

# EFEITO DE DIFERENTES DOSES DE RUTINA E DE QUERCETINA NA BIOLOGIA DE *ANTICARSIA GEMMATALIS*<sup>1</sup>

DÉCIO LUIZ GAZZONI<sup>2</sup>, ALEXANDER HÜLSMEYER<sup>3</sup> e CLARA BEATRIZ HOFFMANN-CAMPO<sup>4</sup>

**RESUMO** - Durante os anos de 1994 e 1995, foram realizados três ensaios de laboratório, na Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Soja, em Londrina, PR, com o objetivo de avaliar o efeito de diferentes doses de rutina e de quercetina - compostos fenólicos (flavonóides) encontrados em folhas jovens dos genótipos de soja PI 227687 e PI 229358, resistentes a insetos -, na biologia da lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera, Noctuidae). Cada flavonóide foi incorporado, em diferentes concentrações, na dieta artificial do inseto, sendo um experimento conduzido com adição de rutina, e dois, com adição de quercetina. Tanto a quercetina quanto a rutina causaram aumento do número de dias de duração do terceiro ao sexto instar, do ciclo total (terceiro instar até fase adulta) e aumento da taxa de mortalidade de lagartas, de forma crescente, de acordo com o acréscimo das doses incorporadas à dieta artificial. Com a adição de quercetina, foi observada mortalidade de pupas e redução do peso de pupas em um dos experimentos, porém a duração da fase não foi alterada pelos tratamentos. Os resultados indicaram que os efeitos dos flavonóides sobre os insetos se manifestam a partir do terceiro ou quarto instar, porém são mais intensos no quinto e sexto instar.

Termos para indexação: insetos, resistência genética, bioquímica da resistência, flavonóides, lagarta-da-soja.

## EFFECT OF DIFFERENT RATES OF QUERCETIN AND RUTIN ON THE BIOLOGY OF *ANTICARSIA GEMMATALIS*

**ABSTRACT** - Along the years of 1994 and 1995, three laboratory experiments were set up at Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Soja, in Londrina, PR, Brazil, aiming to evaluate the effect of different rates of rutin and quercetin, phenolic compounds (flavonols) found in young leaves of the resistant soybean genotypes PI 227687 and PI 229358, on the biology of the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818 (Lepidoptera, Noctuidae). Each flavonol was incorporated in the diet, in different rates; one experiment was set up incorporating rutin and two incorporating quercetin. Both quercetin and rutin lead to an increase on the duration of larval instars, and from 3rd instar to adult emergence, as well as to increased mortality of larvae, being the effects related to the increasing incorporated rates. Addition of quercetin to the diet caused pupal mortality and also pupal weight reduction in one of the tests, but the duration of this stage was not affected by treatments. Results indicated that effects of the flavonols on the insects begin on the 3rd or 4th instar, but they are more evident during the 5th and 6th instars.

Index terms: insecta, host plant resistance, resistance biochemistry, flavonoid, velvetbean caterpillar.

## INTRODUÇÃO

O entendimento dos mecanismos de resistência é fundamental para o desenvolvimento de cultivares

de soja resistentes a insetos. Painter (1951) propôs uma divisão empírica em três categorias: (1) não-preferência, onde as plantas exercem efeitos adversos sobre o comportamento dos insetos, e que foi denominada de antixenose por Kogan & Ortman (1978); (2) antibiose, onde as plantas exercem efeito negativo no crescimento e na sobrevivência dos insetos; e (3) tolerância, onde as plantas demonstram capacidade de crescer e se reproduzir normalmente, apesar de serem atacadas por uma população de insetos.

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 15 de outubro de 1996.

<sup>2</sup> Eng. Agr., M.Sc., Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Soja (CNPSo), Caixa Postal 231, CEP 86001-970 Londrina, PR.

<sup>3</sup> Eng. Agr., Universidade Estadual de Londrina. Estagiário da Embrapa-CNPSo.

<sup>4</sup> Bióloga, Ph.D., Embrapa-CNPSo.

De acordo com Kubo & Hanke (1986), a resistência das plantas ao ataque de insetos decorre de fatores químicos presentes na planta. Conforme a natureza dos compostos, a resistência das plantas pode ser constitutiva (independe de estresse ambiental), ou induzida por estresse; vários compostos biologicamente ativos foram identificados por Hedin (1985). No caso da soja, há referências de resistência constitutiva (Smith, 1985), e induzida (Kogan & Fischer, 1991). Atividade inibidora de tripsina foi encontrada em soja por Kraemer et al. (1987), aumentando entre 4 e 23 vezes sua intensidade após desfolhamento causado por *Epilachna varivestis* Mulsant, caracterizando resistência induzida. Lin & Kogan (1990) encontraram que tanto *E. varivestis* quanto *Pseudoplusia includens* (Walker) apresentaram um aumento na duração do ciclo, e peso final mais baixo, quando se alimentaram de folhas de soja atacadas pelos insetos.

