

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CAMPUS DE JABOTICABAL**

***Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (LEPIDOPTERA:  
PLUTELLIDAE): EFEITO DA SINIGRINA APLICADA EM  
FOLHAS DE COUVE E BRÓCOLIS**

**Jackeline da Silva Carvalho**

Bióloga

Jaboticabal – São Paulo – Brasil

2008

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CAMPUS DE JABOTICABAL**

***Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (LEPIDOPTERA:  
PLUTELLIDAE): EFEITO DA SINIGRINA APLICADA EM  
FOLHAS DE COUVE E BRÓCOLIS**

**Jackeline da Silva Carvalho**

**Orientador: Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Entomologia Agrícola).

Jaboticabal – São Paulo – Brasil

Fevereiro de 2008

### **DADOS CURRICULARES DA AUTORA**

**JACKELINE DA SILVA CARVALHO** – Nascida em Ribeirão Preto/SP, em 07 de novembro de 1983. Bióloga pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, FCAV – Unesp, Campus de Jaboticabal, título obtido em 2005. Estágio em Laboratórios de Entomologia da FCAV – Unesp, Campus de Jaboticabal, com bolsa de Iniciação Científica do CNPq durante a graduação. Mestranda em Agronomia / Entomologia Agrícola pela Unesp - Campus de Jaboticabal, com início em março de 2006 e término em fevereiro de 2008, sendo bolsista CAPES. Aprovada para o Doutorado na mesma Área e Instituição do Mestrado, com início previsto para março de 2008. Dentre as atividades desenvolvidas pela autora nos últimos 5 anos, destacam-se: 4 trabalhos submetidos para periódicos especializados; participação em 20 eventos científicos com apresentação de 19 trabalhos; 42 resumos publicados em anais de eventos científicos; participação na organização de 4 cursos extra-curriculares; 4 cursos de curta duração, nos quais foi ministrante.

*“O segredo é não correr atrás das borboletas...  
É cuidar do jardim para que elas venham até você.”*

**Mário Quintana**

Aos meus pais, Aldo Ferreira de Carvalho e Marilza Avelina da Silva, pelo carinho, atenção, compreensão, apoio, amor, e por tornarem esse sonho uma realidade.

Aos meus avós, Nair Josefa de Carvalho e Raimundo Clarindo de Carvalho, e a toda minha família, pelo incentivo e confiança em mim depositados.

### **DEDICO**

Ao meu namorado e companheiro, Matheus Nicolino Peixoto Henares, pelo carinho, apoio, amor e compreensão dispensados.

### **OFEREÇO**

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, meu anjo da guarda, pela vida, saúde e coragem para enfrentar todos os desafios, além de iluminar meu caminho para que eu pudesse conhecer lugares e pessoas incríveis.

À toda comunidade “Unespiana” pelo acolhimento durante todos esses anos, pelo crescimento e aprendizado adquirido, proporcionando condições para o desenvolvimento de todo o trabalho e na formação profissional.

Ao amigo e orientador Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli, pelo exemplo profissional, amparo, atenção, compreensão e paciência sempre.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) pela concessão da bolsa.

Aos professores do programa de pós-graduação em Entomologia Agrícola da Unesp – Jaboticabal pelos ensinamentos e lições de vida.

A Profa. Dra. Lucia Maria Xavier Lopes da Unesp de Araraquara por colaborar na elaboração dos experimentos.

Aos Professores Dr. Antônio Sérgio Ferraud e Dr. José Carlos Barbosa pela atenção e disponibilidade para orientação na realização das análises estatísticas.

Ao Prof. Dr. Odair Aparecido Fernandes por colaborar com a realização deste trabalho, permitindo o uso do equipamento de aferir área foliar, e por suas sugestões no exame de qualificação.

Aos amigos e integrantes do Laboratório de Biologia e Criação de Insetos (LBCI), em especial ao Haroldo Xavier Linhares Volpe e Roberto Marchi Goulart, pela amizade, atenção e ajuda fundamental na realização dos ensaios. E aos novos e velhos integrantes, José Eudes de Moraes Oliveira, Robson Thomaz Thuler, Alessandra Marieli Vacari, Cácia Leila Tigre Pereira Viana, Rafael Ferreira dos Santos, Alessandra Karina Otuka, Juliana Pires Brito, pela convivência e apoio demonstrados.

À todos os funcionários do Departamento de Fitossanidade, Lígia, Márcia Macri, Lúcia, Altamiro, Zulene, André Maurício pela convivência e disposição, em particular à companheira bióloga, Roseli Pessoa pela amizade e colaboração na realização dos experimentos.

Aos meus pais, tios, primos e toda minha família por sempre confiarem em mim e acreditarem nos meus sonhos.

Ao meu namorado Matheus, seus pais Sr. Peixoto e Sra. Albertina, e a toda família Nicolino, pelo apoio, carinho e incentivo sempre.

Às amigas da república INMETRO, velhas ou novas, fixas ou agregadas, mas que de alguma forma fizeram parte desta caminhada e deixaram saudades: Giovanna (Cedilha), Juliana (Cê), Liliana (Anemia), Bianca (Bazuca), Patrícia (Istressi), Livia (Cuti), Gabriela (Buzina), Gabriela (Garça), Amanda (Berola, estagiária de férias) e em particular as minhas irmãs de coração Carolina (Keka) e a Renata (Xepa) por estarem presentes nos momentos mais importantes e especiais.

Aos meus grandes amigos biólogos de coração Taína (Nhola), Nilton (Kurisko), Caio (Tchão), Danilo (Iha), Natália (Aike), Douglas (Assado), Rafael Homem (Kbça), Paula (Xicoka) pelas demonstrações de amor e companheirismo, apesar de longes, nunca separados.

Aos meus novos amigos da pós-graduação: Ana Paula (Machado), Aniele (Pianoski), Aline (Nucha), Edileusa (Marileusa), Ivan, Rafael (Pitta), Daniel (Mossoró) e Francisco (Venezuelano), pelos incentivos e momentos de descontração.

Às minhas eternas amigas Karen Antunes Cicilini, Roberta Marques Scavazzini, Rebecca Angelóco Rodrigues e Carolina Nogueira Gomes por fazerem das minhas lembranças do colégio as melhores possíveis e por estarem sempre presentes.

Enfim, a todos os amigos da FCAV/ Unesp, que de alguma forma, direta ou indiretamente, contribuíram para a concretização deste sonho.

**Obrigada de coração.**

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>RESUMO</b> .....	viii
<b>SUMMARY</b> .....	ix
<b>CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS</b>	
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Aspectos biológicos de <i>Plutella xylostella</i> .....	3
2.2. As substâncias secundárias na interação inseto-planta.....	5
3. REFERÊNCIAS.....	10
<b>CAPÍTULO 2 - ASPECTOS BIOLÓGICOS DE <i>Plutella xylostella</i> (L.) (LEP.: PLUTELLIDAE) ALIMENTADA COM FOLHAS DE COUVE E BRÓCOLIS TRATADAS COM SINIGRINA</b>	
1. INTRODUÇÃO.....	19
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	20
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
4. CONCLUSÃO.....	33
5. REFERÊNCIAS.....	34
<b>CAPÍTULO 3 - CONSUMO FOLIAR DE LAGARTAS DE <i>Plutella xylostella</i> (L., 1758) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) EM COUVE E BRÓCOLIS TRATADOS COM SINIGRINA</b>	
1. INTRODUÇÃO.....	37
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	39
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
4. CONCLUSÃO.....	52
5. REFERÊNCIAS.....	52
<b>CAPÍTULO 4 – IMPLICAÇÕES</b> .....	56



***Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE): EFEITO DA SINIGRINA APLICADA EM FOLHAS DE COUVE E BRÓCOLIS**

**RESUMO** – O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos (LBCI) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp – Jaboticabal, SP, para estudar os efeitos de diferentes concentrações de sinigrina aplicada na superfície foliar de couve e brócolis, em alguns parâmetros biológicos de *Plutella xylostella*. Para realização dos testes, sinigrina foi aplicada à parte ventral/dorsal das folhas de brássicas das cultivares ‘Da Geórgia’ (couve-manteiga) e ‘Ramoso Piracicaba Precoce’ (brócolis), em solução 5% de Tween 20® em diferentes concentrações (0,0; 0,2; 0,4; 0,8; 1,6 e 3,2 mg/mL). Assim como, avaliou-se o consumo, pelas lagartas, através de medidas de peso fresco, peso seco, área foliar e escala visual de notas para os danos. Observou-se que concentração baixa de sinigrina, em couve e em brócolis, não prejudicou o desenvolvimento de *P. xylostella*, porém altas concentrações afetaram o parâmetro viabilidade. A análise de agrupamentos, pelo método de “cluster”, mostrou que a dose 0,2mg/mL de sinigrina em ambas variedades apresentou os maiores contrastes, não pertencendo a nenhum grupo. O Índice Potencial Reprodutivo Corrigido foi determinante apenas para couve, indicando boa capacidade reprodutiva das lagartas alimentadas com a menor concentração de sinigrina. Nas doses extremas, 0,2 e 3,2mg/mL, observou-se aumento no consumo foliar em couve e diminuição em brócolis. O consumo foi maior pelas lagartas alimentadas com folhas de brócolis. Em geral, o comportamento da traça foi diferente nas cultivares testadas, mas essas diferenças podem estar relacionadas com a quantidade de sinigrina presente naturalmente nas folhas de cada espécie.

