

Biologia da lagarta-da-soja em dieta enriquecida com diferentes concentrações de rutina e genistina

Mariana C. Salvador¹; Sandra H. Miyakubo¹; Sérgio Henrique da Silva¹; Maria Cristina Neves de Oliveira¹; Clara Beatriz Hoffmann-Campo². ¹Estagiários da Embrapa Soja; ²Embrapa Soja.

Introdução

Anticarsia gemmatalis Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) também conhecida como lagarta-da-soja é uma das principais pragas desfolhadoras da soja, e no Brasil encontra-se distribuída em praticamente todas as áreas de cultivo. O uso indiscriminado de inseticidas para o controle desta praga aumenta as agressões ambientais, causando desequilíbrio no início do desenvolvimento da cultura. Assim, outras técnicas de controle estão sendo pesquisadas e a resistência de plantas é uma das alternativas.

Os mecanismos de defesa da planta abrangem uma série de características morfológicas e, também, um complexo de substâncias químicas, que podem torná-la repelente, tóxica ou, de algum modo, inadequada para os insetos-praga (PIUBELLI 2004). Na soja, as substâncias de defesa mais prováveis são os flavonóides (HOFFMANN-CAMPO 1995) e, dentre eles, a rutina (quercitina 3-O-rutinosídeo) é reconhecida por desempenhar papel importante na defesa da planta a lepidópteros (HOFFMANN-CAMPO et al, 2001). Esta substância foi identificada em extratos de folhas de PI 227687, PI 274454 e outros poucos genótipos resistentes a insetos (PIUBELLI et al, 2005). Adicionalmente, o isoflavonóide genistina (genisteína 7-O-β-D-glicosídeo) foi observado em menor concentração na maioria dos genótipos estudados por PIUBELLI, et al (2005).

Este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade biológica da interação das substâncias químicas rutina (quercitina 3-O-rutinosídeo) e genistina em populações de *A. gemmatalis*.

Material e Métodos

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Resistência de Plantas e Fitoquímica da Embrapa Soja, em Londrina, PR. Rutina (Sigma) e a genistina, obtida por um processo de cristalização e recristalização (M. A. Berhow, com. pessoal), a partir de um concentrado de isoflavonas da marca Novasoy, cedido pela ADM (Archer Daniels Midland Co), foram utilizadas nos bioensaios.

Cristalização: Para a cristalização, 20g de concentrado de isoflavonas (Novasoy) foi solubilizado em 1000ml de MEOH e aquecido sob agitação até 50°C, quando adicionou-se 100ml de H₂O destilada. Após esfriar completamente, a solução foi colocada na capela em repouso até a precipitação dos cristais de genistina e filtrado. O líquido resultante foi deixado em Becker semiaberto por aproximadamente 12h e, novamente, filtrado.

Recristalização: A pureza dos precipitados foi monitorada através da análise em HPLC (High-Performance Liquid Chromatography) e o precipitado com maior teor de genistina, foi solubilizado em MEOH, até a obtenção de uma solução clara e transparente. Esta solução foi aquecida sob agitação até atingir 50°C, quando adicionou-se 10% de H₂O destilada. O processo de cristalização (evaporação e precipitação), foi repetido, até que se obtivesse acima de 95 % de genistina.

As substâncias rutina 0,25g (R₁) e 0,50 g (R₂), genistina 0,017g (G₁) e 0,034g (G₂), a mistura das duas substâncias 0,25g de rutina + 0,017g de genistina (R+G), foram adicionadas quando a dieta artificial atingiu 40°C. Dieta normal, sem adição de nenhuma substância foi considerada testemunha. A concentração de genistina foi corrigida para 100% de pureza.

As lagartas provenientes do laboratório de criação massal da Embrapa Soja, foram criadas desde a emergência em suas respectivas dietas e, na pré muda para o 3º instar, foram pesadas e individualizadas em copos de acrílico com tampas de papelão esterilizadas. A dieta contida em cada copo foi pesada antes e após o consumo. Os copos foram colocados em bandejas com tampa para evitar perda de umidade da dieta, e mantidas

em B.O.D. com fotofase de 12h, temperatura de $25 \pm 2^\circ \text{C}$ e umidade de $70 \pm 10\%$. As lagartas foram observadas diariamente, avaliando a mortalidade e o tempo de alimentação de cada estágio.

Para a obtenção do fator de correção peso fresco/seco, cinco indivíduos foram pesados, mortos e secos em estufa por (72h, 60°C) e novamente pesados. O valor obtido foi multiplicado pelo peso fresco de cada lagarta do bioensaio. O mesmo procedimento foi adotado para o cálculo do peso seco da dieta oferecida aos insetos. A dieta remanescente nos copos foi separada das fezes, sendo ambas secas em estufa (72h, 60°C). A quantidade de dieta consumida pelas lagartas foi obtida, subtraindo-se do peso seco inicial da dieta corrigido, a quantidade de dieta restante nos copos.

As pré-pupas foram individualizadas em copos com vermiculita e mantidas sob condições controladas de temperatura, luz e umidade. Após 48h da transformação, as pupas foram pesadas (peso fresco) e transferidas para estufa (72h, 60°C) e, novamente, pesadas (peso seco).

