



CONCENTRAÇÕES DE RUTINA EM GENÓTIPOS DE MANDIOCA (*Manihot esculenta* Crantz)

Diego Gazola¹; Claudemir Zucareli²; Rudiney Ringenberg³; Ana Carolina Ferrarini Campana⁴;
José Perez da Graça⁵; Clara Beatriz Hoffmann Campo⁶

¹ Doutorando em agronomia, Universidade Estadual de Londrina. Rodovia Celso Garcia Cid - Pr 445
Km 380, s/n - Campus Universitário, Londrina - PR, 86057-970, gazolad@gmail.com.

² claudemircca@uel.br;

³ rudiney.ringenberg@embrapa.br;

⁴ carol_acfc@hotmail.com;

⁵ perezparr@hotmail.com;

⁶ clarabeatriz.campo@embrapa.br.

Resumo

O objetivo do trabalho foi estudar a potencialidade de metabólitos secundários na resistência varietal da mandioca a insetos pragas. Dessa forma, avaliou-se a concentração do flavonóide rutina em genótipos de mandioca, em duas épocas. Os genótipos 2011-02-02, 2011-02-12, 2011-02-19, 2011-02-23, 2011-02-43, Santa Helena e Ecuador 72 foram plantados em casa-de-vegetação, com delineamento inteiramente casualizado, sendo as amostras de folhas coletadas em duas épocas (90 e 180 dias) após o plantio. A identificação e quantificação de rutina foi realizada em cromatógrafo líquido de alta performance (HPLC), no laboratório de Ecologia Química da Embrapa Soja. Quando comparados, os genótipos 2011-02-23, 2011-02-02, 2011-02-43 e Santa Helena apresentaram as maiores concentrações de rutina, aos 90 dias após plantio, em relação aos demais; o 2011-02-23, aos 180 dias. Na comparação entre as épocas de coleta, observou-se aumento nas concentrações de rutina nos genótipos 2011-02-02, 2011-02-12, 2011-02-19, 2011-02-23 e Santa Helena nos extratos de folhas coletados 180 dias após o plantio.

Palavras Chave: composto fenólico, flavonóide, insetos praga, mecanismo de defesa

Introdução

Na mandioca estima-se que, somente nas Américas, existam mais de 200 espécies de artrópodes associados à cultura. Na região centro-sul do Brasil, além do mandarová, (*Erinnyis ello*), ocorrem espécies de mosca-branca (*Bemisia tuberculata* e *Aleurothrixus aepim*), percevejos-de-renda (*Vatiga manihotae* e *Vatiga illudens*), cochonilhas da parte aérea (*Phenacoccus herreni* e *Phenacoccus manihoti*), mosca-do-broto (*Neosilba perezii*) e o besouro congo (*Migdolus fryanus*), causando danos importantes à cultura (SCHMITT, 2002). Dessa forma, para estabelecer uma estratégia de controle adequada, viável para os agricultores e que cause o menor impacto sobre o ambiente é essencial conhecer os insetos praga de acordo com a região (FARIAS & BELLOTTI, 2006).

A utilização de variedades resistentes é uma importante estratégia de controle de pragas, pois apresenta baixo custo e mantém a população do inseto abaixo do nível de dano econômico, além de reduzir perdas no rendimento, podendo ser incluída como uma ferramenta no manejo integrado de pragas (BELLOTTI et al., 1999). Segundo Burbano et al., (2003) os pais selvagens de *M. esculenta* são fontes de genes resistentes a insetos pragas. *Manihot peruviana* e *Manihot flabellifolia* tem apresentado níveis moderados e altos de resistência ao ácaro verde (*Mononychellus tanajoa*) e a moscas branca (*Aleurotrachelus socialis*), respectivamente.