Os compostos fenólicos presentes nas plantas possuem diferentes efeitos sobre os herbívoros. A ativação desses compostos ocorre por oxidação, conforme estabelecido por Appel (1993). O autor cita que esses compostos são bloqueadores de consumo foliar, inibidores da digestão, e formadores de radicais livres. O efeito bloqueador está relacionado à sensação adstringente, decorrente da capacidade dos compostos fenólicos em precipitar proteínas. A inibição da digestão pode ocorrer devido à formação de pontes de hidrogênio, ou ainda pela formação de ligações covalentes, com proteínas e enzimas digestivas. Entretanto, as condições alcalinas do trato digestivo (pH > 9), também podem inibir a formação das pontes de hidrogênio, tornando esse efeito menos provável de ocorrer em insetos (Appel, 1993). O mesmo autor refere que os radicais de hidroxila formados durante a oxidação dos compostos fenólicos possuem ação tóxica, pois são responsáveis pela ruptura da integridade da membrana e por distúrbios de metabolismo no epitélio intestinal. Em lagartas, as ligações covalentes do ácido clorogênico com proteínas monoméricas inibe a absorção de amino ácidos (Felton et al., 1989; Felton & Duffey, 1991).

Os compostos fenólicos flavonóides são metabólitos secundários, amplamente encontrados em materiais vegetais (Harborne, 1991). Nenhuma função universal referente aos flavonóides e seus

glicosídeos foi ainda estabelecida em relação a todas as plantas. Contudo, muitas funções em plantas específicas têm sido demonstradas, incluindo proteção contra raios ultra-violeta, insetos, fungos, vírus e bactérias (Markham, 1989).

Chiang et al. (1987), testando a resistência induzida versus a resistência constitutiva da soja a *E. varivestis*, concluíram que o aumento do efeito anti-herbivoria estava correlacionado com um elevado nível total de compostos fenólicos e, temporariamente e quantitativamente, com os padrões alterados da atividade das enzimas denominadas PAL (L-fenilalanina amônia-liase) e TAL (L-tirosina amônia-liase) nos tecidos. Já Sharma & Norris (1991), analisando nove compostos extraídos do genótipo de soja PI 227687 utilizando metanol a 60%, concluíram que os flavonóides encontrados (daidzeína, um flavonóide não identificado X2, gliceolina, sojagol e coumestrol) exibiram efeito inibidor ou antibiótico contra as larvas de *Trichoplusia ni* Hübner. De acordo com Burden & Norris (1992), concentrações intermediárias de coumestrol sobre folhas de soja conduziram ao comportamento de não-preferência de *E. varivestis*, enquanto este comportamento não foi elicitado nas doses extremas.

Hoffmann-Campo (1995) constatou a presença de isoramnetina, camferol e quercetina glicosídeos em folhas jovens do genótipo de soja resistente PI 227687. As larvas de *Heliothis virescens* F. alimentadas com dieta mais um extrato etanólico do genótipo PI 227687 apresentaram mortalidade maior e peso três vezes menor, no décimo dia, do que as alimentadas sem o extrato. Segundo a mesma autora, a rutina (quercitina 3-O-rutinosídeo) é um dos componentes presentes nos genótipos PI 227687 e PI 229358, tendo sido citada como um inibidor de crescimento de *H. virescens* (Chan et al., 1978; Shaver & Lukefahr, 1969). Os trabalhos de Duffey & Isman (1980) e Isman & Duffey (1982) apóiam a hipótese de que a inibição do desenvolvimento e a toxidez causada pela rutina e outros compostos fenólicos do tomate sobre *H. zea* Boddie não é causada pela inibição da alimentação, posto que não foram observadas diferenças na ingestão de alimento durante a fase larval. Os últimos autores também referem não haver redução na digestibilidade ou utilização de alimento por *H. zea*, o que também foi parcialmente

observado por Hoffmann-Campo (1995) em *H. virescens*. Quercetina não foi encontrada na forma aglicosídica em folhas de soja (Hoffmann-Campo, 1995). Entretanto, não somente rutina, mas quercetina 3-*O*-glucosilgalactosídeo, que foram extraídas de folhas da PI 227687 são estruturalmente semelhantes, mas possuem açúcares como ramnose e glucose (rutina) e glucose e galactose (quercetina 3-*O*-glucosilgalactosídeo). Porém essa ligação pode ser rompida por meio de hidrólise ácida, enzimática ou alcalina (Markham, 1982). Desta forma, muito possivelmente, nas condições alcalinas do trato digestivo dos insetos (Appel, 1993) pode ocorrer uma hidrólise separando o aglicosídeo (mais tóxico) dos açúcares, os quais são assimilados ou metabolizados pelo inseto.

