

ESTUDO DA RESISTÊNCIA DE PLANTAS DE ALGODÃO AO ATAQUE DE PULGÕES PELA DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE ÁCIDOS FENÓLICOS TOTAIS UTILIZANDO ELETRODO DE CARBONO VÍTREO

Magarelli, G.¹; Sousa Filho, I.A.^{1,2}, Hoffmann, L.V.³, Allem, L.N.³, Castro, C.S.P.¹

¹Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília/DF, clarissa.castro@embrapa.br; ²Universidade Católica de Brasília, Brasília/DF; ³Embrapa Algodão, Santo Antônio de Goiás/GO;

Projeto Componente: 2 Plano de Ação: 3

Resumo

A resistência ao ataque de pulgões de 20 genótipos de duas espécies de algodão (*G. hirsutum*, *G. barbadense*) foi investigada por meio de um método voltamétrico de pulso diferencial baseado na oxidação do ácido 3,4-dihidroxibenzóico em eletrodo de carbono vítreo. Os resultados obtidos indicam a ocorrência de uma defesa induzida (aumento da concentração de ácidos fenólicos totais) quando plantas de *G. hirsutum* são atacadas por pulgões e uma maior resistência dos genótipos da espécie *G. hirsutum* aos pulgões, por apresentarem uma concentração média de ácidos fenólicos totais de 111,4 µg/g.

Palavras-chave: Voltametria de Pulso Diferencial, Eletrodo de Carbono Vítreo, Ácidos Fenólicos Totais, Algodão, Resistência a Pulgões

Publicações relacionadas

SOUSA FILHO, I. A., MAGARELLI, G., HOFFMANN, L.V. CASTRO, C. S. P. Quantificação de Ácidos Fenólicos Totais em Amostras de Algodão da Embrapa Utilizando a Voltametria de Pulso Diferencial e o Eletrodo de Carbono Vítreo. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ELETROQUÍMICA E ELETROANALÍTICA, 19, 2013, Campos do Jordão – SP, 01 a 05 de abril de 2013.

Introdução

Devido à sua grande importância sócio-econômica, o algodão é cultivado em cerca de 30,28 milhões de hectares em todo o mundo, sendo o Brasil responsável por 833,7mil de hectares, o que coloca o país em quinto lugar no ranking mundial de área colhida e de produção do algodão (CIB, 2010). Hoje a região centro-oeste responde por 84% da produção brasileira de algodão, tendo o estado de Mato Grosso como maior produtor brasileiro. No Brasil são encontradas três espécies de algodão (gênero *Gossypium*): *G. hirsutum*, *G. barbadense* e *G. mustelinum*. A espécie *G. barbadense* é encontrada em quase todo o território nacional, preferencialmente em áreas indígenas e em fundos de quintal, onde tem sido utilizada como planta medicinal. A espécie *G. hirsutum* é a mais difundida e é responsável pela quase totalidade da produção comercial da fibra de algodão no Brasil.

Uma das consequências das grandes áreas cultivadas com algodão no Brasil está relacionada

ao aumento de pragas que atacam essa cultura, causando danos crescentes à produção. O pulgão do algodoeiro, *Aphis gossypii*, é uma das primeiras pragas que ocorrem no algodão, podendo ser presenciada logo após a germinação das plantas. É um inseto de tamanho pequeno, de coloração variável do amarelo-claro ao verde escuro, que atua como vetor de duas viroses para o algodoeiro conhecidas como vermelhão e doença azul (GABRIEL, 2010). Alguns estudos vêm demonstrando que algumas variedades de algodão apresentam uma defesa significativa contra o pulgão (ALIMUKHAMEDOV; SHVETSOVA, 1988). Estas variedades mais resistentes apresentam alto teor de compostos fenólicos, metabólitos secundários sintetizados durante o desenvolvimento normal da planta ou em resposta a infecções, lesões físicas ou outras formas de stress. Portanto, a identificação e quantificação de possíveis compostos fenólicos que possam ser usados no campo em armadilhas, no desenvolvimento de plantas de algodão melhoradas geneticamente, apresentam grande

interesse e potencial para sua utilização no manejo de pragas. Para a utilização correta dos compostos fenólicos no monitoramento integrado de pragas do algodão, faz-se necessário o conhecimento de como esses compostos são usados no meio ambiente pelas plantas, isto é a taxa de liberação e a quantidade produzida antes e após o ataque dos insetos. Neste contexto, este trabalho apresenta a utilização de um método baseado na voltametria de pulso diferencial e eletrodo de carbono vítreo, para o estudo da resistência de duas espécies de algodão (*G. hirsutum*, *G. barbadense*), ao ataque de pulgões, onde os ácidos fenólicos foram utilizados como indicadores da resistência.

