

39 dias após a semeadura e o tempo de infestação foi de sete dias. No campo, os insetos foram colocados nos telados 35 dias após a semeadura e mantidos nas plantas por 15 dias. As variáveis consideradas em relação aos danos da praga estão descritas no rodapé das tabelas.

O teste em situação de livre escolha (Tabela 3.1) discriminou melhor os materiais que o de confinamento (Tabela 3.2), observando-se uma separação mais clara dos grupos de genótipos. Em casa de vegetação, no teste de livre escolha, os melhores materiais foram a PI227687, BRQ 96-3065, KI-S 601 e Ocepar 17 (Tabela 3.3). No campo destacaram-se PI227687, BRQ 96-3065 e CS 201 (Tabela 3.4).

A análise dos resultados de todas as safras indica que a PI 227687 apresenta potencial para fonte de resistência a *S. subsignatus* e que o inseto discrimina mais os genótipos de soja em situação de livre-escolha, sugerindo a não-preferência como um dos mecanismos de resistência da soja a essa praga. Outros materiais, como BRQ 96-3065 e PI 171451, também mostraram algum potencial, mas precisam ser melhor avaliados em ensaios adicionais.

—♦♦♦♦♦—

3.2 Isolamento e identificação de substâncias químicas relacionadas à resistência da soja a insetos (04.2000.336-02)

Clara Beatriz Hoffmann-Campo; Lenita Jacob Oliveira; Sandra H. Miyakubo;
Giorla Carla Piubelli¹; Angélica Maria de Toledo²

3.2.1 Tempo de resposta e quantificação de isoflavonóides em genótipos de soja após danos de *Piezodorus guildinii*

Experimentos anteriores mostraram que os danos de percevejos fitófagos provocam o aumento da produção de isoflavonóides em sementes de soja. Sendo assim, avaliou-se o tempo de resposta ao aumento na

¹ UFPR (doutoranda)

² UNIFIL (estudante de biologia)

TABELA 3.1. Altura de planta e danos causados por *Sternechus subsignatus* em diversos genótipos de soja em situação de livre escolha em caixas de amianto¹. Ensaio 2. dezembro 2002/janeiro 2003.

Genótipo	Altura de planta (cm)	Nº de trifolíolos cortados/vaso	Nº posturas/vaso ²	Nº plantas mortas/vaso	Dano total/vaso ³	Nº galhas/vaso	Nº larvas mortas/vaso
BRQ 96 3065	33	3,1±0,72 bc	1,2±0,43 bc	1,3±0,15ab	5,0±0,80 b	0±0	1,2±0,43 bc
BRSM (Bacuri)	55	11,0±1,00abc	5,6±1,00a	0,3±0,15ab	11,0±1,00a	0,6±0,34	4,1±0,70abc
BRS 134	50	5,6±1,00abc	7,0±1,00a	0,4±0,16ab	13,0±1,16a	0,3±0,24	6,4±0,93a
CS 201	50	5,4±0,82abc	4,4±0,81ab	0,7±0,15a	10,5±1,24a	0,1±0,10	4,3±0,76ab
KI-S 601	42	7,3±1,29a	3,9±0,95abc	0,2±0,13ab	10,9±1,13a	0,1±0,10	3,5±0,81abc
Ocepar 17	63	4,0±0,99abc	2,4±0,78 bc	0,3±0,15ab	5,63±0,42 b	0±0	3,3±1,18abc
FT 17	53	6,6±0,79ab	5,4±1,10a	0,3±0,15ab	11,3±1,48a	0,1±0,10	4,9±1,03a
FT 2	55	7,9±1,02a	5,9±0,84a	0±0 b	12,4±1,10a	0,3±0,21	4,8±0,96ab
IAC PLS1	60	6,4±0,86ab	4,6±0,56ab	0±0 b	10,3±0,97a	0,44±0,24	4,0±0,50abc
PI 227687	47	2,1±0,55 c	0,6±0,34 c	0,2±0,13ab	2,9±0,60 b	0±0	0,6±0,34 c
Valor de F	-	4,04	6,86	2,44	16,39	1,39	4,78
Prob. F.	-	> 0,001	>0,001	0,02	>0,001	0,20	>0,001