Considerando que PI 229358 é uma das fontes utilizadas no programa do CNPSo de criação e desenvolvimento de cultivares de soja resistentes a insetos, o objetivo desse trabalho foi o de contribuir para a elucidação da base bioquímica da resistência da planta de soja aos insetos, verificando a ação de antibiose da rutina e da quercitina sobre lagartas de *A. gemmatilis*.

## MATERIALE MÉTODOS

Durante os anos de 1994 e 1995, foram realizados três ensaios de laboratório no Centro Nacional de Pesquisa de Soja da Embrapa, em Londrina, PR, com delineamento experimental inteiramente casualizado. Nesses ensaios, foram testadas diferentes doses de rutina e de quercetina adicionadas à dieta artificial de *Anticarsia gemmatilis* (Hoffmann-Campo et al., 1985). As quantidades dos flavonóides foram calculadas em relação à porcentagem de matéria seca para 1000 g de dieta, de maneira a aproximar a relação encontrada em folhas de soja. Cada dose foi diluída em 5 mL de etanol 70% e acrescida a 1% de alfa-celulose, a qual funciona como substância condutora. O etanol foi evaporado por, aproximadamente, 30 min, e a mistura, incorporada à dieta a 40°C.

Dois testemunhas foram conduzidas em cada experimento: uma, dieta normal (DN) para criação de insetos sem etanol e sem alfa celulose, e outra, contendo estes dois ingredientes (0%), porém sem a adição de substâncias flavonólicas. Para testar o efeito de DN, 0% e das doses de 0,25%, 0,50% e 1% de rutina sobre *A. gemmatilis*, foi conduzido um experimento com 20 lagartas por tratamen-

to. Dois experimentos foram conduzidos para testar o efeito de quercetina sobre a lagarta-da-soja. No primeiro, foram utilizados os mesmos tratamentos do teste de rutina; no segundo, foram utilizados os tratamentos DN e 0% e as doses de 0,0625%, 0,125%, 0,25% e 0,50% de quercetina. Em ambos os experimentos, o número de repetições foi de 30 lagartas por tratamento.

Em todos os ensaios, em cada placa-de-petri foram colocadas duas lagartas de segundo para terceiro ínstar, e após três dias descartaram-se as menores, restando apenas uma lagarta por placa, para evitar o efeito do estado inicial da lagarta sobre os tratamentos. As médias de duração do ínstar foram calculadas somente com o número de lagartas vivas que completaram o respectivo ínstar. As avaliações foram feitas a partir do terceiro ínstar, até a emergência das mariposas. Em ambos os ensaios, as placas foram colocadas em estufa incubadora, com temperatura entre 25 e 27°C e fotofase de 14 horas. Ao final do ciclo, foi determinado o peso de pupa referente aos diferentes tratamentos. Foram feitas análises estatísticas relativas ao número de dias de duração de cada ínstar e do ciclo total (de terceiro ínstar a mariposa), comparando-se as diferentes doses dos flavonóides. As médias e o desvio-padrão dos tratamentos foram calculados de acordo com o pacote estatístico SANEST (Zonta et al., 1982).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Experimento com rutina

A duração dos instares larvais não diferiu entre os tratamentos que não continham rutina (DN e 0%), em qualquer dos instares larvais estudados (Tabela 1); 5% das lagartas alimentadas com dieta normal morreram no sexto ínstar. Durante o terceiro ínstar, os tratamentos não afetaram a duração do ínstar nem causaram mortalidade de larvas. Porém, no quarto ínstar, a incorporação de 1% de rutina na dieta resultou em um aumento de 100% na duração do ínstar, em comparação com a dieta normal ou com o tratamento com ausência de rutina, e uma mortalidade de 5% das larvas foi observada neste ínstar (Fig. 1). A duração do quinto ínstar foi 150% maior que a da dose de 0%, ou 70% maior que a das lagartas alimentadas com dieta normal; entretanto, não foi observada mortalidade adicional neste ínstar. O sexto ínstar foi mais afetado pelos tratamentos contendo rutina, pois larvas se alimentando com dieta contendo 0,5% de rutina tiveram uma mortalidade de 5% e aumentaram a duração do ínstar em 12% em

TABELA 1. Efeito de diferentes doses de rutina no terceiro a sexto instar de *Anticarsia gemmatilis*.