Materiais e métodos

O plantio das espécies *G. hirsutum* (5 genótipos) e *G. barbadense* (15 genótipos) foi realizado em dezembro de 2011, na Fazenda Capivara, em Santo Antônio de Goiás (Embrapa Algodão, Núcleo Cerrado). Para o estudo da resistência, as plantas foram coletadas em junho de 2012, com cerca de 160 dias. Como foram feitas aplicações regulares de inseticida, a presença de pulgões não foi frequente. Foram selecionados os genótipos que apresentavam os insetos. Foram coletadas duas folhas de uma mesma planta, uma folha com presença de pulgões e outra folha com ausência de pulgões (controle). As plantas que apresentavam pulgões possuíam de 1 a 8 indivíduos, sendo que a maioria possuía somente 1 ou 2, não havendo portanto uma grande infestação. Todas as folhas foram do terço superior da planta. As amostras de algodão foram preparadas por extração etanólica (25%) de 0,1 g das folhas desidratadas e maceradas, seguida de agitação pendular (1 h) e centrifugação (10 min., 13.000 rpm). As análises de ácidos fenólicos totais foram realizadas utilizando-se a voltametria de pulso diferencial e um analisador voltamétrico Metrohm 797 acoplado a uma célula eletroquímica composta pelos eletrodos: carbono vítreo ($\Phi = 2,0$ mm) (trabalho); Ag/AgCl (KCl 3 mol L⁻¹) (referência) e platina (auxiliar). Antes das medidas voltamétricas, o eletrodo de carbono vítreo foi polido em suspensão aquosa de alumina 1,0 μ m e sonicado com acetona por 5 minutos. Entre cada medida voltamétrica, o eletrodo de carbono vítreo foi limpo eletroquimicamente por cinco ciclos entre 0 e 1,8 V. Os reagentes utilizados nos experimentos foram de grau analítico (Sigma-Aldrich). As soluções estoque dos ácidos fenólicos de concentração 10⁻³ mol L⁻¹

foram preparadas em uma mistura etanol-água 1:1 (v/v). As melhores condições eletroquímicas e de análise obtidas foram: tampão fosfato pH 3,0, como eletrólito suporte; amplitude de pulso de 50 mV e velocidade de varredura de 50 mVs⁻¹. A quantificação de ácidos fenólicos totais nas amostras foi realizada por adição padrão do ácido 3,4-dihidroxibenzoico 10⁻³ mol L⁻¹.

Resultados e discussão

As amostras de algodão analisadas apresentaram em seus voltamogramas um pico de corrente máximo em 0,4 V, coincidente com os picos de oxidação dos ácidos gálico, clorogênico, gentísico, cafeico e 3,4-dihidroxibenzoico (Fig. 1). O ácido 3,4-dihidroxibenzoico foi utilizado como padrão nas análises por apresentar um pico de oxidação mais sensível em relação aos demais ácidos e menor deslocamento de potencial em relação ao da amostra.

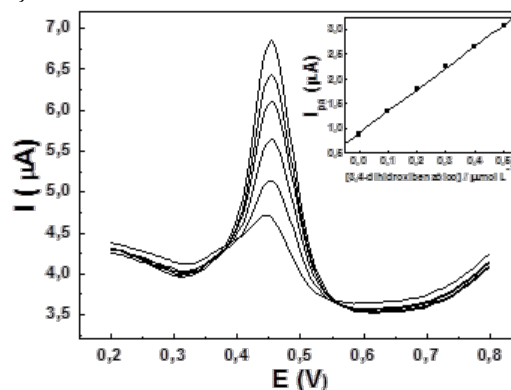


Fig. 1. Voltamograma de pulso diferencial de 350 μ L do extrato da amostra (PA 04150 - *G. barbadense*) em tampão fosfato pH = 3, com adições sucessivas de 1 μ L do ácido 3,4 dihidroxibenzoico 10⁻³mol L⁻¹. Amplitude de pulso de 50 mV e velocidade de varredura de 50 mVs⁻¹.

O método voltamétrico de determinação dos ácidos fenólicos totais foi validado segundo o documento orientativo do Inmetro (INMETRO, 2011) e os resultados obtidos para o ácido 3,4 dihidroxibenzoico foram: Limite de Detecção (LD)= 1,7 x 10⁻⁸ mol L⁻¹; Limite de Quantificação (LQ)= 1,0 x 10⁻⁷ mol L⁻¹; faixa linear =1,0 x 10⁻⁷ a 1,0 x 10⁻⁶ mol L⁻¹; repetitividade do método = apresentou RSD com a faixa entre 4,93% a 17,68% (n=7); Recuperação = 94%. No estudo de defesa induzida, verificou-se uma maior concentração de ácidos fenólicos totais (acima de 140 μ g/g) nas folhas atacadas por pulgões de 2 genótipos do *G. barbadense*

(AP04102 e T-15) e de 2 genótipos do *G. hirsutum* (CNPA97-06 e LOUISIANA OKRA-2) (Fig. 2), sugerindo uma maior resistência destes genótipos ao ataque de insetos. Considerando a espécie *G. hirsutum*, observou-se ainda que as plantas atacadas por pulgões de todos os genótipos apresentaram uma maior concentração de ácidos fenólicos totais quando comparadas com as plantas controle, sugerindo uma defesa induzida pelo ataque.