¹ 10 plantas e 10 casais/caixa. Os insetos foram retirados das caixas 7 dias após a infestação, realizada 39 dias após a semeadura

² Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5%

³ Dano por alimentação (raspagens de 1 a 5 cm nos ramos e/ou caule) + trifolíolo cortado + postura + planta morta

TABELA 3.2. Danos causados por *Sternechus subsignatus* em diversos genótipos de soja em situação de confinamento em vasos¹. Ensaio 1. Dezembro 2002/janeiro 2003.

Genótipo	Nº de ² trifoliolos cortados/vaso	Posturas/vaso	Galhas/vaso	Plantas mortas/vaso	Dano total ³
BRSM (Bacuri)	12,6 ± 1,09 abc	5,3 ± 1,65	0,3 ± 0,21	0,5 ± 0,17	20,1 ± 2,90 ab
BRQ 96 3065	11,4 ± 0,60 abc	2,9 ± 0,99	0 ± 0	1,5 ± 0,37	15,8 ± 0,90 ab
BRS 134	13,5 ± 1,20 ab	8,8 ± 2,39	0,7 ± 0,50	2,0 ± 0,47	25,8 ± 3,80 a
Cs 201	11,3 ± 1,25 abc	7,1 ± 1,63	0,4 ± 0,31	1,0 ± 0,39	19,4 ± 2,21 ab
FT 17	12,2 ± 1,24 abc	6,0 ± 1,58	0,8 ± 0,36	1,1 ± 0,38	19,3 ± 2,65 ab
FT 2	15,7 ± 0,91 a	9,2 ± 1,06	0,6 ± 0,22	1,1 ± 0,28	26,0 ± 1,46 a
KI-S 601	14,1 ± 1,00 ab	8,5 ± 1,10	0,9 ± 0,30	1,4 ± 0,30	24,0 ± 1,94 ab
Ocepar 17	14,6 ± 1,08 ab	7,33 ± 1,70	0,7 ± 0,37	1,2 ± 0,29	25,1 ± 2,81 ab
PI 227687	9,9 ± 1,31 bc	4,5 ± 0,75	0,3 ± 0,15	0,7 ± 0,26	15,1 ± 1,35 b
IAC PL-1	8,2 ± 0,71 c	6,0 ± 0,27	0,6 ± 0,31	0,6 ± 0,31	14,8 ± 2,00 b
Valor de F	4,54	1,86	0,85	1,86	3,6
Prob. F	> 0,001	0,07	0,57	0,07	> 0,001

¹ 4 plantas e 2 casais/vaso. Os insetos foram retirados dos vasos 7 dias após a infestação, realizada 39 dias após a semeadura

² Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5%

³ Dano por alimentação (raspagens de 1 a 5 cm nos ramos e/ou caule) + folíolos cortados + postura + plantas mortas

TABELA 3.3. Danos causados por *Sternechus subsignatus* em diversos genótipos de soja, em situação de livre escolha, em gaiolas (6 X 4m) a campo¹. Ensaio 3. Safra 2002/2003.