**Palavras-chave:** Brássicas, traça-das-crucíferas, glucosinolatos, potencial reprodutivo corrigido, consumo foliar.

***Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE): EFFECT OF THE SINIGRIN APPLIED ON CABBAGE AND BROCCOLI**

**SUMMARY** – The work was carried out in the Laboratório de Biologia e Criação de Insetos (LBCI), at the Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp, Jaboticabal, SP, with the objective to evaluate the effect of sinigrin applied on foliar surface of cabbage and broccoli, on the biological aspects of *Plutella xylostella*. It was evaluated: the biology aspects of diamondback moth feeding on cabbage ‘Da Georgia’ and broccoli ‘Ramoso Piracicaba Precoce’ treated with different sinigrin concentrations (0.0, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 e 3.2mg/mL in 5% of Tween 20® solution, as well as, the consumption, measuring fresh weight, dry weight, foliar area and visual grade scale to the damage. It was observed that low sinigrin concentration, in cabbage and broccoli, does not affect *P. xylostella* development, however, high concentrations affect the viability. The group analysis by “cluster method”, showed that 0.2mg/mL of sinigrin of both varieties presented the biggest contrast, not belonging any group. The Corrected Reproductive Potential index was determinate just for cabbage, indicating good reproductive capacity with low sinigrin concentration. The extreme sinigrin doses, 0.2, 0.4 and 3.2mg/mL, increase the cabbage leaves consumption and decrease in broccoli. The consumption was bigger by the caterpillars fed on broccoli leaves. In general, the insect behavior was different in the tried cultivars, but these differences can be related to sinigrin quantity present naturally in the leaves of each specie.

**Key-words:** Brassics, diamondback moth, glucosinolates, reproductive potential, leaf consumption.

## CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

### 1. INTRODUÇÃO

O fator mais importante na redução da produção de brássicas (Brassicaceae) em plantios comerciais nas diferentes regiões de cultivo do mundo tem sido a ocorrência da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) (DICKSON et al., 1990). No Brasil, a presença desta praga tem sido constatada durante todo o ano (CASTELO BRANCO & GUIMARÃES, 1990; BARROS et al., 1993; MELO et al., 1994; LOGES, 1996) e, por isso, ela tem se tornado alvo de pesquisas em todas as regiões produtoras, visando a obtenção de medidas de controle tecnicamente mais adequadas, economicamente satisfatórias e ecologicamente corretas (THULER, 2006).

Esta praga causa sérios danos às brássicas, depreciando o produto, interferindo no crescimento da planta e até mesmo provocando sua morte ou perda total (CASTELO BRANCO & GATEHOUSE, 2001; MONNERAT et al., 2004). Algumas das dificuldades observadas para seu controle se devem às áreas de cultivo coexistirem durante o ano todo, com plantas de idades diferentes proporcionando à praga suprimento abundante e contínuo de alimento (IMENES et al., 2002).

O método de controle mais utilizado em brássicas ainda é o químico, pois, aparentemente, é o que traz os melhores resultados, de forma rápida, prática e eficiente na redução dos prejuízos ocasionados pela praga (CASTELO BRANCO et al., 2003; DIAS et al., 2004). Porém, o emprego deste método de forma contínua e em grande escala traz riscos de intoxicação aos produtores e consumidores, deixando resíduos nos alimentos, que são consumidos em sua maioria *in natura* ou com pouco preparo. Pode ocorrer também, a contaminação do ambiente, redução das populações de inimigos naturais e, principalmente, seleção de populações mais resistentes aos agrotóxicos (CHEN et al., 1996; MONNERAT et al., 2004).

Com o aparecimento gradativo de populações da traça-das-crucíferas resistentes aos produtos comerciais usualmente utilizados, inclusive reguladores de crescimento

(CASTELO BRANCO & GATEHOUSE, 1997), o controle desta praga tem sinalizado para a utilização de técnicas alternativas que podem minimizar seus danos, como o uso de variedades resistentes, feromônios (FRANÇA & CASTELO BRANCO, 1987; MELO et al., 1994; CASTELO BRANCO, 1999; MAYER & MITCHELL, 1999; MICHEREFF et al., 2000; IMENES et al., 2002), plantas inseticidas (TORRES et al., 2001), rotação de culturas, eliminação de restos culturais (CASTELO BRANCO et al., 2003) e o emprego de agentes de controle biológico como os parasitóides, predadores e microrganismos entomopatogênicos (IDRIS & GRAFIUS, 1998; BARROS & VENDRAMIM, 1999; CASTELO BRANCO & MEDEIROS, 2001; MUSSURY et al., 2002; DIAS et al., 2004). O uso de produtos naturais extraídos de plantas apresenta-se como uma alternativa viável devido a sua seletividade, baixa toxicidade ao homem e eficiência contra várias espécies de insetos-praga (SCHMUTTERER, 1987; SAXENA, 1989; NEVES & NOGUEIRA, 1996).

Esses compostos químicos produzidos pelas plantas são chamados genericamente de substâncias secundárias, e não estão diretamente envolvidos em funções primárias como a fotossíntese, respiração e crescimento da planta (PRICE, 1997). Entre insetos especialistas de brássicas, substâncias químicas secundárias, como os glucosinolatos e outros produtos, são descritos como incitantes à alimentação e estimulantes de oviposição (SPENCER et al., 1999).

A resistência de plantas em brássicas tem sido avaliada com base na cerosidade da superfície foliar, determinada pelo teor de alcanos, e quanto ao teor de sinigrina (2-propenylglucosinolate) presente nas folhas (SPENCER, 1996; ULMER et al., 2002). A sinigrina é um metabólito secundário de plantas, do grupo dos glucosinolatos, que ocorre naturalmente em crucíferas, e que está envolvida diretamente nas interações inseto-planta, particularmente naquelas envolvendo fitófagos.

Apesar de se conhecer grande parte dos compostos envolvidos na resistência de plantas a doenças e a artrópodes em geral, esclarecimentos sobre os seus efeitos, incluindo a sinigrina, no desenvolvimento dos insetos se faz necessário, devido a existência de resultados contrastantes entre os trabalhos realizados, suportando a hipótese de que para cada espécie vegetal e animal, esses mecanismos são

expressados de maneira diferenciada, além dos resultados variarem devido aos sucessivos processos de melhoramentos realizados nas plantas.

Desta forma, essa pesquisa teve como objetivo geral estudar os efeitos de diferentes concentrações de sinigrina aplicada na superfície foliar de couve e brócolis, em alguns parâmetros biológicos de *P. xylostella*, tendo como objetivos específicos: determinar o consumo foliar através de medidas de peso fresco e peso seco de folhas e área foliar, bem como estabelecer uma escala visual de notas para os danos.

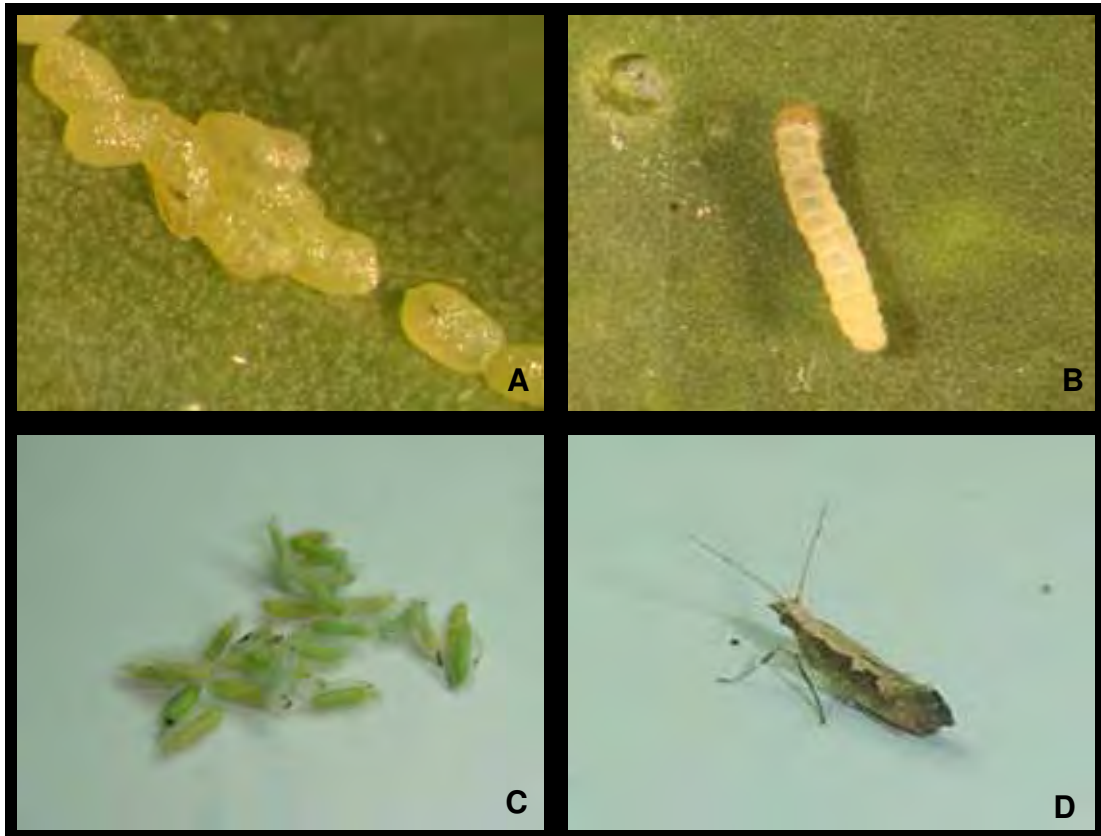
## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Aspectos biológicos de *Plutella xylostella***

Na atualidade *P. xylostella* é considerada a praga de maior importância no cultivo de brássicas no Brasil e no mundo, devido aos sérios danos causados às plantas, ocasionando grandes perdas, podendo chegar a inviabilizar a produção (CASTELO BRANCO & FRANÇA, 2001). De acordo com TALEKAR & SHELTON (1993), o custo do manejo da traça-das-crucíferas no mundo é estimado em mais de um bilhão de dólares por ano.