A análise de covariância (ANCOVA) proposta por RAUBENHEIMER & SIMPSON (1992) seguida de diagramas bicoordenados de utilização (RAUBENHEIMER & SIMPSON, 1994) foram utilizados para estimar o crescimento (peso de pupa ajustado pelo tempo de alimentação), consumo alimentar (dieta consumida ajustada pelo tempo de alimentação), eficiência na assimilação (peso de fezes ajustado pelo consumo) e conversão dos alimentos ingeridos em biomassa (peso de pupa ajustado pelo consumo). Todas as análises de covariância foram realizadas utilizando-se os pesos secos das variáveis.

Resultados e Discussão

A mortalidade observada em *A. gemmatilis* segundo o teste $\chi^2_{(5, 0.05)}$ ocorreu em função dos diferentes tratamentos, e morreram respectivamente, 34,28% e 25,70% dos insetos alimentados de dietas R_2 e $R+G$.

O tempo de alimentação total foi afetado pelos diferentes tratamentos. Na testemunha, G_1 e G_2 , o desenvolvimento das lagartas foi mais rápido.

Nos demais tratamentos observou-se um prolongamento no ciclo larval do inseto. As populações alimentadas em dieta R_1 , R_2 e R+G apresentaram período de alimentação mais longo, comparado aos demais tratamentos. Para equilibrar o baixo aproveitamento nutricional e custos metabólicos a que são submetidos, os insetos alongam seu ciclo para atingir o peso ideal necessário para a fase de pupa e posterior reprodução (PIUBELLI 2004). Porém, desta forma ficam suscetíveis aos fatores naturais de mortalidade, por um período maior.

Os maiores pesos secos iniciais de lagartas (0,68; 0,59 e 0,67) e de pupa (61,56; 58,15 e 57,08) foram observados quando os insetos se alimentaram das dietas G_2 , G_1 e testemunha, respectivamente, sugerindo que os tratamentos G_1 e G_2 não apresentam nenhum efeito antinutricional ou repelente aos insetos. No entanto, na menor concentração, misturada com rotina, observou-se o menor peso de pupa, comparável àquele, obtido pelas lagartas alimentadas com a dieta R_2 .

Lagartas alimentadas de dietas contendo a maior concentração de genistina G_2 consumiram a maior quantidade de dieta (302,28mg). Provavelmente, devido a *A. gemmatalis* estar acostumada com esta substância, que além das folhas, está também presente nos grãos de soja; a proteína de soja faz parte da composição da dieta artificial utilizada para a criação das lagartas. Os insetos alimentados com dieta R_2 também consumiram grande quantidade de dieta (290,51g) mas, apresentaram o menor crescimento (peso de pupa ajustado pelo tempo de alimentação), provavelmente por terem sido menos eficientes na conversão do alimento ingerido em biomassa (peso de pupa ajustado pelo consumo) e na assimilação dos alimentos (peso de fezes ajustado pelo consumo). Assim, observou-se que mesmo aumentando o consumo (dieta consumida ajustada) pelo tempo de alimentação, as lagartas não apresentaram proporcional aumento no peso. Esses fatos evidenciam que os insetos falharam em detectar rotina na dieta, pois o consumo não foi afetado pela adição do flavonóide. As lagartas alimentadas de dieta R + G consumiram menos que R_2 , mas foram mais eficientes na conversão do alimento ingerido. Porém, o peso seco de pupa, o peso de fezes e o tempo de alimentação não diferiram significativamente do tratamento R_2 .

Referências

- HOFFMANN-CAMPO, C.B. Role of the flavonoids in the natural resistance of soybean to *Heliothis virescens* (F.) and *Trichoplusia ni* (Hübner). **Ph.D. Dissertation, The University of Reading, Reading, 165p. 1995.**
- HOFFMANN-CAMPO, C.B.; J.B. HARBONE; A.R. MCAFFERY. 2001. Pre-ingestive and post-ingestive effects of soya bean extracts and rutin on *Trichoplusia ni* growth. *Entomol. Exp. Applic.* 98: 181-194.
- PIUBELLI, G.C; HOFFMANN Bioatividade de genótipos de soja resistentes a *A. gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) e interações de suas substâncias químicas com inimigos naturais. Curitiba-PR. Tese Doutorado. Universidade Federal do Paraná, 2004
- PIUBELLI, G.C.; HOFFMANN-CAMPO, C.B.; MOSCARDI, F.; MIYAKUBO, S.H.; OLIVEIRA, M.C de. 2005. Are chemical compounds important for soybean resistance to *Anticarsia gemmatalis*. *J. Chem. Evol.* 31 (7): 1515-1531.
- RAUBENHEIMER, D.; S.J. SIMPSON. 1992. Analysis of covariance: an alternative to nutritional indices. *Entomol. Exp. Appl.* 62: 221-231.
- RAUBENHEIMER, D.; S.J. SIMPSON. 1994. The analysis of nutrition budgets. *Funct. Ecol.* 8: 783-791.