Doses	3 <sup>a</sup> instar		4 <sup>a</sup> instar		5 <sup>a</sup> instar		6 <sup>a</sup> instar	
	Dias <sup>1</sup> ± ep	Rep. <sup>2</sup>	Dias ± ep	Rep.	Dias ± ep	Rep.	Dias ± ep	Rep.
DN <sup>3</sup>	2,5 ± 0,14	20	1,5 ± 0,08	20	3,1 ± 0,15	20	4,7 ± 0,32	19
0,00	2,5 ± 0,18	20	1,5 ± 0,23	20	2,0 ± 0,07	20	4,5 ± 0,39	20
0,25	2,5 ± 0,21	20	1,5 ± 0,18	20	3,0 ± 0,22	20	4,0 ± 0,14	20
0,50	2,5 ± 0,04	20	1,5 ± 0,12	20	2,6 ± 0,20	20	5,2 ± 0,04	19
1,00	2,6 ± 0,11	20	3,0 ± 0,17	19	5,1 ± 0,35	19	---	---
C.V. (%)	23,5		35,3		54,3		21,8	

<sup>1</sup> Médias do número de dias de duração do instar.

<sup>2</sup> Repetições calculadas pelo número de lagartas que completaram o instar.

<sup>3</sup> Dieta normal, sem adição de etanol e alfa-celulose.

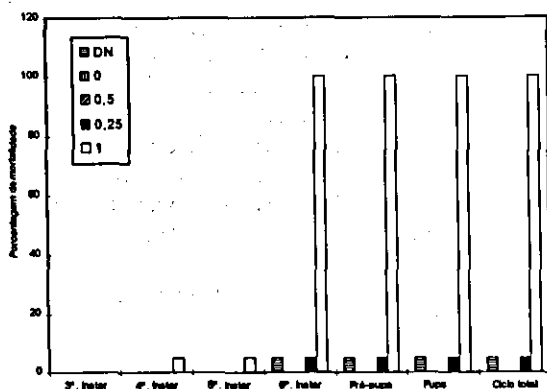


FIG. 1. Mortalidade acumulada de *Anticarsia gemmatilis*, devida aos tratamentos com rutina (%). Londrina, PR, 1995.

relação à dieta normal. O maior impacto ocorreu com a dose de 1%, pois não houve sobrevivência de lagartas alimentadas com dieta contendo 1% de rutina.

#### Experimentos com quercetina

Experimento 1 - As médias dos tratamentos com quercetina diferiram significativamente no terceiro instar (Tabela 2), demonstrando o efeito da quercetina imediatamente após a ingestão, e ocasionando um aumento na duração desse instar. As testemunhas (tratamentos DN e 0%) não diferiram entre si, mostrando que etanol+alfa-celulose presentes no tratamento 2 não interferiram no desenvolvimento desse instar. Entretanto, com a dose 1% ocorreu uma taxa de mortalidade de 6,66% (Fig. 2), o que demonstra que, em altas concentrações, existe um efeito tóxico

sobre a lagarta-da-soja, a partir do início da ingestão. Nessa concentração, houve aumento superior a 150% na duração do instar, em relação às testemunhas.

Efeito semelhante foi verificado no quarto instar, que apresentou as mesmas tendências observadas no estágio anterior. Na maior dose, o tempo de duração do instar aumentou mais de 300% e a mortalidade acumulada chegou a 80% dos indivíduos. No quinto e sexto instar, apenas quatro tratamentos foram testados, pois nenhuma das lagartas que receberam a maior dose completou o instar, sendo que os tratamentos com 0,25% e 0,50% de quercetina apresentaram as maiores médias de duração de instar, diferindo significativamente dos tratamentos testemunhas. No tratamento com 0,25% houve uma estabilização da mortalidade entre o quinto e sexto instar, possivelmente devido à adaptação das lagartas a doses menores do flavonol, mas na dose de 0,5%, a mortalidade cresceu até o sexto instar (Fig. 2).

Na fase de pré-pupa, não houve diferença estatística entre as médias de duração da fase (Tabela 3). No entanto, a mortalidade de pupas cresceu de 10% nas testemunhas para mais de 50% nos tratamentos de 0,25 e 0,5% de quercetina. Embora tenha sido constatada diferença de quase 20% no peso de pupas entre a testemunha e a dose de 0,5%, essa diferença não foi significativa. Este evento indica que algumas lagartas tiveram pesos semelhantes ao das testemunhas, podendo considerar-se os seguintes fatores como causa: (a) adaptação das lagartas à substância química; (b) falta de uniformidade na mistura do flavonol na dieta, por causa da dose muito baixa; (c) suscetibilidade diferencial de algumas lagartas.

TABELA 2. Efeito de diferentes doses de quercetina no terceiro a sexto ínstar de *Anticarsia gemmatalis* (Experimento 1).