Genótipo	Nº de posturas ²	Nº trifolíolos cortados/parcela	Plantas mortas	Dano total ³
BRSM (Bacuri)	3,38 ± 0,34ab	1,44 ± 0,34	2,06 ± 4,76ab	7,09 ± 0,47ab
BR 16	4,24 ± 0,31a	1,23 ± 0,24	2,5 ± 0,12a	6,11 ± 0,40ab
BRQ 96 3065	3,33 ± 0,32 bcd	1,31 ± 0,19	1,56 ± 0,17 bc	5,25 ± 0,42 bc
BRS 134	3,33 ± 0,32 bcd	1,26 ± 0,18	2,11 ± 0,15ab	6,97 ± 0,41a
CS 201	2,06 ± 0,31 cd	1,69 ± 0,21	1,42 ± 0,17 bc	4,97 ± 0,40 bc
FT 17	3,03 ± 0,33ab	1,79	1,47 ± 0,16 bc	6,69 ± 0,52ab
FT2	2,92 ± 0,34ab	1,94 ± 0,19	1,44 ± 0,17 bc	6,49 ± 0,40ab
IAC 100	2,81 ± 0,25 bc	1,44 ± 0,19	1,83 ± 0,14ab	6,08 ± 0,33ab
IAC 24	4,11 ± 0,30a	1,0 ± 0,16	2,28 ± 0,11ab	7,24 ± 0,30a
IAC PL-1	2,69 ± 0,30 bc	1,75 ± 0,18	1,56 ± 0,16 bc	6,14 ± 0,49ab
Ocepar 17	2,74 ± 0,31 b d	1,53 ± 0,22	1,64 ± 0,16 b	6,03 ± 0,41ab
PI 171451	4,09 ± 0,38a	1,42 ± 0,23	2,5 ± 0,23a	7,82 ± 0,44a
PI 227687	1,28 ± 0,17 d	1,28 ± 0,19	0,89 ± 0,14 c	3,44 ± 0,31 c
PI 229358	3,61 ± 0,31ab	1,44 ± 0,21	2,22 ± 0,15ab	7,28 ± 0,39a
KI-S 601	2,66 ± 0,29 bc	1,39 ± 0,21	1,67 ± 0,17 b	5,71 ± 0,42 b
Valor de F	8,0	1,56	8,58	9,48
Prob. F.	>0,001	0,09	>0,001	>0,001

¹ 9 linhas com 15 covas (3 plantas/cova). Infestação artificial: 135 casais/gaiola. Os insetos foram retirados das gaiolas 15 dias após a infestação, realizada 35 dias após a semeadura.

² Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5%.

³ Dano por alimentação (raspagens de 1 a 5 cm nos ramos e/ou caule) + trifolíolo cortado + postura + planta morta.

produção (elicitação) dos isoflavonóides daidzeína e genisteína. Para a elicitação, duas vagens de soja e quatro percevejos adultos (em jejum por 24 h) foram mantidos em gaiolas, feitas com placas de Petri durante 18 h. Após esse período de confinamento, os percevejos foram retirados, as vagens foram colhidas para o preparo dos extratos em três datas diferentes (3, 7 e 15 dias). A mesma quantidade de vagens dos genótipos foram mantidas em gaiolas, no entanto, sem percevejos para a preparação do extrato sem dano. As vagens foram abertas e após a identificação das partes danificadas em microscópio estereoscópico, recortadas para a preparação das amostras. Uma alíquota de cada genótipo (PI 229358, PI 171451, PI 274454, 'BRSMG 68', 'IAC-100' e 'Embrapa 4') foi injetada no HPLC para se obter as concentrações, estimadas através da comparação entre as equações construídas a partir das concentrações dos isoflavonóides padrões (genistina e daidzina).

A concentração de genistina variou nos diversos genótipos (Fig. 3.1 e 3.2) sendo as maiores concentrações observadas nos genótipos PI 229358, PI 171451 e BRSMG 68. Todos os genótipos aumentaram a sua produção de genistina após a elicitação (dano de percevejo), exceto IAC 100 (3 e 7 dias) e PI 171451 (3 dias). A concentração de genistina aumentou em todos os genótipos a medida que aumentou o tempo, entretanto, nas vagens danificadas por percevejos o aumento foi maior.

Em relação a daidzina, a resposta mais evidente, tanto ao tempo quanto à elicitação, foi observada na cultivar BRSMG 68 (Fig. 3.3). 'Embrapa 4' não respondeu a elicitação e nas vagens sem dano observou-se uma diminuição gradativa dos teores de daidzina ao longo do tempo, provavelmente relacionada com o ciclo da soja.