É um inseto de ciclo curto, cuja temperatura é fator determinante, pois em condições mais quentes o ciclo pode se dar em apenas 12 dias, e em dias frios, esse período varia de 15 a 20 dias. O número de gerações está em torno de cinco a 10 por ano, dependendo das condições climáticas e da disponibilidade de alimento, o que faz com que as populações dessa praga variem muito de um ano a outro (CASTELO BRANCO & VILLAS BÔAS, 1997; DIAS et al., 2004). Segundo IMENES et al. (2002), a oviposição se dá na face inferior das folhas. Após a eclosão, as lagartas de primeiro ínstar “minam” as folhas, alimentando-se do parênquima por dois ou três dias. Em seguida, abandonam as “minas” e passam a alimentar-se da epiderme, perfurando as folhas e inutilizando-as para a comercialização. Quando completam o desenvolvimento

larval, empupam no interior de um pequeno casulo de seda produzido pela lagarta, na face inferior das folhas (Figura 1).



**Figura 1.** Fases de desenvolvimento de *Plutella xylostella*: ovos na folha de couve (A); lagarta (B); pupas (C); adulto (D).

O controle químico é o mais utilizado, porém o uso exacerbado e desordenado de inseticidas para combater a traça-das-crucíferas tem resultado no aparecimento de insetos resistentes, assumindo, assim, papel relevante o seu manejo (THULER, 2003).

GEORGHIOU & LAGUNES-TEJADA (1991) relataram que em 1989 já eram conhecidos cerca de 51 inseticidas químicos aos quais *P. xylostella* apresentava resistência. No Brasil, a resistência desse inseto a inseticidas com diferentes princípios ativos foi relatada por CASTELO BRANCO & GATEHOUSE (1997), como por exemplo deltametrina e metamidofós.

As características de resistência das plantas ao inseto descritas até então, se referem a mecanismos constitutivos da planta. No entanto, atualmente tem sido mencionado que, tanto as injúrias causadas por insetos, quanto a infecção por microrganismos, podem desencadear processos metabólicos que levam as plantas à produção de compostos, muitas vezes envolvidos na resistência a doenças e/ou pragas (FIDANTSEF et al., 1999; STOUT et al., 1999; BOSTOCK, 1999; FELTON & KORTH, 2000; RAMAMOORTHY et al., 2001). A existência de efeito sinérgico entre os diferentes processos, desencadeados simultaneamente na planta pelo ataque de insetos e infecção por patógenos, poderia aumentar ainda mais a resistência induzida (FINDATSEF et al., 1999; STOUT et al., 1999; BOSTOCK, 1999; FELTON & KORTH, 2000). Nesse sentido, THULER et al. (2007) classificaram a cultivar de repolho verde Chato-de-quintal como moderadamente resistente à *P. xylostella*. TORRES et al. (2006) verificaram que os extratos aquosos de *Azadirachta indica*, *Melia azedarach* e *Aspidosperma pyrifolium* possuem efeito tóxico para ovos de *P. xylostella*, sendo dependente do aumento da concentração. Em outro trabalho, MEDEIROS et al. (2005) notaram que os extratos de *Enterolobium contortisiliquum*, *Sapindus saponaria* (frutos) e *Trichilia pallida* (folhas) foram muito eficientes, apresentando 100% de deterrência para o inseto.

## **2.2. As substâncias secundárias na interação inseto-plantas**

Quando um inseto herbívoro encontra uma planta hospedeira, ele é exposto a uma variedade de estímulos associados, como o visual, as características físicas e químicas da planta, entre outros (HODGES et al., 2006). Todavia, acredita-se que para a seleção hospedeira, muitas interações são mediadas por concentrações adequadas de substâncias químicas produzidas pelas próprias plantas hospedeiras (SPENCER et al., 1999). Esses compostos químicos produzidos pelas plantas são chamados genericamente de metabólitos secundários, e não estão diretamente envolvidos em

funções primárias como a fotossíntese, respiração e crescimento da planta (PRICE, 1997).

Entre insetos especialistas de brássicas, substâncias químicas secundárias, como os glucosinolatos e outros produtos secretados pelas plantas, são incitantes a alimentação e estimulantes para a oviposição (SPENCER et al., 1999).

Glucosinolatos são metabólitos secundários de plantas, cujos constituintes básicos são: um resíduo de  $\beta$ -tioglicose, uma molécula de N-hidroxiiminosulfato e uma variável cadeia lateral. Mais de 120 glucosinolatos diferentes foram identificados, sendo de ocorrência natural como constituintes de espécies vegetais, quase exclusivamente de espécies de brássicas e algumas poucas famílias relacionadas. Estas substâncias desempenham papéis proeminentes em interações herbívoros-planta e patógenos-planta, e estão também atraindo atenção para suas propriedades anticarcinogênicas (REICHELT et al., 2002).

Os glucosinolatos também são importantes devido ao seu potencial de toxicidade e devido à sua epidemiologia, além de outras evidências, como alguns desses compostos que podem inibir processos carcinogênicos quando consumidos separadamente da dieta normal. Conseqüentemente, a quantidade desses componentes, processada e não processada nos alimentos, reveste-se de extrema importância (BETZ & FOX, 1994).

Segundo REICHELT et al. (2002), os glucosinolatos parecem servir como mecanismo de defesa contra herbívoros generalistas e patógenos, e como estimulantes na alimentação e oviposição para herbívoros especialistas, sendo alguns deles conhecidos como fortes fagoestimulantes ao afídeo do repolho, *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae), desempenhando importante papel na seleção de planta hospedeira para esta espécie (GABRYS & TJALLINGII, 2002).



### 2.2.1. Hipótese co-evolucionária

A hipótese co-evolucionária, citada por PIZZAMIGLIO (1991), propõe a ocorrência de uma série de eventos, como mutações e recombinações genéticas, onde as plantas que produziam alguma substância secundária que eventualmente alterava suas propriedades (por exemplo, sabor, valor nutritivo), constituía-se num meio de defesa contra os insetos que delas se alimentavam. Assim, livres do ataque desses insetos, estas plantas se espalharam por novas áreas. No entanto, alguns insetos (especialistas) desenvolveram mecanismos para tolerar essas “novas” substâncias secundárias, tornando-os capazes a explorar estas plantas, sem competição com outros insetos que não se adaptaram a elas (generalistas).

As variações no conteúdo relativo de glucosinolatos podem acontecer entre espécies de brássicas, cultivares e entre as partes de uma mesma planta. Em *Brassica juncea* (L.) Czern., a sinigrina foi identificada como o glucosinolato mais importante em semente e tecido da folha; também foram reportadas concentrações altas de sinigrina em sementes e tecido frescos de mostarda verde (*B. juncea* var. *rugosa*) (RANGKADILOK et al., 2002a). RANGKADILOK et al. (2002b), em outra pesquisa, encontraram sinigrina em altas concentrações em *Brassica nigra* (L.) WDJKoch, *B. juncea* var. *rugosa*, e a maior parte das espécies de *Brassica oleracea* (L.) Convar (couve de Bruxelas, repolho, couve-flor e brócolis chineses) e baixa concentração em *B. juncea* (mostarda indiana) .

Segundo TIAN et al. (2005), muitos métodos foram propostos para analisar glucosinolatos, porém, poucos são quantitativos, e muitos foram perdidos com o tempo. Um método quantitativo seletivo e sensível para determinação direta de glucosinolatos intactos foi desenvolvido usando a técnica de cromatografia líquida, HPLC (high performance liquid chromatography).

THULER (2006) usou a análise (HPLC) para amostras de diferentes cultivares de couve e repolho (chato de quintal, midori, roxo precoce, HS20, Geórgia e híbrido roxo), para verificação da existência de glucosinolatos, não encontrando sequer traços de sinigrina nas amostras injetadas. Esta resposta negativa encontrada para a presença de

sinigrina nas seis cultivares pode ser de fundamental importância para entender o processo de evolução, já que inicialmente a sinigrina era citada como fonte de defesa para as plantas contra as pragas, tornando-se, ao longo do tempo, fonte de atratividade e estímulo alimentar para a traça-das-crucíferas. Desta forma, ela passou a ser citada como exemplo de co-evolução entre os insetos e plantas (THULER et al., 2007). Segundo os autores, a ausência de sinigrina nas seis cultivares testadas leva a crer que os excessivos cruzamentos genéticos realizados em espécies de brássicas, para obter melhores características organolépticas ou produtividade, têm contribuído para a eliminação de certas substâncias secundárias, a exemplo de alguns glucosinolatos, como a sinigrina.