Doses	3 <sup>o</sup> ínstar		4 <sup>o</sup> ínstar		5 <sup>o</sup> ínstar		6 <sup>o</sup> ínstar	
	Dias <sup>1</sup> ± ep	Rep. <sup>2</sup>	Dias ± ep	Rep.	Dias ± ep	Rep.	Dias ± ep	Rep.
DN <sup>3</sup>	2,00 ± 0,18	30	2,06 ± 0,09	30	2,00 ± 0,22	30	2,13 ± 0,08	30
0,00	2,03 ± 0,12	30	2,03 ± 0,15	30	2,03 ± 0,31	30	2,77 ± 0,14	30
0,25	2,63 ± 0,09	30	4,44 ± 0,31	27	5,27 ± 0,36	22	5,81 ± 0,56	21
0,50	3,43 ± 0,56	30	5,68 ± 0,43	19	5,73 ± 0,68	11	6,14 ± 0,71	7
1,00	5,25 ± 0,48	28	8,83 ± 1,12	6	---	---	---	---
C.V. (%)	35,06		57,01		60,01		47,57	

<sup>1</sup> Médias do número de dias de duração do ínstar.

<sup>2</sup> Repetições calculadas pelo número de lagartas que completaram o ínstar.

<sup>3</sup> Dieta normal, sem adição de etanol e alfa-celulose.

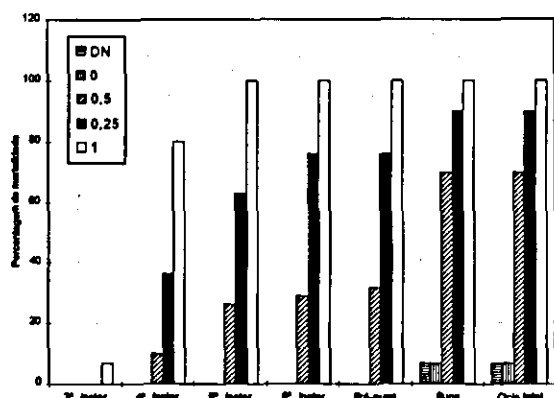


FIG. 2. Mortalidade acumulada de *Anticarsia gemmatalis*, devida aos tratamentos com quercetina (%). Experimento 1. Londrina, PR, 1995.

Constatou-se um efeito deletério no desenvolvimento da lagarta, devido às doses crescentes de quercetina, como demonstram as diferenças significativas entre as médias dos tratamentos, quando analisada a duração do ciclo entre o 3<sup>o</sup> ínstar e a emergência das mariposas (Tabela 2). Essa tendência também se reflete na taxa de mortalidade total, que foi crescente nas doses de quercetina (Fig. 2).

Experimento 2 - Foi observada uma diferença estatística entre os tratamentos (Tabela 4), sendo que as doses de 0,25% e 0,5% aumentaram a duração do terceiro ínstar, confirmando os resultados do experimento 1. Nesse ínstar, a taxa de mortalidade não foi muito afetada pelos tratamentos, resultado também obtido no experimento 1. Em relação ao quarto e quin-

to ínstar, todos os tratamentos com quercetina aumentaram a duração do ínstar e diminuíram a sobrevivência das lagartas, exceção feita ao tratamento de 0,125%. Esses valores de mortalidade são muito próximos dos obtidos nos mesmos tratamentos do experimento 1. No sexto ínstar foi observada diferença entre os tratamentos de 0,125% e 0,25% e as testemunhas quanto à duração do ciclo, e não houve lagartas sobreviventes no tratamento de 0,5% (Fig. 3).

Não houve diferença significativa entre as médias dos tratamentos na fase de pré-pupa, repetindo-se a tendência apresentada no experimento 1 (Tabela 5). Apenas no tocante à dose 0,25%, ocorreu uma taxa de mortalidade de 33%, sendo mais baixa ou nula nos demais tratamentos. Na fase de pupa, houve um acréscimo na sua duração em todos os tratamentos em relação à dieta normal, enquanto o peso foi significativamente reduzido nos tratamentos que receberam quercetina, com mortalidade igual ou superior a 50%, nessa fase, em relação ao ínstar anterior. Quanto ao ciclo total, todos os tratamentos com quercetina aumentaram sua duração e apresentaram alta mortalidade de lagartas, a maior delas no tratamento de 0,5%, que matou todas as lagartas, seguido pelo tratamento de 0,25%, com apenas 7% de sobrevivência dos indivíduos testados.

Os resultados obtidos indicam que a rutina e a quercetina apresentaram efeitos característicos de antibiose, alongando o ciclo de *A. gemmatalis* e reduzindo a sua sobrevivência. Quanto à quercetina, o seu efeito na duração do ciclo e na sobrevivência do

**TABELA 3.** Efeito de diferentes doses de quercetina nos estádios de pré-pupa, pupa, e no ciclo total de *Anticarsia gemmatalis* (Experimento 1).

