
72 horas		
Cafeeiro	69%	62%
Gramma	31%	38%
Sem escolha	36% (18/50)	74% (37/50)

Olfatometria. Em média 35% dos insetos não apresentaram respostas aos estímulos olfativos, sugerindo que os odores das plantas testadas têm importância relativa, contribuindo em parte na escolha do hospedeiro. Comportamento semelhante foi constatado para ninfas de *Planococcus citri* (Risso) e *P. minor* frente aos odores de diferentes espécies arbóreas, em condições de laboratório (SANTA-CECILIA et al., 2018). Em psilídeos, outro grupo de hemipteros, os sinais visuais são os estímulos primários para encontrar o hospedeiro, sendo os olfativos considerados de menor importância e que somente reforçam em última instância a seleção visual (WENNINGER et al., 2009). Não obstante, em psilídeos a seleção do hospedeiro é realizada por indivíduos alados com uma alta capacidade de identificar o hospedeiro, em contraste com as cochonilhas, onde os insetos são ápteros e a alternativa é ‘alimentar ou morrer’. Associado a essa característica ressalta-se a polifagia da espécie (colonizam várias plantas), o que pode contribuir para que nem sempre os voláteis emitidos pelas plantas se constituam em pistas químicas relevantes para a localização do hospedeiro pelas cochonilhas. Em nosso trabalho, quando os odores de duas plantas hospedeiras (café e manjeriço) foram oferecidos, a escolha foi similar tanto para as cochonilhas com antenas quanto para as sem antenas, como era esperado. A resposta aos estímulos olfativos provenientes de uma planta hospedeira (café) e outra não-hospedeira (grama) foi significativamente diferente, existindo uma escolha pela planta hospedeira. Ao amputar a antena esta discriminação foi perdida, indicando a função olfativa da antena na seleção do hospedeiro, como já mencionado por Salama (1971).

Teste de livre escolha. Por meio desse teste obtêm-se informações sobre as características morfológicas dos tecidos da planta, tais como a cutícula, células e espaço intercelular quando o inseto entra em contato com a planta para fazer uma escolha. Também a composição da seiva do floema e seu efeito na conduta alimentar são avaliados por meio desse teste. O tempo base de avaliação de 24 horas em alguns casos é considerado suficiente para a cochonilha atingir o floema, degustar o conteúdo e permanecer na folha ou abandoná-la. A amputação das antenas aumentou o número de cochonilhas na área de indecisão, possivelmente pela carência das estruturas necessárias para selecionar a planta. Um “trauma” como consequência da amputação também deve ser considerado como uma possível causa.

Planococcus minor em condições normais (com antenas) mostrou preferência pelo manjeriço. A perda da preferência ao amputar as antenas indica novamente, por meio desse teste, que elas são importantes no processo de escolha. Quando exposta a uma planta não-hospedeira (grama), o abandono do substrato aconteceu após as 24 horas sugerindo que a cochonilha normal precisaram primeiro testar ou inclusive degustar a planta, para em seguida abandoná-la. O fato de apresentar o mesmo comportamento ao amputar as antenas, sugere que outras estruturas, seja no labium ou pernas, também poderiam ter a função de discriminar um hospedeiro. Esse resultado corrobora aqueles constatados por Le Rü et al. (1995 a) para a cochonilha *Planococcus manihoti* (Matile-Ferrero) e outros hemípteros (Backus, 1988), onde o uso dessas estruturas estariam envolvidos na identificação da planta. A remoção do segmento antenal afeta também a resposta olfativa das cochonilhas frente a outros odores. A amputação dos segmentos apical e subapical das antenas de *P. citri* anulou a discriminação dos odores do álcool etílico e ar limpo, ao passo que as fêmeas normais evitaram fortemente a via contendo álcool (SALAMA, 1971). O uso das antenas para localização do hospedeiro é conhecido para outros grupos de insetos. Adultos do percevejo *Neomegalotomus parvus* (Westw.) (Heteroptera: Alydidae) com antenas intactas localizaram o alimento com mais frequência e rapidez do que aqueles com antenas bloqueadas ou amputadas (VENTURA; PANIZI, 2005).

CONCLUSÕES

- 1 - As antenas de *P. minor* são utilizadas na escolha do hospedeiro e na distinção dos odores das plantas.
- 2- A amputação das antenas faz diminuir a habilidade da cochonilha *P. minor* em distinguir plantas hospedeiras das não-hospedeiras. Outras estruturas no labium ou pernas também teriam uma função nesse processo.

AGRADECIMENTOS

Ao Consórcio Pesquisa Café pelo suporte financeiro e bolsa de pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BACKUS, E. (1988). Sensory systems and behaviours which mediate hemipteran plant-feeding: a taxonomic overview. *Journal of Insect Physiology*, Amsterdam, 151-165.
- CALATAYUD, P.A.; LE RÜ, B. (2006). Cassava- Mealybug Interactions. Institut de Recherche Pour le Développement. IRD Editions. 112p.
- KOTEJA, J. (1980). Campaniform, basiconic, coeloconic, and intersegmental sensilla on the antennae in the Coccinea. *Acta Biologica Cracoviensia, Series Zoologia* 22: 73-88.
- LE RÜ, B.; RENARD, S.; ALLO, M.R.; LE LANNIC, J.; ROLLAND, J.P. (1995a). Antennal sensilla and their possible functions in the host-plant selection behavior of *Phenacoccus manihoti* (Matile-Ferrero) (Homoptera: Pseudococcidae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology* 24(4): 375-389.
- LE RÜ, B.; RENARD, S.; ALLO, M.R.; LE LANNIC, J.; ROLLAND, J.P. (1995b). Ultrastructure of sensory receptors on the labium of the cassava mealybug, *Phenacoccus manihoti* Matile Ferrero. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 77: 31-36.
- RENARD, S. (1993). Sensorial equipment and effect of the host-plant on the fixation behaviour of the cassava mealybug *Phenacoccus manihoti* Matile-Ferrero (Homoptera, Pseudococcidae). *Belgian Journal of Zoology*, 123:61-2.
- SALAMA, H.S. (1971). Olfaction and gustation in Coccids (Coccoidea). *Experimentia* 27: 1294.
- SANTA-CECÍLIA, L.V.C.; SOUZA, B. (2014). Cochonilhas-farinhentas de maior ocorrência em cafeeiros no Brasil. *Informe Agropecuário* 35(280): 45-54.
- SANTA-CECILIA, L.V.C.; PRADO, E.; SILVA, K.H.; SALES, L.; PEREIRA, A.B.; PEREIRA, A.B. (2018). Potential of Mealybugs Infestation, *Planococcus* spp. (Hemiptera: Pseudococcidae), in an Agroforestry System in Coffee Crops. *International Journal of Environmental & Agriculture Research (IJOEAR)* 4(7): 1-9.
- VENTURA, M.U.; PANIZZI, A.R. (2005). Morphology of Olfactory Sensilla and its Role in Host Plant Recognition by *Neomegalotomus parvus* (Westwood) (Heteroptera: Alydidae). *Brazilian Archives of Biology and Technology* 48(4): 589-597.
- VET, L.E.M.; LENTEREN, J.C. van; HEYMANS, M.; MEELIS, E. (1983). An airflow olfactometer for measuring olfactory responses of hymenopterous parasitoids and other small insects. *Physiological Entomology* 8: 97-106.
- WENNINGER, E.J.; STELINSKI, L.L.; HALL, D.G. (2009). Roles of Olfactory Cues, Visual Cues, and Mating Status in Orientation of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) to Four Different Host Plants. *Environmental Entomology* 38(1): 225-234.