Uma característica relevante da bioquímica da mandica é a presença de compostos secundários em folhas, ramas e raízes, que podem agir como mecanismos de defesa, cujas concentrações, em geral, variam de acordo com as condições climáticas (temperaturas, deficit hídrico, chuvas), condições do solo e disponibilidade de nutrientes. Esses mecanismos abrangem uma série de substâncias químicas (alcaloides, esteroides, flavonóides, taninos, glucosinolatos, e compostos cianogênicos), que podem torná-la repelente, tóxica ou não



atrativa para insetos-praga. Dentre esses compostos, a rutina (quercetina 3-*O*-rutinosídeo) tem sido associada à resistência de insetos sugadores em mandioca, como *P. manihoti* (CALATAYUD, 2000; CALATAYUD & MÚNERA, 2002), assim como, a insetos desfolhadores em soja (HOFFMANN-CAMPO et al., 2006; PIUBELLI et al., 2005), entre outras plantas.

O objetivo do presente trabalho foi relacionar a concentração do composto secundário rutina em genótipos de mandioca em duas épocas de coleta.

Material e Métodos

Os genótipos de mandioca foram plantados em casa de vegetação do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina (UEL), em Londrina/PR. O solo utilizado no experimento foi do tipo Nitossolo Vermelho Eutroférico latossólico. Os clones utilizados no ensaio foram provenientes do programa de melhoramento de mandioca (2011-02-02, 2011-02-12, 2011-02-19, 2011-02-23, 2011-02-43) e banco de Germoplasma (Santa Helena e Ecuador 72) da Embrapa Mandioca e Fruticultura. As manivas com 10 cm foram plantadas em vasos com capacidade de 4 kg, na posição vertical.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com sete tratamentos (genótipos), sendo as folhas para a realização das análises coletadas em duas épocas, aos 90 dias após plantio (sem poda) e aos 180 dias (com poda). Para isso, foram coletadas quatro folhas apicais completamente desenvolvidas. As mesmas foram cortadas com tesoura, envelopadas com papel alumínio e, imediatamente, congeladas em nitrogênio líquido. Em seguida, armazenadas em ultrafreezer (-86°C) no laboratório de Ecologia Química da Embrapa Soja, em Londrina/PR.

No laboratório, as folhas foram moídas em almofariz com nitrogênio líquido, transferidas para tubo “Falcon” de 15 mL, pesadas e às amostras foi adicionado 5 mL de metanol (MeOH) 90%. Em seguida, os extratos foram agitados em Vortex por 10 segundos, levadas ao banho de ultrassom durante 20 minutos e, na sequência, centrifugadas a 5650 rpm por 10 minutos a 4°C. O sobrenadante foi coletado com pipetas Pasteur, transferido para tubos e seco no vácuo. As amostras foram ressolubilizadas em metanol 80% (1,5 mL) e centrifugadas por 10 minutos a 10000 rpm a 4°C. Após esse processo, as amostras foram filtradas em filtros-seringa “Acrodiscs” com membrana (Millipore®) de 0,45 µm e transferidas para os “vials” do auto-injetor, do cromatógrafo líquido de alto desempenho (HPLC, Prominence - Shimadzu). A quantificação de rutina foi realizada comparando-se as concentrações obtidas nas amostras com as da curva do padrão Rutin hydrate, 95% HPLC - Sigma®. Os dados obtidos foram submetidos à análise de normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro-Wilk. Em seguida, submetidos à análise de variância (ANAVA) e a comparação de médias foi realizada pelo teste de Tukey (5%).

Resultados e Discussão

A análise de variância indicou interação época x genótipos e diferença estatística entre os genótipos e as épocas de coleta. As concentrações de rutina variaram em cada genótipo analisado (Tabela 1), dependendo da época de coleta das folhas.

Os genótipos 2011-02-23, 2011-02-02, 2011-02-43 e o Santa Helena apresentaram concentrações maiores de rutina, na primeira época de coleta, em relação aos demais genótipos. Na segunda coleta, por outro lado, os extratos de folhas de 2011-02-23 continham destacadamente dos demais genótipos, a maior concentração de rutina, seguida por 2011-02-02 e do clone Santa Helena. Em contrapartida, Ecuador 72 apresentou a menor concentração de rutina, nas duas épocas de coleta de folhas.

Na análise entre as épocas de coleta do material, aos 180 dias após o plantio, todas as cultivares tiveram um aumento significativo na concentração de rutina, com exceção das cultivares 2011-02-43 e Ecuador 72. As maiores concentrações de rutina foram observadas na 2011-02-23, com 3,81 mcg/mg (acréscimo de 40%), seguida pela 2011-02-02 e Santa Helena, respectivamente. Os menores valores ocorreram na Ecuador 72, 2011-02-12 e 2011-02-19, assim como observado aos 90 dias.