### **2.2.2. Efeito na seleção de planta hospedeira**

Segundo THULER (2003), diversas substâncias componentes de várias espécies de brássicas, como a sinigrina, podem estar ligadas a estímulos na seleção do substrato para a oviposição por *P. xylostella*.

SPENCER (1996) utilizou substrato para postura com diferentes quantidades de sinigrina e alcanos, e verificou que a medida que aumentou o teor de sinigrina nos tratamentos, o número de ovos de *P. xylostella* também aumentou, sendo maior, no entanto, no tratamento com alto teor de sinigrina associada ao alcanos. Nos testes de preferência, com e sem chance de escolha, houve também preferência pelo tratamento com os dois metabólitos associados. Além disso, observou também que as ceras isoladas não são estimulantes para oviposição, ao contrário da sinigrina sozinha, que é um excelente incitante à postura.

Em outro trabalho, SPENCER et al. (1999) concluíram que houve efeito sinérgico entre a sinigrina e dez compostos alcanos, como estimulantes para a oviposição de *P. xylostella*. Os autores mencionam também que a associação entre esses compostos reduz o caminhamento e aumenta a permanência do inseto na folha, proporcionando maior taxa de oviposição.

### 2.2.3. Outros efeitos

Produtos como a sinigrina e o glucorafanin (4 metil-sulfonil-butilglucosinolatos) foram apresentados como agentes de proteção contra o desenvolvimento de determinados tipos de câncer. Porém, existem informações limitadas na literatura sobre a variação destes dois glucosinolatos ao longo do ciclo da planta (OLSSON & JONASSON, 1994).

Estudos epidemiológicos feitos por TIAN et al. (2005) mostraram que uma dieta rica em frutas e verduras, como a alimentação com crucíferas, pode reduzir o risco de muitos tipos de cânceres. Em um recente estudo epidemiológico, investigando a relação entre a incidência de câncer de bexiga e o consumo de frutas e legumes, nenhuma relação foi encontrada entre câncer de bexiga e frutas totais, frutas e legumes totais, legumes de copa verde, ou consumo de vegetais amarelos. Porém, uma relação inversa foi encontrada entre o risco de câncer de bexiga e o consumo de crucíferas.

RANGKADILOK et al. (2002a) avaliaram os níveis de sinigrina e do glucorafanin em brássicas durante seu desenvolvimento, mostrando que a concentração de sinigrina em diferentes genótipos de *B. juncea* e *B. nigra* diminuíram desde a germinação até os primeiros estágios de floração, aumentando nos últimos estágios da floração, até diminuírem novamente durante a maturação das sementes. A concentração mais baixa de sinigrina ocorreu no início da floração, exceto em um genótipo de *B. juncea* (PI 179858). A concentração de glucorafanin em *B. oleracea* var. *italica* diminuiu desde o começo da germinação das sementes até as fases de florescimento; os resultados ainda mostraram que as sementes verdes e marrons de mostardas continham concentração mais alta de sinigrina.

### 2.2.4. Efeito de glucosinolatos na alimentação de herbívoros

Os estímulos emitidos por glucosinolatos, envolvidos na oviposição e na seleção de plantas hospedeiras, podem também agir como atraentes ou estimulantes

alimentares. OLSSON & JONASSON (1994), trabalhando com seis cultivares comerciais de brássicas com diferentes níveis de sinigrina, observaram correlação negativa entre a alimentação de lagartas de *P. xylostella* e o teor da substância presente nas cultivares. No entanto, BODNARYK (1997) constatou que a alimentação de *P. xylostella* e *Phyllotreta cruciferae* (Goeze) (Coleoptera: Chrysomelidae) em cultivares de *B. juncea* com diferentes níveis de sinigrina, e de *Sinapis alba* (L.) (Cruciferae), com variados teores de sinalbina, não apresentaram diferenças, indicando que tanto a composição, quanto os níveis dessas substâncias secundárias podem interferir na oviposição, mas não têm efeito na alimentação de ambos os insetos.

No entanto, o teor de sinigrina presente nas folhas de repolho *B. oleracea* var. *capitata* tem sido predominantemente relacionado com a obtenção de cultivares resistentes à traça-das-crucíferas (THULER, 2003).

GABRYS & TJALLINGII (2002) estudaram o papel da sinigrina durante a alimentação inicial em plantas hospedeiras (feijão) por afídeos do repolho, *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae), e o afídeo da ervilha, *Acyrtosiphon pisum* (Harris) (Hemiptera: Aphididae). As folhas foram tratadas com água ou com solução aquosa a 1% de sinigrina, sendo verificado que as espécies de pulgões estudadas não se alimentaram das folhas de feijão sem sinigrina.

### 3. REFERÊNCIAS

BARROS, R.; ALBERT JÚNIOR, I. B.; OLIVEIRA, A. J.; SOUZA, A. C. F.; LOGES, V. Controle químico da traça das crucíferas, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) em repolho. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 22, n. 3, p. 463-469, 1993.

BARROS, R.; VENDRAMIM, J. D. Efeito de cultivares de repolho, utilizados para criação de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), no desenvolvimento de

*Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 28, n. 3, p. 469-476, 1999.

BETZ, J. M.; FOX, W. D. High-performance liquid chromatographic determination of glucosinolates in *Brassica* vegetables. In: HUANG, M. T.; OSAWA, T.; HO, C. T.; ROSEN, R. T. (Eds.). **Food phytochemicals for cancer prevention I: fruits and vegetables**. Washington: Oxford University Press, p.181-195, 1994.

BODNARYK, R. P. Will low-glucosinolate cultivar of the mustards *Brassica juncea* and *Sinapis alba* be vulnerable to insect pests? **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 77, p. 283-287, 1997.

BOSTOCK, R. M. Signal conflicts and synergies in induced resistance to multiple attackers. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 55, n. 2, p. 99-109, 1999.

CASTELO BRANCO, M. Associação de armadilhas de feromônio e número de machos coletados para a redução do uso de inseticidas no controle da traça das crucíferas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 3, p. 280, 1999.

CASTELO BRANCO, M.; FRANÇA, F. H. Traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). In: VILELA, E. F.; ZUCCHI, R. A.; CANTOR, F. (Eds.). **Pragas introduzidas no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos, p. 85-89, 2001.

CASTELO BRANCO, M.; FRANÇA, F. H.; PONTES, L. A.; AMARAL, P. S. T. Avaliação da suscetibilidade a inseticidas em populações de traça-das-crucíferas de algumas áreas do Brasil. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 3, p. 549-552, 2003.

CASTELO BRANCO, M.; GATEHOUSE, A. G. Insecticide resistance in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) in the Federal District, Brazil. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 26, n. 1, p. 75-79, 1997.

CASTELO BRANCO, M.; GATEHOUSE, A. Survey of insecticide susceptibility in *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae) in the Federal District, Brazil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 327-332, 2001.

CASTELO BRANCO, M.; GUIMARÃES, A. L. Controle da traça das crucíferas em repolho. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 10, n. 1, p. 24-25, 1990.

CASTELO BRANCO, M.; MEDEIROS, M. A. Impacto de inseticidas sobre parasitóides da traça-das-crucíferas em repolho no Distrito Federal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 1, p. 7-13, 2001.

CASTELO BRANCO, M.; VILLAS BÔAS, G. L. Traça-das-crucíferas *Plutella xylostella* – Artrópodes de importância econômica. **Comunicado Técnico da Embrapa Hortaliças**, Brasília – DF, n. 4, p. 1-3, 1997.

CHEN, C. C.; CHANG, S. J.; CHENG, L. L.; HOU, R. F. Deterrent effect of the chinaberry extract on oviposition of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lep., Yponomeutidae). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 120, n. 3, p. 165 - 169, 1996.

DIAS, D. G. S.; SOARES, C. M S.; MONNERAT, R. Avaliação de larvicidas de origem microbiana no controle da traça-das-crucíferas em couve-flor. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 3, p. 553-556, 2004.

DICKSON, M. H.; SHELTON, A. M.; EIGENBRODE, S. D.; VAMOSY, M. L.; MORA, M. Selection for resistance to diamondback moth (*Plutella xylostella*) in cabbage. **Hortscience**, Alexandria, v. 25, n. 12, p. 1643-1646, 1990.

FELTON, G. W.; KORTH, K. L. Trade-offs between pathogen and herbivore resistance. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 3, n. 4, p. 309-314, 2000.

FIDANTSEF, A. L.; STOUT, M. J.; THALER, J. S.; DUFFEY, S. S.; BOSTOCK, R. M. Signal interactions in pathogen and insect attack: expression of lipoxygenase, proteinase inhibitor II, and pathogenesis-related protein P4 in the tomato, *Lycopersicon esculentum*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 54, n. 3-4, p. 97-114, 1999.

