

## COMPOSTOS DE DEFESA EM GENÓTIPOS DE SOJA UTILIZADOS COMO FONTES DE RESISTÊNCIA À MOSCA-BRANCA, *Bemisia tabaci* BIÓTIPO B

DEFENSE COMPOUNDS IN SOYBEAN GENOTYPES USED AS SOURCES OF RESISTANCE TO WHITEFLY BIOTYPE B, *Bemisia tabaci*

VIEIRA, S.S.<sup>1</sup>; LOURENÇÃO, A.L.<sup>1</sup>; JANEGITZ, T.<sup>2</sup>; GRAÇA, J.P.<sup>3</sup>; UEDA, T.<sup>4</sup>; SALVADOR, M.C.<sup>5</sup>; LEMES, T.<sup>5</sup>; OLIVEIRA, M.C.N.<sup>6</sup>; BUENO, A.F.<sup>6</sup>; HOFFMANN-CAMPO, C.B.<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Instituto Agronômico de Campinas/ IAC, SP; e-mail: [simonesilva123@yahoo.com.br](mailto:simonesilva123@yahoo.com.br)

<sup>2</sup> Universidade Estadual de Maringá/ UEM, PR

<sup>3</sup> UNESP – Jaboticabal, SP;

<sup>4</sup> Centro Universitário Filadélfia/ UniFil, PR;

<sup>5</sup> Universidade Estadual de Londrina/ UEL, PR;

<sup>6</sup> Embrapa Soja, Londrina - PR

### Resumo

Durante todo seu ciclo, a soja é atacada por diversos insetos e patógenos. Recentemente, altas infestações da mosca-branca *Bemisia tabaci* biótipo B vem sendo relatadas, causando danos a essa cultura. O uso de cultivares resistentes é o método ideal de controle, tendo sido identificadas cultivares com nível moderado de resistência a esse inseto. Assim, objetivou-se com este trabalho levantar e caracterizar quimicamente os compostos secundários envolvidos na resistência a essa praga. Folhas dos diferentes genótipos foram coletadas e maceradas em N<sub>2</sub> líquido, adicionando-se MeOH-80% para extração dos compostos de defesa constitutivos e/ou induzidos. Os extratos preparados foram submetidos à cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) para identificação dos compostos de defesa. A rutina foi a principal substância encontrada nos genótipos resistentes à mosca-branca. O genótipo “Barreiras” apresentou as maiores concentrações das substâncias relacionadas à defesa de plantas, como rutina, genistina e genisteína. Em geral, as concentrações dos metabolitos secundários glicosilados (rutina, genistina, e malonil genistina) aumentaram no final do estágio vegetativos (V7 e V8) e a aglicona (genisteína) atingiu sua maior concentração no estágio V4.

### Introdução

As ninfas de mosca-branca *Bemisia tabaci* biótipo B sugam a seiva do floema das plantas hospedeiras podendo causar danos diretos e indiretos além de transmitir viroses (BROWN & BIRD, 1992). Na soja, o ataque desse inseto reduz as taxas de fotossíntese e causa murcha e queda das folhas, encurtando o ciclo da cultura e resultando queda da produtividade. As perdas de produtividade podem chegar a 100%, conforme os níveis populacionais da mosca-branca (EMBRAPA SOJA, 2010).

Por este inseto ser uma praga de difícil controle, é importante que se adotem estratégias de manejo com base em um programa de Manejo Integrado de Pragas (MIP). A identificação e a caracterização de fontes de resistência varietal são o primeiro passo para o melhoramento genético vegetal visando obter cultivares resistentes ao ataque de insetos-praga. Sabe-se que alguns genótipos de soja resistentes a insetos, possuem concentrações variáveis de flavonóides, como o flavonol rutina e a isoflavona genistina, que afetam o desenvolvimento de lagartas desfolhadoras como *Trichoplusia ni* (HOFFMANN-CAMPO *et al.*, 2001) e *A. gemmatilis* (HOFFMANN-CAMPO *et al.*, 2006). Porém, são raras informações sobre o efeito desses compostos fenólicos sobre mosca-branca e mesmo sobre outros insetos

que se alimentam do floema das plantas. Essas informações são importantes para os programas de melhoramento pois podem acelerar o processo de obtenção de cultivares resistente a mosca-branca. Sendo assim objetivou-se identificar e caracterizar quimicamente os metabólitos secundários presentes nos genótipos de soja que possam estar relacionados com a resistência à mosca-branca.