Tabela 1. Concentrações de rutina, em mcg/mg de folha fresca, aos 90 (sem poda) e 180 dias (com poda) após plantio em diferentes genótipos de mandioca.

Genótipos	Concentração de Rutina (mcg/mg de folha e mandioca)	
	90 dias	180 dias
2011-02-23	2,715 a B	3,818 a A
Santa Helena	2,493 a B	2,976 b A
2011-02-02	2,442 a B	3,082 b A
2011-02-43	2,431 a A	2,618 bc A
2011-02-19	1,820b B	2,242 cd A
2011-02-12	1,653 b B	2,052 cd A
Ecuador 72	1,535 b A	1,900 d A
CV (%)	13,70	

Médias seguidas pela mesma letra na coluna (minúscula) e na linha (maiúscula) não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5%.

Esse aumento ocorreu, provavelmente, devido ao estágio de desenvolvimento ou da realização da poda na mandioca. Embora rutina seja um composto glicosídico constitutivo, no laboratório de Ecologia Química da Embrapa Soja já foi observado oscilações em função de estresses bióticos e abióticos impostos, em plantas de soja.

Genótipos com altas concentrações de rutina apresentam potencial em programas de melhoramento de mandioca, pois podem inibir o ataque de insetos (CALATAYUD 2000). Calatayud & Múnera, (2002) concluíram que a rutina, acrescentada à dieta artificial, afetou o crescimento e desenvolvimento da cochonilha, *P. manihoti*. Contudo, o efeito negativo da rutina sobre o inseto não é devido a uma ação tóxica da substância mas de uma ação fagoderrente. Também, em outras culturas, como a soja, observaram que rutina incorporada à dieta artificial de *A. gemmatilis*, afetou negativamente, o peso seco inicial das lagartas, o peso de pupa, o consumo e, ainda, prolongou o ciclo larval do inseto (SALVADOR et al., 2006; HOFFMANN-CAMPO et al., 2006). Harborne & Grayer (1993) afirmam que muitos flavonoides podem agir como deterrente alimentar para insetos fitófagos, até mesmo em concentrações relativamente baixas. Entretanto, além de fagoderrente, rutina aumenta a mortalidade, em populações de *A. gemmatilis* suscetíveis e resistentes ao baculovírus (PIUBELLI et al. (2006).

Dados obtidos por Calatayud et al., (1994a) comprovam que a infestação de *P. manihoti*, é sensível aos níveis de rutina independente do genótipo de mandioca utilizado no ensaio, dando suporte a hipótese de que a rutina esta ligada a resistência da planta de mandioca a *P. manihoti*. Essa informação é relevante e reforça a importância dos dados obtidos. Segundo Piubelli et al. (2005), genótipos com nível moderado de resistência a insetos, contendo compostos químicos de defesa, associado com outras táticas de controle manejo integrado de pragas, podem diminuir ou até mesmo eliminar o uso de inseticidas, contribuindo assim para a sustentabilidade ecológica de sistemas agrícolas.

Deste modo, faz-se necessário estudos adicionais com análises periódicas de genótipos para quantificar as concentrações da rutina e de outros compostos secundários ao longo do ciclo de desenvolvimento da cultura. Outro fator relevante são as condições climáticas, visto que a concentração de rutina varia de acordo com disponibilidade hídrica, diminuindo durante épocas secas, e condições nutricionais do solo (CALATAYUD et al., 1994b; CALATAYUD & MÚNERA, 2002). Além disso, relacionar a flutuação populacional e a biologia dos insetos pragas nos genótipos que apresentaram maiores concentrações de compostos secundários, afim de averiguar sua potencialidade na resistência varietal da cultura da mandioca.

Conclusão

Os genótipos 2011-02-02, 2011-02-23, 2011-02-43 e Santa Helena possuem as maiores concentrações de rutina aos 90 dias após plantio.

A maior concentração de rutina aos 180 dias foi observada no genótipo 2011-02- 23.