3.2.2 Análise cromatográfica dos conjugados das isoflavonas da soja

As isoflavonas mais comuns em soja são os glicosídeos daidzina e genistina. Entretanto, existem outros conjugados, tais como malonil e acetil, que segundo a literatura, são menos estáveis e fazem parte

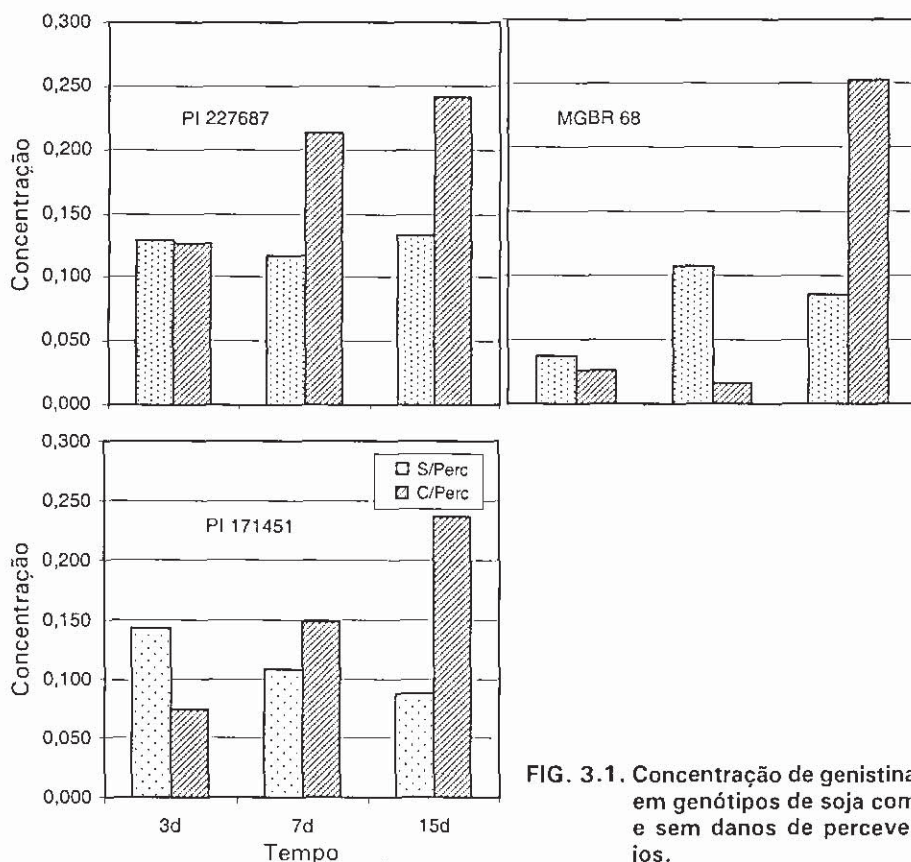


FIG. 3.1. Concentração de genistina em genótipos de soja com e sem danos de percevejos.

do metabolismo das gliceolinas (fitoalexinas). Além disso, após a hidrólise originam-se os aglicosídeos que são as formas mais reativas, pois não possuem açúcares em sua fórmula. Mais recentemente foi identificado outro isoflavonóide, a gliciteína e seus conjugados que possuem espectro muito semelhante aos descritos anteriormente. Para a identificação das diversas formas foram realizadas análises cromatográficas para o conhecimento dos tempos de retenção e dos traços do perfil cromatográfico obtido através do HPLC. Assim, procedeu-se a análise dos padrões que foram injetados separadamente, ou seja genisteína, daidzeína e gliciteína e seus conjugados, ou mistu-