FRANÇA, F. H.; CASTELO BRANCO, M. Resistência varietal a insetos e ácaros em hortaliças. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 5, n. 1, p. 8-11, 1987.

GABRYS, B.; TJALLINGII, W. F. The role of sinigrin in host plant recognition by aphids during initial plant penetration. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Netherlands, v. 104, n. 1, p. 89, 2002.

GEORGHIOU, G. P.; LAGUNES-TEJADA, A. **The occurrence of resistance to pesticides in arthropods**. Rome: FAO, 1991. 318 p.

HODGES, D. M.; MUNRO, K. D.; FORNEY, C. F.; MCRAE, K. B. Glucosinolate and free sugar content in cauliflower (*Brassica oleracea* var. *botrytis* cv. Freemont) during controlled atmosphere storage. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 40, n. 2, p. 123-132, 2006.

IDRIS, A. B.; GRAFIUS, E. Diurnal flight activity of *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae), a parasitoid of the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) in the field. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 27, n. 2, p. 406 - 414, 1998.

IMENES, S. D. L.; CAMPOS, T. B. de ; RODRIGUES NETTO, S. M.; BERGMANN, E. C. Avaliação da atratividade de feromônio sexual sintético da traça das crucíferas, *Plutella xylostella* (L.)(Lepidoptera: Plutellidae), em cultivo orgânico de repolho. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 69, n. 1, p. 81-84, 2002.

LOGES, V. **Danos causados pela traça das crucíferas *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) em cultivares de repolho *Brassica oleracea* var. *capitata* (L.) e efeito sobre populações da praga e do parasitóide *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov, 1912), em condições de campo.** 1996. 98f. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Entomologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 1996.

MAYER, M. S.; MITCHELL, E. R. Differences between attractive diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), sex pheromone lures are not determinable through analysis of emissions. **Agricultural and Forest Entomology**, Oxford, v. 1, n. 3, p. 229-236, 1999.

MEDEIROS, C. A. M.; BOIÇA JUNIOR, A. L.; TORRES, A. L. Efeito de extratos aquosos de plantas na oviposição da traça-das-crucíferas, em couve. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 2, p. 227-232, 2005.

MELO, P. E.; CASTELO BRANCO, M.; MADEIRA, N. R. Avaliação de genótipos de repolho para a resistência à traça das crucíferas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 12, n. 1, p. 19-24, 1994.



MICHEREFF, M. F. F.; VILELA, E. F.; MICHEREFF FILHO, M.; MAFRA NETO, A. Uso do feromônio sexual sintético para captura de machos da traça-das-crucíferas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 10, p. 1919-1926, 2000.

MONNERAT, R. G.; LEAL-BERTIOLI, S. C. M.; BERTIOLI, D. J.; BUTT, T. M.; BORDAT, D. Caracterização de populações geograficamente distintas da traça-das-crucíferas por suscetibilidade ao *Bacillus thuringiensis* Berliner e RAPD-PCR. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 3, p. 607-609, 2004.

MUSSURY, R. M.; FERNANDES, W. D.; SCALON, S. P. Q. População de *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) e *Plutella xylostella* Linnaeus, 1758, associada a *Brassica napus* L. em função de dois métodos de captura. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 5, p. 993-998, 2002.

NEVES, B. P.; NOGUEIRA, J. C. M. **Cultivo e utilização do nim indiano (*Azadirachta indica* A. Juss.)**. Embrapa - CNPAF – APA, 1996. 32p. (Circular Técnica, 28).

OLSSON, K.; JONASSON, T. Leaf feeding by caterpillars on white cabbage cultivars with different 2-propenyl glucosinolate (sinigrin) content. **Journal Applicata Entomology**, Berlin, v. 118, n. 2, p. 197-202, 1994.

PIZZAMIGLIO, M. A. Ecologia das interações inseto/planta. In: PANIZZZI, A. R., PARRA, J. R. P. (Eds.). **Ecologia nutricional dos insetos e suas implicações no Manejo de Pragas**. São Paulo: Manole, p. 101-129, 1991.

PRICE, P.W. **Insect ecology**. New York: John Wiley & Sons, 1997. 874p.

RAMAMOORTHY, V.; VISWANATHAN, R.; RAGUCHANDER, T.; PRAKASAM, V.; SAMIYAPPAN, R. Induction of systemic resistance by plant growth promoting

rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. **Crop Protection**, Guildford, v. 20, n. 1, p. 1-11, 2001.

RANGKADILOK, N.; NICOLAS, M. E.; BENNETT, R. N.; PREMIER, R. R.; EAGLING, D. R.; TAYLOR, P. W. J. Developmental changes of sinigrina and glucoraphanin in three *Brassica* species (*Brassica nigra*, *Brassica juncea* and *Brassica oleracea* var. *italica*). **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 96, n. 1, p. 11-26, 2002a.

RANGKADILOK, N.; NICOLAS, M. E.; BENNETT, R. N.; PREMIER, R. R.; EAGLING, D. R.; TAYLOR, P. W. J. Determination of sinigrina and glucoraphanin in *Brassica* species using a simple extraction method combined with ion-pair HPLC analysis. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 96, n. 1, p. 27-41, 2002b.

REICHELT, M.; BROWN, P. D.; SCHNEIDER, B.; OLDHAM, N. J.; STAUBER, E.; TOKUHISA, J.; KLIEBENSTEIN, D. J.; MITCHELL-OLDS, T.; GERSHENZON, J. Benzoic acid glucosinolate esters and other glucosinolates from *Arabidopsis thaliana*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 59, n. 6, p. 663-671, 2002.

SAXENA, R. C. Insecticides from Neem. In: ARNASON, J. T.; PHILOGENE, B. J. R.; MORAND, P. (Eds.). **Insecticides of plant origin**. Washington: American Chemical Society, p. 110-129, 1989.

SCHMUTTERER, H. Insect growth-disrupting and fecundity-reducing ingredients from the neem and chynaberry trees. In: MORGAN, E. D.; MANDAVA, N. B. (Eds.). **CRC Handbook of natural pesticides**: volume III, Insect Growth Regulators – Part B. Washington: CRC, p. 119-167, 1987.

SPENCER, J. L. Waxes enhance *Plutella xylostella* oviposition in response to sinigrina and cabbage homogenates. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Netherlands, v. 81, n. 2, p. 165-173, 1996.

SPENCER, J. L.; PILLAI, S.; BERNAYS, E. A. Synergism in the oviposition behavior of *Plutella xylostella*: sinigrina and wax compounds. **Journal of Insect Behavior**, New York, v. 12, n. 4, p. 483-500, 1999.

STOUT, M. J.; FIDANTSEF, A. L.; DUFFEY, S. S.; BOSTOCK, R. M. Signal interactions in pathogen and insect attack: systemic plant-mediated interactions between pathogens and herbivores of the tomato, *Lycopersicon esculentum*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 54, n. 3, p. 115-130, 1999.

TALEKAR, N. S.; SHELTON, A. M. Biology, ecology and management of the diamondback moth. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 38, p.275- 301, 1993.

THULER, R. T. **Efeito da bacterização de cultivares de repolho com isolados endofíticos e epifíticos no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutelidae)**. 2003. 74f. Dissertação (Mestrado em Entomologia), Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2003.

THULER, R.T. ***Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutelidae): estratégias para o manejo integrado**. 2006. 83f. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola), Universidade Estadual Paulista, Unesp, Jaboticabal, 2006.

THULER, R. T.; DE BORTOLI, S. A.; HOFFMANN-CAMPO, C. B. Classificação de cultivares de brássicas com relação à resistência à traça-das-crucíferas e à presença de glucosinolatos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 4, p. 467-474, 2007.

TIAN, Q.; ROSSELOT, R. A.; SCHWARTZ, S. J. Quantitative determination of intact glucosinolates in broccoli, broccoli sprouts, brussels sprouts, and cauliflower by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry. **Analytical Biochemistry**, San Diego, v. 343, n. 1, p. 93-99, 2005.

TORRES, A. L.; BARROS, R.; OLIVEIRA, J. V. de. Efeito de extratos aquosos de plantas no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 151-156, 2001.

TORRES, A. L.; BOIÇA JÚNIOR, A. L.; MEDEIROS, C. A. M.; BARROS, R. Efeito de extratos aquosos de *Azadirachta indica*, *Melia azedarach* e *Aspidosperma pyrifolium* no desenvolvimento e oviposição de *Plutella xylostella*. **Bragantia**, Campinas, v. 65, n. 3, p. 447-457, 2006.

ULMER, B. C.; GILLOTT, C.; WOODS, D.; ERLANDSON, M. Diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.), feeding and oviposition preferences on glossy and waxy *Brassica rapa* (L.) lines. **Crop Protection**, Guildford, v. 21, n. 4, p. 327-331, 2002.

## **CAPÍTULO 2 - ASPECTOS BIOLÓGICOS DE *Plutella xylostella* (L.) (LEP.: PLUTELLIDAE) ALIMENTADA COM FOLHAS DE COUVE E BRÓCOLIS TRATADAS COM SINIGRINA**

### **1. INTRODUÇÃO**

*Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), conhecida como traça-das-crucíferas, destaca-se como a praga de maior importância para a cultura das brássicas, devido aos sérios danos que causa às plantas, depreciando o produto e ocasionando grandes perdas nos campos de produção do Brasil e de várias outras regiões do mundo (CASTELO BRANCO & FRANÇA, 2001). O uso indiscriminado de inseticidas tem aumentado os custos de produção, eliminado os inimigos naturais e selecionando populações da praga com resistência a diversos produtos contendo vários grupos de princípios ativos (ZILAHY-BALOGH et al., 1995; CAMPOS et al., 1997).