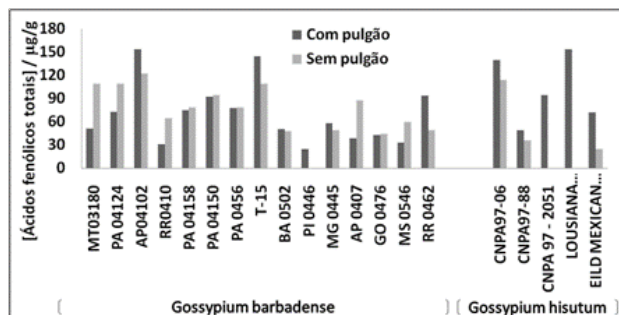


Fig. 2. Concentração de ácidos fenólicos totais nas folhas atacadas e não atacadas por pulgão das espécies de algodão estudadas, por genótipo.

Ao se comparar ainda as espécies de algodão estudadas, os dados mostram que as plantas da espécie *G. hirsutum* submetidas ao ataque dos pulgões apresentaram uma média de concentração de ácidos fenólicos totais maior que as da espécie *G. barbadense* (Tab. 1). Este resultado sugere uma maior resistência dos genótipos da espécie *G. hirsutum* ao ataque dos insetos. Apesar destas evidências, a análise estatística dos dados (Teste t $\alpha = 0,05$) mostrou que não há diferença significativa entre: as concentrações de ácidos fenólicos totais nas plantas controle e atacadas por pulgões de *G. hirsutum*; as médias das concentrações dos ácidos fenólicos totais nas folhas atacadas por pulgões das duas espécies estudadas (Tab. 1). Estes resultados estatísticos indicam que há necessidade de estudos complementares para confirmar qual espécie e quais genótipos são mais resistentes e ainda se a herbivoria induz uma defesa aos insetos. Nestes estudos complementares, deve-se aumentar o número de genótipos da espécie *G. hirsutum* e também controlar algumas condições críticas do plantio (temperatura, umidade, luz, pulverizações, infestação, idade das plantas).

Tab. 1: Concentrações de ácidos fenólicos totais nas folhas de algodão atacadas e não atacadas por pulgão das espécies *G. barbadense* e *G. hirsutum*.

Espécie	<i>G. barbadense</i>	
	com pulgão	sem pulgão
média (µg/g) / ¹ CV(%) / ² v	69,45 / 55 / 30	78,61 / 35 / 25
Espécie	<i>G. hirsutum</i>	
	com pulgão	sem pulgão
média (µg/g) / CV(%) / v	111,4 / 41 / 9	63,10 / 74 / 4
teste t (comparação de médias – plantas <i>G. hirsutum</i> com e sem pulgão)	t calculado (1,913) < t tabelado (2,160) / variâncias equivalentes	
teste t (comparação de médias – plantas com pulgão)	t calculado (1,561) < t tabelado (2,100) / variâncias equivalentes	

¹ coeficiente de variação; ² Número de graus de liberdade (N-1)

Conclusões

O método eletroanalítico mostrou-se uma ferramenta em potencial para identificar genótipos de algodão resistentes ao ataque de insetos. Os resultados obtidos sugerem: a ocorrência de uma defesa induzida quando plantas de *G. hirsutum* são atacadas por pulgões; maior resistência dos genótipos da espécie *G. hirsutum* ao ataque de pulgões.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq, a CAPES, a UCB e a Rede Agronano – Embrapa.

Referências

- ALIMUKHAMEDOV, S.; SHVETSOVA, L. Immunity of cotton to pests. Khlopok, Moskva, v. 4, p. 26, 1988.
- CIB. Guia do Algodão. 2010. Cartilha em PDF. Disponível em :<<http://cib.org.br/wpcontent/uploads/2011/10/GuiaAlgodaoSet2010.pdf>>. Acesso em: 4/4/2013.
- GABRIEL, D. Pulgão do algodoeiro: um sério problema. 2010. Artigo em Hypertexto. Disponível em:<http://www.infobibos.com/Artigos/2010_1/pulgao/index.htm>. Acesso em: 4/4/2013.
- INMETRO. DOQ-CGCRE-008 Orientação sobre validação de métodos analíticos. rev-04. INMETRO, p. 19. (DOQ), 2011.