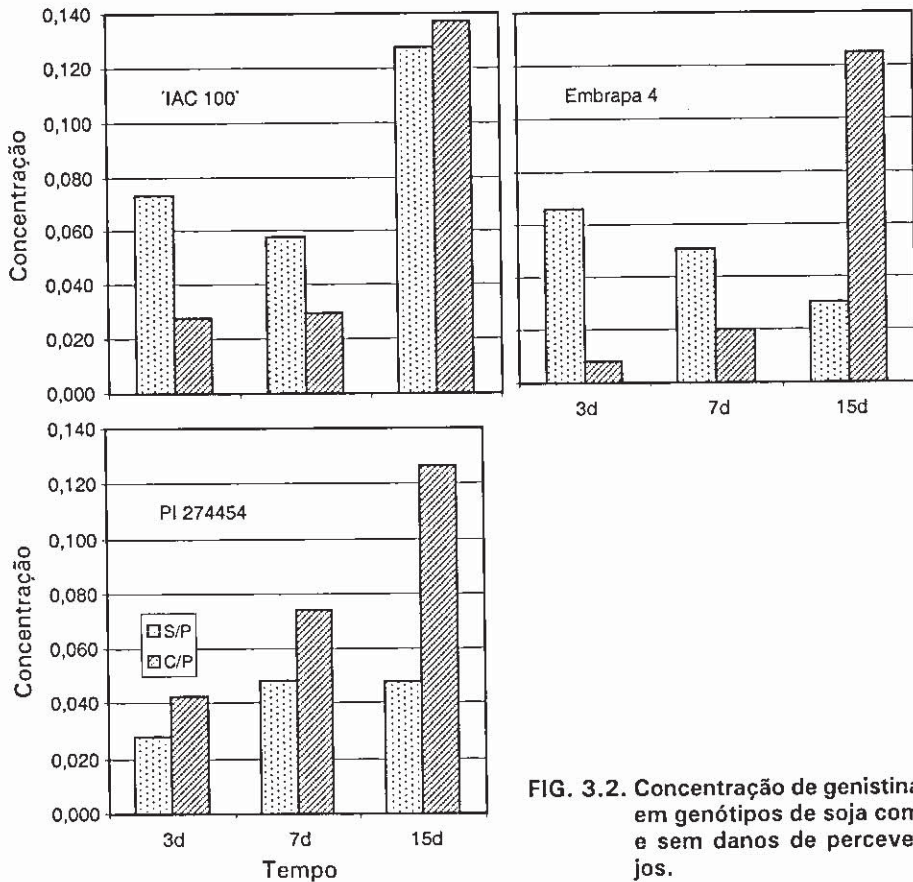


FIG. 3.2. Concentração de genistina em genótipos de soja com e sem danos de percevejos.

rados, que efetivamente é a forma que ocorrem na planta. Estes estudos básicos são importantes para a quantificação correta das substâncias químicas.

De um modo geral, o tempo de retenção obedeceu a seguinte ordem: glicosil > malonil > acetil > aglicona, mas quando injetadas de forma isolada a separação foi adequada (Fig. 3.4), observando-se todos os conjugados e a aglicona bem separados. Entretanto, quando os isoflavonóides foram misturados a separação não foi adequada, pois os tempos de retenção (Tabela 3.4) de alguns deles ficaram muito