Os Genótipos 2011-02-02, 2011-02-12, 2011-02-19, 2011-02-23 e Santa Helena aumentaram a concentração de rutina após 180 dias.

Bibliografia

- BELLOTTI, A. C.; SMITH, L.; LAPOINTE, S. L. Recent advances in cassava pest management. **Annu. Rev. Entomol** v.44. p.343-370, 1999.
- BURBANO M, CARABALÍ A, MONTOYA-LERMA J, BELLOTTI AC. Resistencia natural de espécies silvestres de *Manihot* (Euphorbiaceae) a *Mononychellus tanajoa*, (Acariformes), *Aleurotrachelus socialis* y *Phenacoccus herreni* (Hemiptera). **Rev. Colombiana de Entomologia**. v. 33. p.110–115, 2003.
- CALATAYUD, P. A. Influence of linamarin and rutin on biological performances os *Phenacoccus manihoti* in artificial diets. **Entomol. Exp. Applic.** n.26. p.81-86, 2000.
- CALATAYUD, P. A., RAHBE, Y., DELOBEL, B., KHUONG-HUU, F., TERTULIANO, M., & RÜ, B. Influence of secondary compounds in the phloem sap of cassava on expression of antibiosis towards the mealybug *Phenacoccus manihoti*.. **Entomol. Exp. Applic.** v. 72, n. 1, p. 47-57, 1994a.
- CALATAYUD, P. A.; MÚNERA, D. F. Defensas naturales de la yuca a las plagas y artrópodos. In: OSPINA, B. I. A.; CEBALLOS, H (ed). **La yuca en el tercer milenio: sistemas modernos de producción, procesamiento, utilización y comercialización**. Cali: Colômbia, 2002. 586p.
- CALATAYUD, P. A.; TERTULIANO, N.; LE RU, B. Seasonal changes in secondary compounds in the phloem sap of cassava in relation to plant genotype and infestation by *Phenacoccus manihoti* (Pseudococcidae). **Bul. Entomol. Res.** v.84. p.453-459, 1994b.
- FARIAS, A.R.N.; BELLOTTI, A.C. Pragas e seu controle. In: SOUZA, L. da S.; FARIAS, A.R.N.; MATTOS, P.L.P. de; FUKUDA, W.M.G. (Ed.). **Aspectos socioeconômicos e agrônômicos da mandioca**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2006. Cap. 20. p.591-671.
- HARBORNE, J.B.; GRAYER, R.J. Flavonoids and insects. In: HARBORNE, J.B (ed). **The Flavonoids: advances in research since 1986**, London: Chapman & Hall, 1993.
- HOFFMANN-CAMPO, C.B.; RAMOS NETO J.A; OLIVEIRA M.C; OLIVEIRA L.J. Detrimental effect of rutina on *Anticarsia gemmatalis*., **Pesq. Agrop. Bras.** v. 41, p.1453-1459, 2006.
- PIUBELLI, G.C.; HOFFMANN-CAMPO, C.B.; MOSCARDI, F.; MIYAKUBO, S.H.; NEVES, M.C. DE Are chemical compounds important for soybean resistance to *Anticarsia gemmatalis*. **Journal of Chemical Ecology**, v.31, n.7, p.1515-1531, 2005.
- PIUBELLI, G. C.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; MOSCARDI, F.MIYAKUBO, S. H.; OLIVEIRA, M. C. N. de Baculovirus-resistant *Anticarsia gemmatalis* responds differently to dietary rutin. **Entomol. Appl.** v. 119, p. 53-60, 2006.
- SALVADOR, M.C.; BOIÇA JUNIOR, A.L.; HOFFMANN-CAMPO, C.B; NEVES, M.C.; SILVA, S.H.; GRAÇA, J.P.; ABRÃO, M.Z.; PITTA, R.M. Atividade biológica de *Anticarsia gemmatalis* em dieta artificial com diferentes concentrações de caseína e rutina. **Biológico**, São Paulo, v.68, Suplemento, p.452-455, 2006.
- SCHMITT, A.T. Principais insetos pragas da mandioca e seu controle. In: CEREDA, M. P. (eds.). **Agricultura: tuberosas amiláceas latino americanas**. São Paulo. Fundação Cargill, 2002. 539 p.