### Material e Métodos

As plantas de soja : 'IAC 17', 'IAC 19', 'IAC 24', 'IAC Holambra Stewart', 'Barreiras', 'Doko' e 'Vencedora' foram cultivadas em vasos plásticos e mantidas em casa de vegetação. Folhas dos diferentes genótipos foram coletadas em diferentes estádios de desenvolvimento, V<sub>3</sub> até V<sub>8</sub>, a partir da infestação com *B. tabaci* biótipo B(FEHR & CAVINESS, 1977).

Para a extração dos compostos secundários as folhas foram maceradas em nitrogênio líquido em almofariz, acrescentando-se metanol (MeOH)-80%, na proporção 10:1 (volume do solvente/peso da amostra) e submetidas em banho de ultrassom por 20 min. Em seguida as amostras foram centrifugadas a 6000 rpm por 5 min a 4°C. Em seguida, as amostras foram secas em fluxo de nitrogênio gasoso. folhas amostras foram então ressolubilizados em 1,2 ml de MeOH 80% e filtrados em filtros-seringa (Acrodiscs) e transferidos para os vials do auto-injetor. Uma alíquota de 10µL foi injetada no HPLC, modelo LC-20A Prominence (Shimadzu), equipado com Detector de fotodiodo SPD-M20A. As análises foram realizadas em coluna analítica (C18, fase reversa, 250 X 4,6 id), em gradiente linear com fases móveis compostas de (i) 2% de ácido acético (HOAc) e (ii) MeOH:HOAc:H<sub>2</sub>O, 18:1:1. A identificação dos compostos foram realizadas através da comparação do tempo de retenção na coluna e dos espectros dos picos obtidos com essas características dos padrões de ácidos fenólicos, principalmente ácido salicílico e flavonóides (flavonóis, isoflavonas, gliceolinas, etc).

Os dados foram submetidos à análise exploratória para a verificação de todos os pressupostos exigidos para a análise de variância (ANOVA). Em seguida, realizaram-se comparações múltiplas das médias pelo teste Tukey pelo menos a 5% de probabilidade.