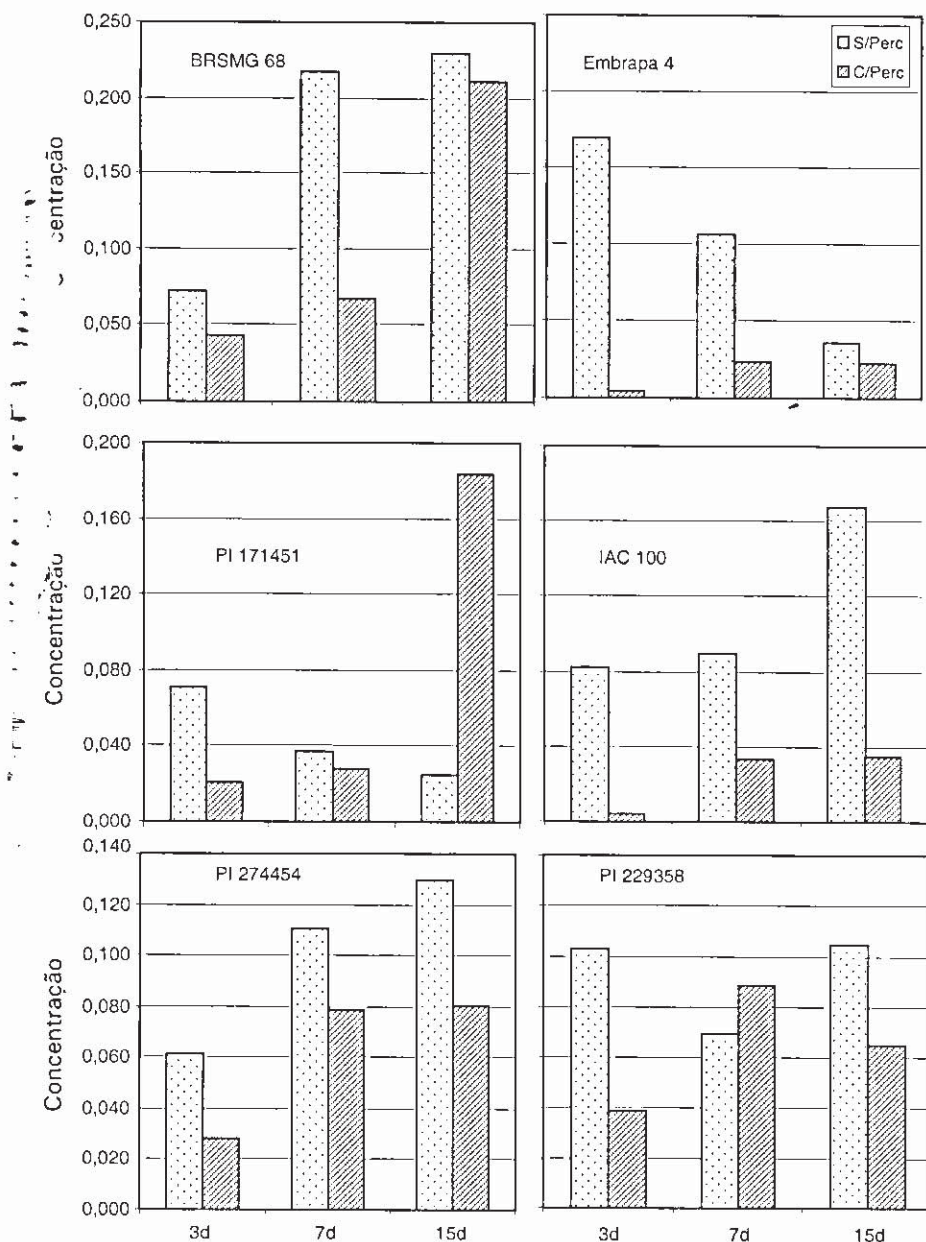


FIG. 3.3. Concentração de daidzina em genótipos de soja com e sem danos de percevejos.

próximas ou até no mesmo pico (Fig. 3.5). Aos 20 min, por exemplo, a genistina (glucosil), a malonil daidzeína e a malonil gliceteína foram eluídas praticamente juntas, formando um pico único, impossibilitando a sua quantificação individual, que é baseada na área de cada pico. O mesmo ocorreu com a aglicona daidzeína e o conjugado acetil genisteína, cuja separação não foi adequada. Sendo assim, outras combinações de solventes e outros sistemas de gradientes de eluição deverão ser testados, visando melhor separação entre os conjugados dos diferentes isoflavonóides.

TABELA 3.4. Tempos de retenção (minutos, centésimos de segundo) dos isoflavonóides da soja.

	Glucosil	Malonil	Acetil	Aglicona
Gliceteína	17,59	20,08	21,30	23,35
Daidzeína	18,03	19,59	21,25	23,02
Genisteína	19,43	22,13	23,35	26,28



3.3 Bioatividade de genótipos de soja resistentes a insetos e interações das suas substâncias químicas com as pragas, e os inimigos naturais (04.2000.336.03)

Clara Beatriz Hoffmann-Campo; Giorla C. Piubelli¹; Flávio Moscardi;
Sandra H. Miyakubo; Lenita J. Oliveira; Angélica M. Toledo²;
Antônio C. Ferreira Mendes

3.3.1 Efeito do flavonóide rutina sobre o predador *Podisus nigrispinus*

O objetivo do subprojeto foi identificar fontes de resistência genética de soja aos principais insetos-pragas, elucidando o tipo de resistência e

¹ UFPR (doutoranda)

² UNIFIL (estudante de biologia)