Doses %	Pré-pupa		Pupa			3 <sup>o</sup> ao 6 <sup>o</sup> instar	
	Dias <sup>1</sup>	Rep. <sup>2</sup>	Dias	Peso (mg)	Rep.	Dias	Rep.
DN <sup>3</sup>	1,93 ± 0,08	30	10,15 ± 0,04	264,4 ± 42,56	27	20,18 ± 0,98	27
0,00	2,06 ± 0,17	30	10,41 ± 0,97	241,9 ± 23,26	27	21,40 ± 0,12	27
0,25	1,95 ± 0,26	20	10,30 ± 1,05	207,4 ± 17,85	10	26,80 ± 1,18	10
0,50	1,71 ± 0,30	7	10,33 ± 1,23	203,9 ± 25,23	3	29,00 ± 0,88	3
C.V. (%)	19,43		8,89	22,12		7,19	

<sup>1</sup> Médias do número de dias de duração do instar.

<sup>2</sup> Repetições calculadas pelo número de lagartas que completaram o instar.

<sup>3</sup> Dieta normal, sem adição de etanol e alfa-celulose.

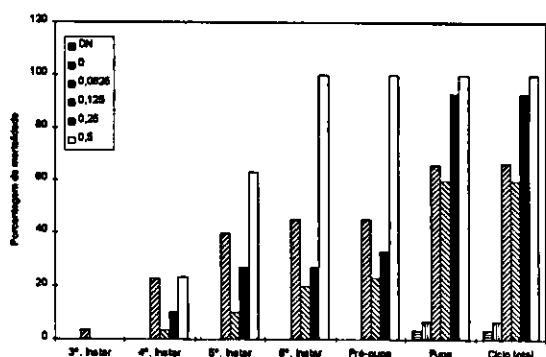
**TABELA 4.** Efeito de diferentes doses de quercetina no terceiro a sexto instar de *Anticarsia gemmatalis* (Experimento 2).

Doses %	3 <sup>o</sup> instar		4 <sup>o</sup> instar		5 <sup>o</sup> instar		6 <sup>o</sup> instar	
	Dias ± ep	Rep. <sup>2</sup>	Dias ± ep	Rep.	Dias ± ep	Rep.	Dias ± ep	Rep.
DN <sup>3</sup>	2,00 ± 0,22	30	2,16 ± 0,34	30	2,43 ± 0,77	30	3,50 ± 0,54	30
0,0	2,00 ± 0,37	30	2,00 ± 0,23	30	2,23 ± 0,24	30	3,03 ± 0,32	30
0,0625	2,24 ± 0,12	29	4,61 ± 1,12	23	3,33 ± 0,13	18	4,00 ± 0,52	16
0,125	2,16 ± 0,30	30	4,31 ± 1,30	29	3,59 ± 0,75	27	4,75 ± 0,31	24
0,25	2,73 ± 0,19	30	7,13 ± 2,28	23	6,54 ± 0,91	11	10,22 ± 1,08	9
0,5	3,03 ± 0,09	29	8,11 ± 2,14	9	6,50 ± 1,22	4	---	---
C.V. (%)	21,02		62,49		42,87		45,44	

<sup>1</sup> Médias do número de dias de duração do instar.

<sup>2</sup> Repetições calculadas pelo número de lagartas que completaram o instar.

<sup>3</sup> Dieta normal, sem adição de etanol e alfa-celulose.



**FIG. 3.** Mortalidade acumulada de *Anticarsia gemmatalis*, devida aos tratamentos com quercetina (%). Experimento 2. Londrina, PR, 1995.

inseto foi evidente, mesmo nas doses mais baixas. A quercetina e seus glicosídeos possuem um grupo orto-hidroxil (catecólico) em sua estrutura. Chan et al. (1978) e Elliger et al. (1980) observaram uma relação entre a presença do grupo catecólico e a inibição do crescimento de insetos. Os últimos autores consideraram que a toxicidade do grupo orto-hidrosil é devida à sua capacidade de quelar metais, como por exemplo o  $\text{Cu}^{2+}$ , que é essencial para o crescimento dos insetos. Para ambos os flavonóides, a maior mortalidade é observada a partir do 4<sup>o</sup> instar e até a fase de pupa, sendo menos intensa na fase de pré-pupa. Esses resultados podem estar ligados ao fato de o consumo de folhas no 3<sup>o</sup> instar ser inferior a 3% do total consumido durante o ciclo (Leppla et al., 1977), o que pode significar ingestão dos flavonóides em doses tóxicas, porém sub-letais; na transição para a

TABELA 5. Efeito de diferentes doses de quercetina nos estádios de pré-pupa, pupa e ciclo total de *Anticarsia gemmatilis* (Experimento 2).