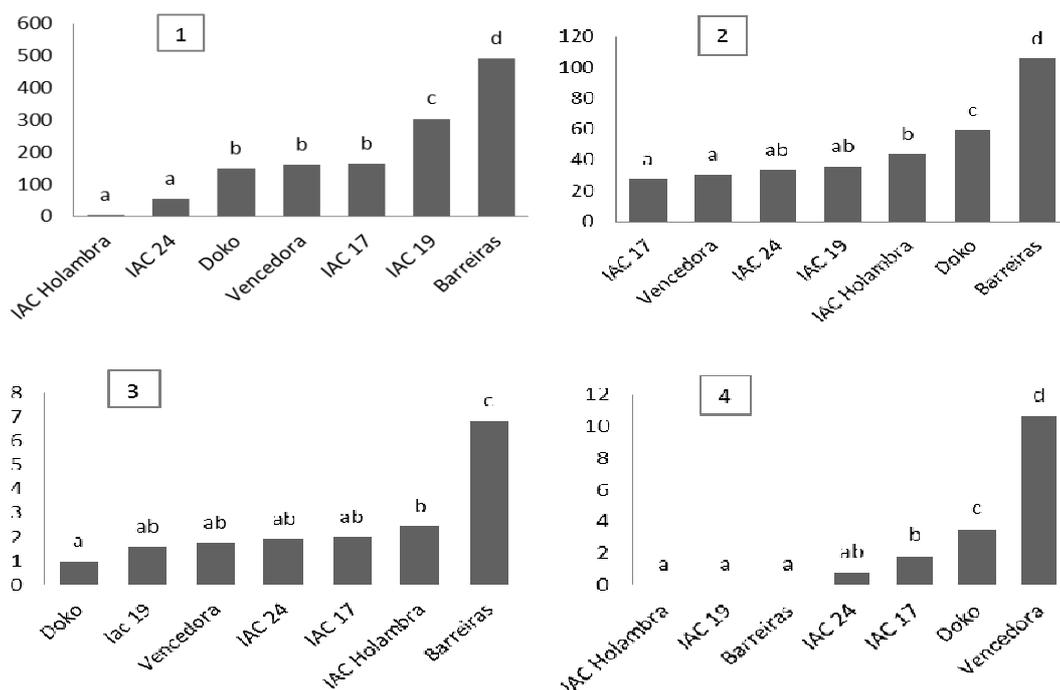
### Resultados e Discussão

Nas análises cromatográficas dos extratos dos genótipos estudados foram identificados os metabólitos secundários genistina, rutina, malonil genistina e genisteína; em maiores concentrações genistina e rutina. Os resultados mostraram que a cultivar "Barreiras" apresentou maior concentração das substâncias genistina, rutina e genisteína, diferindo-se dos demais genótipos estudados (Figura 1).

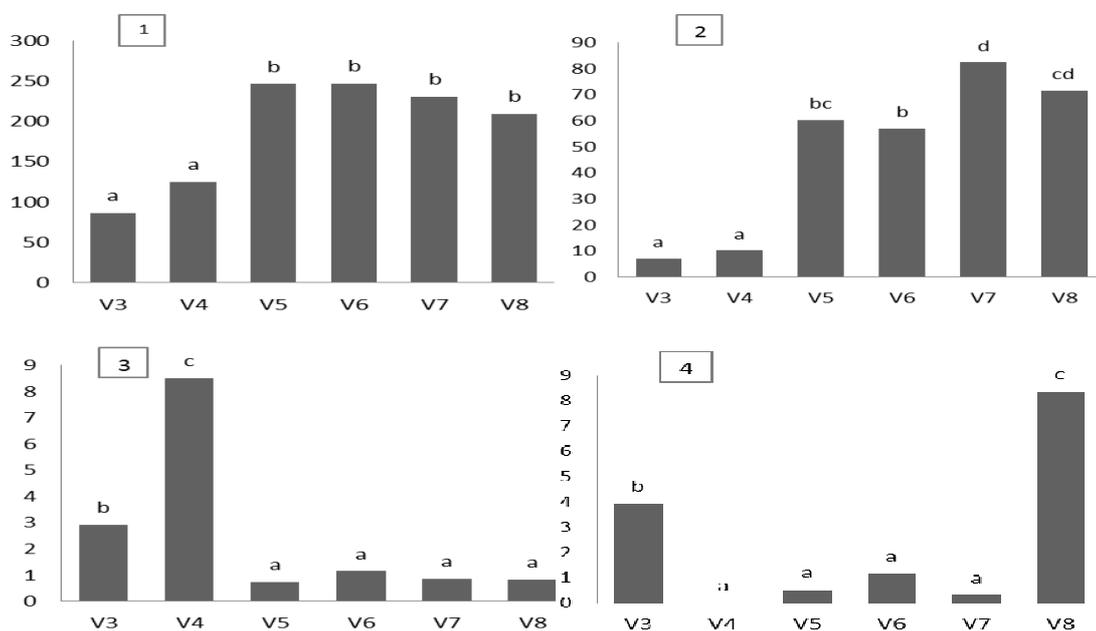
A concentração de rutina foi maior em relação às demais substâncias principalmente nos genótipos resistentes a mosca-branca, com concentrações de 492,79 ng/mg em 'Barreiras', 304,54 ng/mg em 'IAC 19', 165,32 ng/mg em 'IAC 17', 161,31 ng/mg em 'Vencedora' e 149,13 ng/mg em 'Doko'. No genótipo aceito como padrão de suscetibilidade "IAC Holambra" a concentração de rutina foi de 5,83 ng/mg, o que pode ser considerado mais baixa em relação aos demais genótipos. Apesar do genótipo 'IAC 24' apresentar resistência múltipla a insetos, a concentração de rutina encontrada foi de apenas 55,63 ng/mg.