Como alternativa ao uso de inseticidas, o emprego de cultivares resistentes tem assumido papel relevante no manejo da traça-das-crucíferas (ULMER et al., 2002). A resistência de plantas em brássicas tem sido avaliada com base na cerosidade da superfície foliar, determinada pelo teor de alcano e pelo teor de sinigrina presente nas folhas (SPENCER, 1996; ULMER et al., 2002).

A sinigrina (2-propenylglucosinolate) é um metabólito secundário de plantas, do grupo dos glucosinolatos, que ocorre naturalmente em brássicas, estando envolvida diretamente nas interações inseto-planta. Sabe-se que as substâncias secundárias participam, também, como estimulantes da alimentação e na seleção da planta hospedeira pelo inseto. A sinigrina, mesmo em baixos níveis, pode influenciar negativamente insetos polípagos como o pulgão *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera: Aphididae) e a lagarta *Mamestra configurata* (Walker, 1856) (Lepidoptera: Noctuidae), mas não afeta algumas espécies específicas de brássicas, como o pulgão *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus, 1758) (Hemiptera: Aphididae) e a lagarta *P. xylostella* (BODNARYK, 1997; COLE, 1997; THULER et al., 2007). Porém, o efeito dessas

substâncias no organismo dos insetos ainda é desconhecido, havendo necessidade de se estudar a influência dos metabólitos secundários na biologia de pragas com grande relevância para agricultura mundial, como a traça-das-crucíferas.

No Brasil, alguns resultados foram relatados quanto à resistência de diferentes cultivares e híbridos de repolho e couve à traça-das-crucíferas, no entanto, esses resultados são baseados principalmente em dados biológicos de desenvolvimento da praga (BARROS, 1998; BARROS & VENDRAMIM, 1999; TORRES, 2004) e não em características da planta hospedeira.

O índice potencial reprodutivo corrigido (PRC), utilizado para demonstrar a influência dos genótipos de brássicas na biologia de *P. xylostella*, permite classificar as cultivares em grupos distintos, quanto ao grau de resistência apresentado (BARROS, 1998; THULER, 2006). O índice PRC também foi utilizado por TORRES (2004) na classificação de cultivares de repolho, quanto a resistência contra a traça, sendo concluído pelo autor que esse parâmetro é preciso para se avaliar a influência de genótipos na biologia da traça-das-crucíferas, analisando-se assim a resistência constitutiva do tipo antibiose.

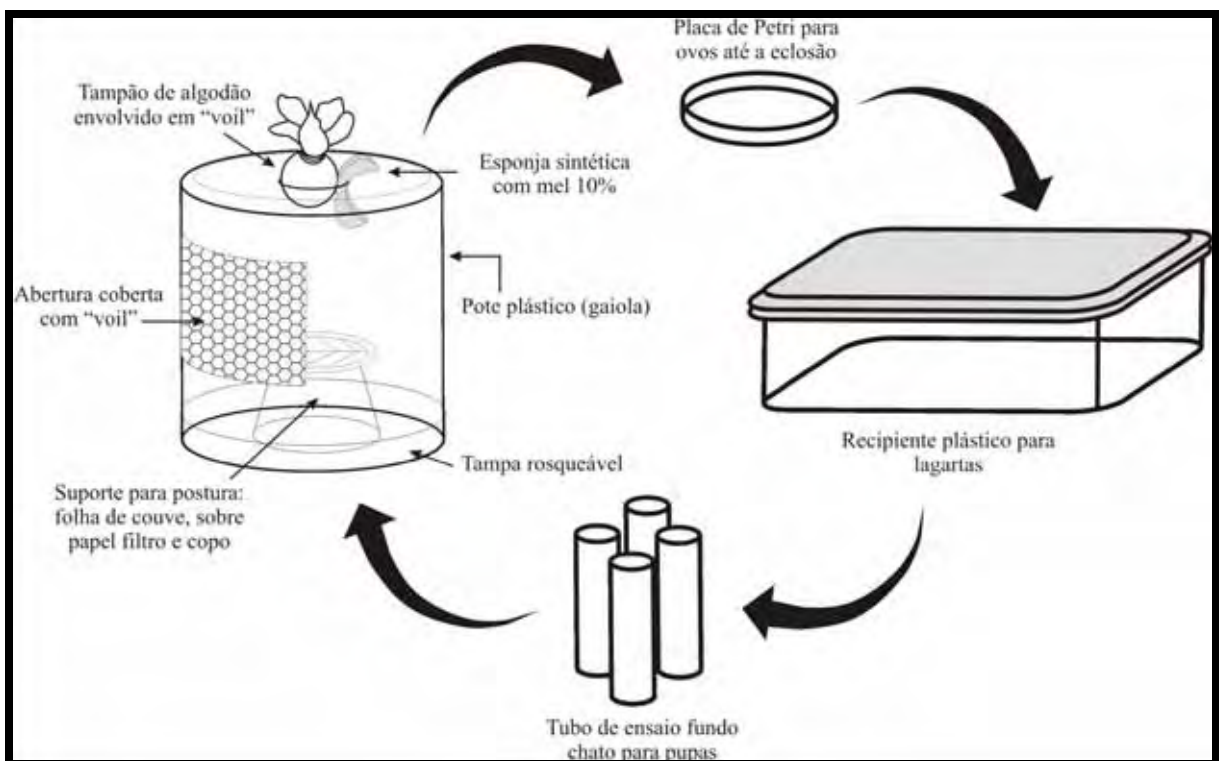
Desse modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da ingestão de sinigrina aplicada em folhas de couve e brócolis em alguns parâmetros biológicos de *P. xylostella*.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos (LBCI), da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, da Universidade Estadual Paulista (FCAV-Unesp), Jaboticabal, SP, em sala climatizada a  $25\pm 1^{\circ}$  C, umidade relativa de  $70\pm 10\%$  e fotofase de 12 horas.

Na primeira etapa do experimento trabalhou-se com lagartas de segundo ínstar de *P. xylostella*, oriundas da criação-estoque do laboratório, segundo metodologia desenvolvida por BARROS (1998) e adaptada para o LBCI (Figura 1). Não se utilizou

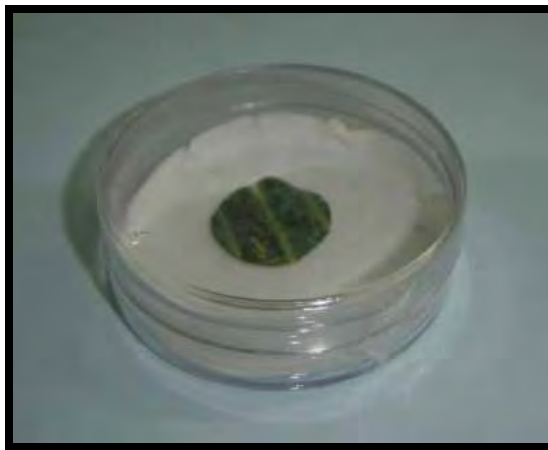
lagartas de primeiro ínstar devido ao hábito minador desse estágio, o que impede a ingestão da sinigrina aplicada na superfície das folhas. Foram utilizadas folhas de duas variedades de brássicas, a primeira de couve-manteiga (*Brassica oleracea* var. *acephala* DC, 1821) ‘Da Geórgia’ (Top Seed – Agristar), na qual não foi encontrada sinigrina em estudos anteriores (THULER et al., 2007) e brócolis (*Brassica oleracea* var. *Italica* Plenck, 1794) ‘Ramoso Piracicaba Precoce’ (Sementes Feltrin) que consta na literatura haver sinigrina naturalmente nas folhas, (0,02–0,04  $\mu\text{mol g}^{-1}$ ) (RANGKADILOK et al., 2002).



**Figura 1.** Esquema de criação de *Plutella xylostella*, baseado na metodologia desenvolvida por BARROS (1998) e adaptada para o Laboratório de Biologia e Criação de Insetos da Unesp Jaboticabal. Figura retirada de THULER (2006).

Foram utilizados discos de folhas de 2,2cm de diâmetro, com sinigrina (Sigma) aplicada na superfície foliar nas concentrações 0,2; 0,4; 0,8; 1,6; 3,2 mg/mL em solução 5% de Tween 20®, e uma testemunha apenas com solução 5% de Tween 20®. Para

cada concentração (tratamentos), utilizou-se 20 repetições, cada uma constando de uma placa de Petri (6 cm de diâmetro) contendo um disco de folha da cultivar, aonde foi aplicado sinigrina nas referidas concentrações, com auxílio de um pincel, até o molhamento completo da duas faces da superfície foliar (5,0  $\mu$ L/face do disco). O disco foi colocado sobre papel filtro levemente umedecido com água destilada. Sobre os discos foliares foram colocadas seis lagartas de segundo ínstar de *P. xylostella* e, posteriormente, as placas foram vedadas com filme plástico para manter a umidade e evitar a fuga dos insetos (Figura 2).