Doses %	Pré-pupa		Pupa			3º ao 6º instar	
	Dias <sup>1</sup> ± ep	Rep. <sup>2</sup>	Dias ± ep	Peso (mg ± ep)	Rep.	Dias ± ep	Rep.
DN <sup>3</sup>	2,03 ± 0,11	30	10,03 ± 0,42	234,9 ± 12,60	29	22,03 ± 0,05	29
0,0	2,10 ± 0,23	30	10,61 ± 0,15	265,1 ± 24,10	28	21,96 ± 0,96	28
0,0625	2,06 ± 0,05	16	11,28 ± 0,14	229,6 ± 17,52	7	25,86 ± 1,18	7
0,125	2,13 ± 0,27	23	10,92 ± 0,17	205,2 ± 14,35	12	27,25 ± 2,34	12
0,25	2,00 ± 0,09	6	11,50 ± 0,15	218,9 ± 27,31	2	29,00 ± 3,78	2
C.V. (%)	19,98		7,25	12,17		8,76	

<sup>1</sup> Médias do número de dias de duração do instar.

<sup>2</sup> Repetições calculadas pelo número de lagartas que completaram o instar.

<sup>3</sup> Dieta Normal, sem adição de etanol e alfa-celulose

fase de pré-pupa, a lagarta reduz drasticamente a ingestão de folhas, apesar de apresentar um peso corpóreo muito mais elevado que no 3º instar, cessando completamente a alimentação na fase de pré-pupa. Essa hipótese coincide com o estudo de Klocke & Kubo (1991), no qual os autores estabeleceram que os inibidores de consumo inicialmente afetam apenas o comportamento dos insetos mas, freqüentemente, também são tóxicos se atingirem determinados limites no seu organismo. Já durante a fase de pupa, as profundas transformações morfológicas e fisiológicas pelas quais passa o inseto demandam uma intensa atividade bioquímica, em especial com a participação de enzimas e hormônios, os quais podem ter sua atividade prejudicada pela ação da quercetina na fase larval, bloqueando caminhos bioquímicos, e reduzindo a assimilação de substâncias essenciais ou a formação de reservas. Este raciocínio é concordante com o trabalho de Duffey & Isman (1980) e Isman & Duffey (1982) que aventaram a hipótese de que a inibição do desenvolvimento e a toxidez causada pela rutina, não ocorrem pela inibição da alimentação. Isman & Duffey (1982) referem não haver redução na digestibilidade ou utilização de alimento por *H. zea*, o que foi parcialmente observado por Hoffmann-Campo (1995) em *H. virescens*.

## CONCLUSÕES

1. A adição de quercetina à dieta da lagarta-da-soja causa redução do peso das pupas, e tanto a

quercetina quanto a rutina causam aumento na duração da fase larval e na mortalidade do inseto.

2. A reação dos insetos à ingestão de quercetina e rutina corresponde ao efeito de antibiose, causado por genótipos resistentes a insetos.

3. O efeito dos flavonóides sobre os insetos é dependente da dose adicionada à dieta.

## AGRADECIMENTOS

Ao técnico de laboratório Antonio Carlos Ferreira Mendes, pelo auxílio na condução do experimento, e ao Dr. José Marcos Mandarino, pela revisão do trabalho.

## REFERÊNCIAS

- APPEL, H.M. Phenolics in ecological interactions: the importance of oxidation. *Journal of Chemical Ecology*, v.19, p.1521-1551, 1993.
- BURDEN, B.J.; NORRIS, D.M. Role of the isoflavonoid coumestrol in the constitutive antixenotic properties of Davis soybeans against an oligophagous insect, the Mexican bean beetle. *Journal of Chemical Ecology*, v.18, p.1069-1081, 1992.
- CHAN, B.G.; WAISS JUNIOR, A.C.; BINDER, R.G.; ELLIGER, C.A. Inhibition of lepidopterous larval growth by cotton constituents. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, v.24, p.94-100, 1978.
- CHIANG, H.D.; NORRIS, M.; CIEPIELA, A.; SHAPIRO, P.; OOSTERWYK, A. Inducible versus