O flavonol rutina é reconhecida por desempenhar papel importante na defesa da planta contra desfolhadores (HOFFMANN-CAMPO et al. 2001; 2006). Assim sendo, esse flavonol identificado em maior intensidade nos genótipos resistentes, pode também estar relacionado à resistência à mosca-branca. Porém estudos adicionais ainda estão em andamento para fortalecer esta hipótese.

As concentrações das substâncias identificadas variaram nos diferentes estádios vegetativos das plantas. No entanto, vale ressaltar que a rutina foi encontrada em maior quantidade (acima de 200 ng/mg) após o estágio fenológico V<sub>5</sub> apresentando um padrão de concentração crescente, ou seja o aumento ocorreu conforme o desenvolvimento da planta. O mesmo ocorreu com a isoflavona genistina (Figura 2). Enquanto genisteína (aglicona) e malonil genistina ocorreram, respectivamente, com maior intensidade nos estádios V<sub>4</sub> e V<sub>8</sub>.



**Figura 1.** Concentrações de isoflavonas (ng/mg) (rutina<sup>1</sup>, genistina<sup>2</sup>, genisteína<sup>3</sup>, malonil genistina<sup>4</sup>) nos diferentes genótipos de soja. Letras iguais não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%.



**Figura 2.** Concentrações de isoflavonas (ng/mg) (rutina<sup>1</sup>, genistina<sup>2</sup>, genisteína<sup>3</sup>, malonil genistina<sup>4</sup>) nos diferentes estádios fenológicos nos genótipos de soja. Letras iguais não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%.

### Conclusões

Os resultados obtidos sugerem que:

- A rutina é a principal substância relacionada à resistência de genótipos de soja à mosca-branca.
- O genótipo 'Barreiras' apresentou as maiores concentrações das substâncias, rutina, genistina e genisteína, que estão diretamente relacionadas à defesa de plantas.
- A concentração da maioria dos compostos de defesa aumenta com o desenvolvimento das plantas.

### Referências

BROWN, J.K.; BIRD, J. Whitefly-transmitted geminiviruses and associated disorders in the Americas and Caribbean Basin. **Plant Disease**, Saint Paul, v.76, n.3, p. 220-225, 1992.

EMBRAPA SOJA. **Tecnologia de produção de soja** - região central do Brasil – 2009 e 2010. Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2008. 262p.

FEHR, W.R.; CAVINESS, C.E. **Stages of soybean development**. Ames, Iowa State University: Cooperative Extension Service, 1977. 12p. Special Report, 80.

FERREIRA, L.T.; AVIDOS, M.F.D. Mosca-branca: presença indesejável no Brasil. **BioTecnologia – Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, n. 4, 1998.

HOFFMANN-CAMPO, C.B.; HARBORNE, J.B.; MCCAFFERRY, A.R. Pre-ingestive and post-ingestive effects of soya bean extracts and rutin on *Trichoplusia ni* growth. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, Holanda, v. 98, n. 2, p. 181-194, 2001.

HOFFMANN-CAMPO, C.B.; RAMOS NETO, J.A.; OLIVEIRA, M.C.N. de; OLIVEIRA, L.J. Detrimental effect of rutin on a main soybean defoliator pest, *Anticarsia gemmatilis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 2006.