**Figura 2.** Arena utilizada como uma repetição nos diferentes tratamentos.

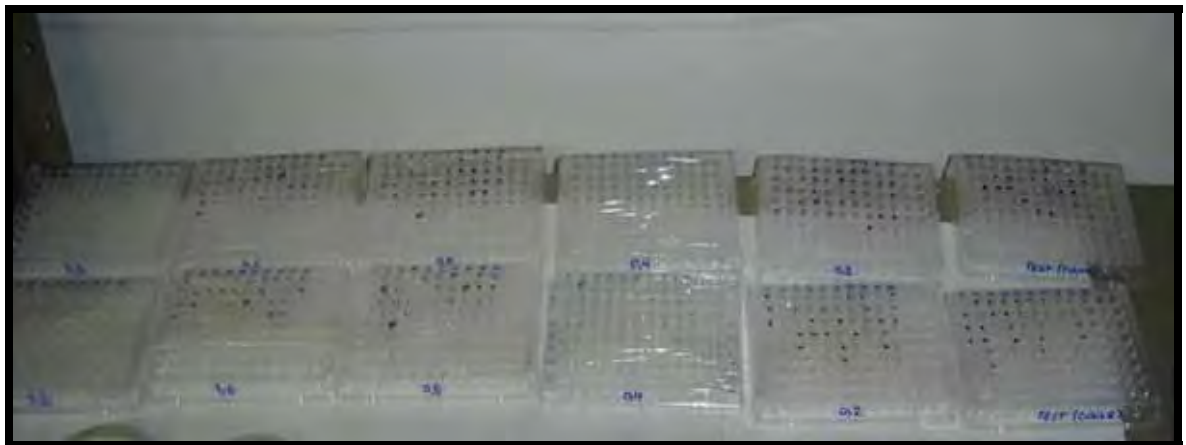
Os discos de folhas com sinigrina foram mantidos nas placas por três dias, período necessário para as larvas alimentarem-se de toda a área foliar e certificar-se que ingeriram a concentração de sinigrina aplicada. Após esse tempo, foram oferecidos novos discos de folha (9 cm de diâmetro) sem aplicação desta substância (Figura 3). As lagartas foram mantidas na placa até a pupação, avaliando-se diariamente a viabilidade e a duração do período larval.

Após a transformação em pupa, os insetos foram pesados e transferidos para placas plásticas com orifícios, tipo ELISA® (Figura 4), e foram observados até a emergência dos adultos, avaliando-se a duração e a viabilidade pupal, peso de pupas com 24 horas de formadas e razão sexual dos adultos que emergiram.





**Figura 3.** Arena contendo discos de folhas com 9 cm de diâmetro, utilizada após a ingestão de sinigrina pelas lagartas de *Plutella xylostella*.



**Figura 4.** Placas plásticas com orifícios, tipo ELISA®, utilizadas nas avaliações dos parâmetros biológicos de pupas de *Plutella xylostella*.

Na segunda etapa do experimento, utilizou-se os adultos emergidos nos tratamentos, que foram sexados e transferidos para gaiolas de posturas, compostas por um cilindro plástico com 12 cm de diâmetro e 15 cm de altura, uma esponja umedecida com solução 10% de mel e um disco de folha da cultivar (9 cm de diâmetro), como substrato para postura, apoiado em papel filtro levemente umedecido (Figura 1). Utilizou-se quatro repetições por tratamento, colocando-se dois casais por gaiola.

Nessa fase foi observada a fecundidade das fêmeas (número de ovos por fêmea) durante três dias (período de posturas viáveis) e a longevidade dos adultos.

Na terceira fase foram coletados 100 ovos por dia de cada tratamento e individualizados em papel quadriculado colocado em placas de Petri (15cm de diâmetro) com papel filtro levemente umedecido com água destilada (Figura 5), sendo observados até a eclosão das larvas. Determinou-se a viabilidade e o período de incubação dos ovos.



**Figura 5.** Arena contendo papel quadriculado utilizado nas avaliações dos parâmetros biológicos relativos aos ovos de *Plutella xylostella*.

Os dados obtidos foram submetidos, inicialmente, à análise de variância pelo teste F, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade e, quando significativas, a análise de regressão. Alguns dados foram transformados em  $(x+1)^{1/2}$  ou  $\text{Log}(x+1)$ , indicados nas tabelas. Para verificar a possível influência dos tratamentos no desenvolvimento e aumento da população foi calculado o índice Potencial Reprodutivo Corrigido (PRC), segundo BARROS (1998), onde  $\text{PRC} = (rs \times A)^n$ , sendo rs a razão sexual = n° fêmeas/ n° adultos; A é o número de adultos aptos à reprodução, determinado para cada tratamento, em função do número médio de ovos por fêmea (durante 3 dias), corrigido pelas viabilidades das fases de ovo, larva e pupa; n é o

número de gerações do inseto em 30 dias, obtido pelo quociente: 30 (dias do mês)/duração total da fase imatura do inseto (dias de duração de ovo+larva+pupa).

Realizou-se também a análise de agrupamento ("cluster analysis") (SNEATH & SOKAL, 1973) e a análise de componentes principais (JACKSON, 1991), para classificação dos tratamentos quanto à similaridade dentro dos grupos e dissimilaridade entre os grupos, com uso do programa Statistica versão 7.0. Para tanto, foram ajustados 11 caracteres [período larval, viabilidade larval, período pupal, viabilidade pupal, peso pupal, razão sexual, longevidade de adultos, fecundidade, período de incubação, viabilidade dos ovos e potencial reprodutivo corrigido (PRC)].

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram observadas diferenças significativas na duração e viabilidade larval nos tratamentos em que os insetos alimentaram-se de folhas de couve e de brócolis com sinigrina aplicada na superfície foliar (Tabelas 1 e 2). A duração, a viabilidade e o peso pupal nos tratamentos com couve não sofreram alterações em razão da adição de sinigrina (Tabela 1). Por outro lado, nos tratamentos cuja lagarta se alimentou com brócolis, a duração pupal e o peso de pupa mostraram diferença significativa (Tabela 2). Segundo REICHELDT et al. (2002), a presença de glucosinolatos, como a sinigrina, parece servir como mecanismo de defesa contra herbívoros generalistas e patógenos, ou como estimulantes na alimentação e oviposição para herbívoros especialistas, como a *P. xylostella*, fator este que pode justificar as diferenças encontradas, pois mesmo estimulando a alimentação e oviposição, não significa que o maior consumo de sinigrina possa ser favorável ao desenvolvimento desse inseto.

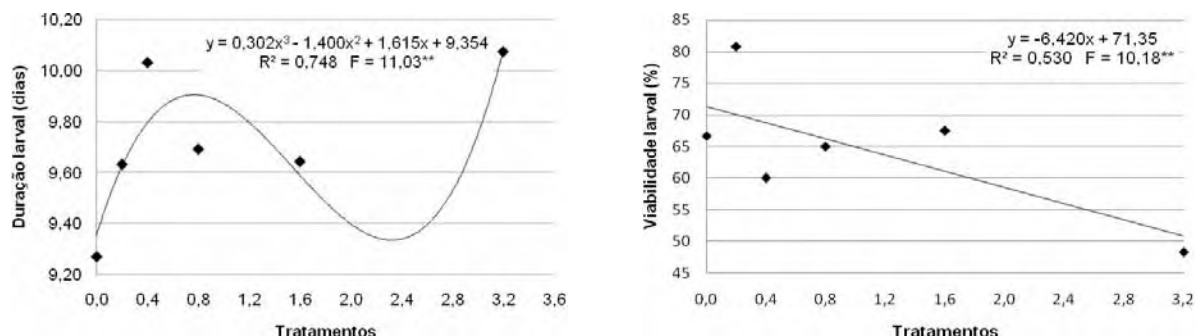
Os insetos alimentados com discos de couve sem sinigrina apresentaram o menor período larval (9,27 dias), diferindo significativamente dos tratamentos com 0,4 e 3,2 mg/mL de sinigrina, que provocaram efeito negativo, retardando o desenvolvimento das larvas. As doses em couve, 3,2mg/mL de sinigrina, e em brócolis, 0,2mg/mL, apresentaram o maior e menor período larval (10,07 e 9,21 dias, respectivamente)

(Figuras 6 e 7). Lagartas alimentadas com couve mais 3,2mg/mL de sinigrina e brócolis mais 0,2mg/mL apresentaram as menores viabilidades larvais, 48,33% e 43,33%, respectivamente (Tabelas 1 e 2). Esses resultados contrariam a afirmativa de REICHELDT et al. (2002), considerando-se que a couve, com a maior concentração de sinigrina, e o brócolis com a menor, produziram a menor viabilidade larval, indicando que ao invés de estimular a alimentação, essas concentrações acabaram matando as larvas (Figura 6). Isso pode também estar relacionado a quantidade natural de sinigrina em brócolis e a outros metabólitos nas folhas das variedades.

**Tabela 1.** Duração (dias) e viabilidade (%) dos períodos larval e pupal e peso de pupa (g) ( $\pm$ EP) de *Plutella xylostella*, alimentada com folhas de couve nos diferentes tratamentos com sinigrina.