- constitutive soybean resistance to Mexican bean beetle. *Journal of Chemical Ecology*, v.13, p.741-749, 1987.
- DUFFEY, S.S.; ISMAN, M.B. Inhibition of insect larval growth by phenolics in glandular trichomes of tomato leaves. *Experientia*, v.37, p.575-576, 1980.
- ELLIGER, C.A.; CHAN, B.G.; WAISS JUNIOR, A.C. Flavonoids as larval growth inhibitors: structural factors governing toxicity. *Naturwissenschaften*, v.67, p.358-359, 1980.
- FELTON, G.W.; DONATO, K.; DEL VECCHIO, R.J.; DUFFEY, S.S. Activation of plant foliar oxidases by insect feeding reduces nutritive quality of foliage for noctuid herbivores. *Journal of Chemical Ecology*, v.12, p.2667-2694, 1989.
- FELTON, G.W.; DUFFEY, S.S. Enzymatic antinutritive defenses of the tomato plant against insects. In: HEDIN, P. (Ed.). *Naturally occurring pest bioregulators*. Washington D.C.: American Chemical Society, 1991. p.166-197. (Series, 449).
- HARBORNE, J.B. Flavonoid pigments. In: ROSENTHAL, G.A.; BEREMBAUM, M.R. (Eds.). *Herbivores and their interaction with secondary metabolites*. London: Academic Press, 1991. p.389-429.
- HEDIN, P.A. Developing research trends in the chemistry of plant resistance to pests. In: GREEN, M.B.; HEDIN, P.A. (Eds.). *Natural resistance of plants to pests: roles of allelochemicals*. Washington D.C.: American Chemical Society, 1985. p.2-14. (Series, 286).
- HOFFMAN-CAMPO, C.B.; OLIVEIRA, E.B. de; MOSCARDI, F. Criação massal da lagarta-da-soja (*Anticarsia gemmatalis*). Londrina: Embrapa-CNPSo, 1985. 14p. (Embrapa-CNPSo. Documentos, 10).
- HOFFMANN-CAMPO, C.B. Role of the flavonoids in the natural resistance of soybean to *Heliothis virescens* (F.) and *Trichoplusia ni* (Hübner). Reading: University of Reading, 1995. 165p. Ph.D. Thesis.
- ISMAN, M.B.; DUFFEY, S.S. Toxicity of tomato phenolic compounds to the fruitworm, *Heliothis zea*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, v.31, p.370-376, 1982.
- KLOCKE, J.A.; KUBO, I. Defense of plants through regulation of insect feeding behavior. *Florida Entomologist*, v.74, p.18-22, 1991.
- KOGAN, M.; FISCHER, D.C. Inducible defenses in soybean against herbivorous insects. In: RAUPP, M.J.; TALLAMY, D.W. (Eds.). *Phytochemical induction by herbivores*. New York: Wiley & Sons, 1991. p.347-378.
- KOGAN, M.; ORTMAN, E.F. Antixenosis - A new term proposed to define Painter's "nonpreference" modality of resistance. *Bulletin of the Entomological Society of America*, v.24, p.175-176, 1978.
- KRAEMER, M.E.; RANGAPPA, M.; GADE, W.; BENEPAI, P.S. Induction of trypsin inhibitors in soybean leaves by Mexican bean beetle (Coleoptera: Coccinellidae) defoliation. *Journal of Economic Entomology*, v.80, p.237-241, 1987.
- KUBO, I.; HANKE, F.G. Chemical methods for isolating and identifying phytochemicals biologically active in insects. In: MILLER, J.R.; MILLER, T.A. (Eds.). *Insect-Plant Interactions*. New York: Springer-Verlag, 1986. p.225-249.
- LEPPLA, C.N.; ASHLEY, T.B.; GUY, R.H.; BUTTLER, G.D. Laboratory life history of the velvetbean caterpillar. *Annals of the Entomological Society of America*, v.70, p.66-72, 1977.
- LIN, H.; KOGAN, M. Influence of induced resistance in soybean on the development and nutrition of the soybean looper and the Mexican bean beetle. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, v.55, p.131-138, 1990.
- MARKHAM, K.R. Flavones, flavonols and their glycosides. In: MARKHAM, K.R. (Ed.). *Methods in plant biochemistry*. London: Academic Press, 1989. p.197-235.
- MARKHAM, K.R. *Techniques of flavonoid identification*. London: Academic Press, 1982. 113p. (Biological Techniques Series).
- PAINTER, R.H. The mechanisms of resistance. In: PAINTER, R.H. (Ed.). *Insect resistance in crop plants*. Kansas City: University Press of Kansas, 1951. p.23-83.



- SHARMA, H.C.; NORRIS, D.M. Chemical basis of resistance in soybean to cabbage looper, *Trichoplusia ni*. *Journal of Science of Food and Agriculture*, v.55, p.353-364, 1991
- SHAYER, T.N.; LUKEFAHR, M.J. Effect of flavonoid pigments and gossypol on growth and development of the bollworm and pink bollworm. *Journal of Economic Entomology*, v.62, p.643-646, 1969.
- SMITH, C.M. Expression mechanisms and chemistry of resistance in soybean (*Glycine max* L. Merr.) to the soybean looper, *Pseudoplusia includens* (Walker). *Insect Science and Its Application*, v.6, p.243-248, 1985.
- ZONTA, E.P.; MACHADO, A.A.; SILVA JUNIOR, P. Sistema de Análise Estatística-SANEST, Registro na SEI n° 066060. Pelotas: UFPel, 1982. Software.