Trat.* (mg/mL)	Larva		Pupa		
	Duração (dias)	Viabilidade (%)	Duração (dias)	Viabilidade (%)	Peso (g)
0,0	9,27 $\pm$ 0,09 b	66,67 $\pm$ 5,12 ab	3,88 $\pm$ 0,04	94,07 $\pm$ 3,34	0,0053 $\pm$ 0,0001
0,2	9,63 $\pm$ 0,09 ab	80,83 $\pm$ 3,30 a	3,62 $\pm$ 0,13	91,03 $\pm$ 2,38	0,0053 $\pm$ 0,0001
0,4	10,03 $\pm$ 0,15 a	60,00 $\pm$ 6,19 ab	3,65 $\pm$ 0,15	83,08 $\pm$ 4,38	0,0052 $\pm$ 0,0001
0,8	9,69 $\pm$ 0,15 ab	65,00 $\pm$ 4,27 ab	3,76 $\pm$ 0,09	91,65 $\pm$ 3,23	0,0054 $\pm$ 0,0001
1,6	9,64 $\pm$ 0,12 ab	67,50 $\pm$ 5,34 a	4,00 $\pm$ 0,06	82,55 $\pm$ 5,29	0,0053 $\pm$ 0,0001
3,2	10,07 $\pm$ 0,13 a	48,33 $\pm$ 7,33 b	3,77 $\pm$ 0,10	88,92 $\pm$ 4,42	0,0052 $\pm$ 0,0001
F	5,72**	4,23 **	1,95 <sup>NS</sup>	1,43 <sup>NS</sup>	0,23 <sup>NS</sup>
DMS	0,5171	0,4051	0,4229	16,51	0,0005
CV (%)	4,03	7,42	8,47	14,12	6,83

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). \*Doses de sinigrina. <sup>1</sup>A análise foi realizada com dados transformados em Log ( $x+1$ ).



**Figura 6.** Duração larval (dias) e viabilidade (%) de *Plutella xylostella* alimentada com folhas de couve nos diferentes tratamentos com sinigrina.

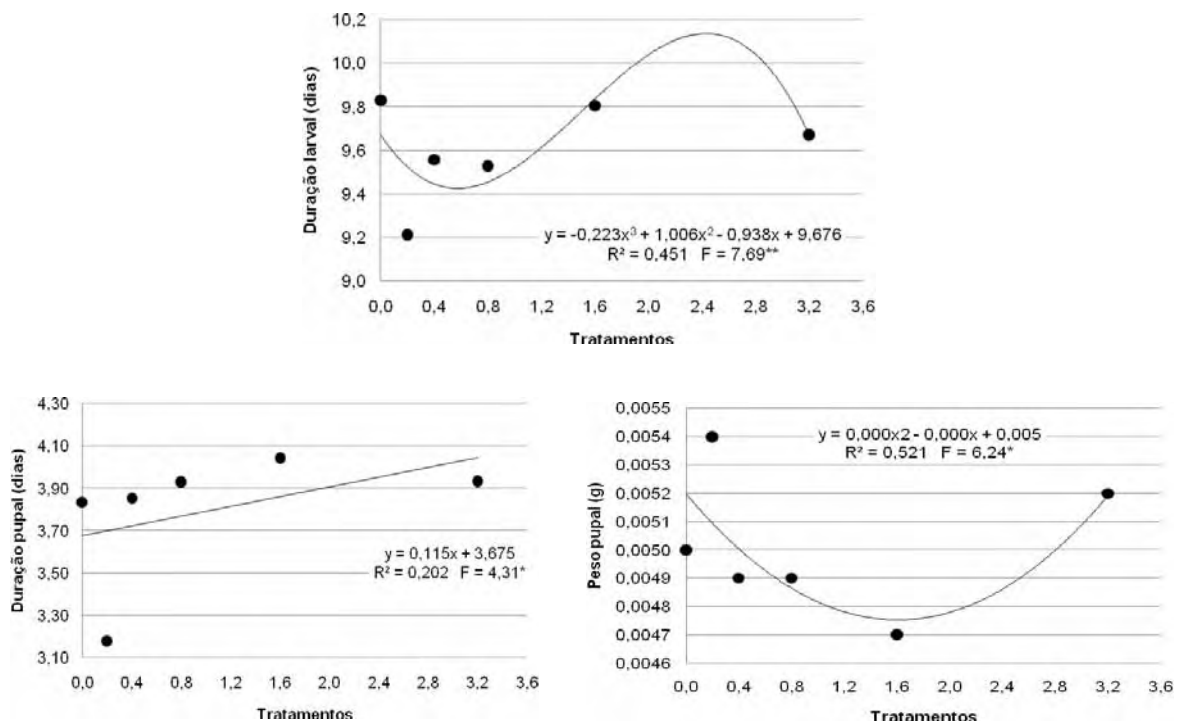
A duração do período pupal em brócolis foi significativamente menor na dose 0,2mg/mL de sinigrina (3,18 dias), em relação aos demais tratamentos, apresentando também a menor viabilidade, indicando que as lagartas que sobreviveram, completaram rapidamente essa fase e apresentaram alta viabilidade na fase de pupa (Tabela 2 e Figura 7). Esse resultado mostra que a sinigrina selecionou insetos mais resistentes a sinigrina na fase larval, de maneira que, na fase pupal ela não interferiu e ainda apresentou o maior peso de pupa (0,0058g). Esse resultado foi significativamente diferente do menor valor observado (0,0051g) nos insetos alimentados com brócolis mais 1,6mg/mL de sinigrina, porém, ambos não diferiram da testemunha (0,0056g) (Tabela 2). OLSSON & JONASSON (1994), trabalhando com seis cultivares comerciais de brássicas contendo diferentes níveis de sinigrina, observaram correlação negativa entre a alimentação de larvas de *P. xylostella* e o teor desta substância nas cultivares, contradizendo as afirmações de REICHELDT et al. (2002) e SPENCER et al. (1999), pois, como a traça é especialista de brássicas, a sinigrina agiria estimulando a alimentação e oviposição. Isso pode ser observado no presente trabalho para o parâmetro peso de pupa em brócolis, em que o maior peso pupal foi encontrado na menor dose de sinigrina (0,2mg/mL) e vice-versa, ocorrendo correlação negativa entre os fatores (Figura 7).

**Tabela 2.** Duração (dias) e viabilidade (%) dos períodos larval e pupal e peso de pupa (g) ( $\pm$ EP) de *Plutella xylostella*, alimentada com folhas de brócolis nos diferentes tratamentos com sinigrina.

Trat.* (mg/mL)	Larva		Pupa		Peso (g)
	Duração (dias)	<sup>1</sup> Viabilidade (%)	Duração (dias)	Viabilidade (%)	
0,0	9,83 $\pm$ 0,07 a	70,83 $\pm$ 4,17 a	3,83 $\pm$ 0,07 a	79,15 $\pm$ 5,25	0,0056 $\pm$ 0,0001 abc
0,2	9,21 $\pm$ 0,08 b	43,33 $\pm$ 3,89 b	3,18 $\pm$ 0,35 b	85,06 $\pm$ 4,38	0,0058 $\pm$ 0,0001 a
0,4	9,56 $\pm$ 0,14 ab	49,17 $\pm$ 8,91 ab	3,85 $\pm$ 0,06 a	78,55 $\pm$ 4,24	0,0055 $\pm$ 0,0001 abc
0,8	9,53 $\pm$ 0,08 ab	70,00 $\pm$ 4,51 a	3,93 $\pm$ 0,06 a	67,49 $\pm$ 6,85	0,0052 $\pm$ 0,0001 bc
1,6	9,81 $\pm$ 0,17 a	44,17 $\pm$ 7,56 b	4,04 $\pm$ 0,04 a	75,73 $\pm$ 7,84	0,0051 $\pm$ 0,0001 c
3,2	9,67 $\pm$ 0,08 a	60,00 $\pm$ 4,61 ab	3,93 $\pm$ 0,04 a	79,83 $\pm$ 8,69	0,0056 $\pm$ 0,0001 ab
F	4,30**	4,41**	4,26**	0,82 <sup>NS</sup>	5,17**
DMS	0,4573	1,7820	0,6260	26,8755	0,0005
CV (%)	3,61	18,21	12,49	26,22	7,41

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). \*Doses de sinigrina. <sup>1</sup>A análise foi realizada com dados transformados em  $(x+1)^{1/2}$ .

As respostas observadas para os parâmetros obtidos em brócolis parecem estar relacionadas com a aplicação do metabólito secundário (sinigrina) nas folhas, uma vez que causaram o fenômeno clássico de antibiose, ou seja, influenciaram direta e negativamente na biologia dos insetos, diminuindo o período larval e a sua viabilidade, como sugerido por EIGENBRODE et al. (1990) e observado em algumas doses, como em 0,2mg/mL, que apresentou a menor duração larval e a menor viabilidade.



**Figura 7.** Duração larval e pupal (dias) e peso de pupa (g) de *Plutella xylostella* alimentada com folhas de brócolis nos diferentes tratamentos com sinigrina.

Não foram observadas diferenças significativas na longevidade dos adultos e no período de incubação e viabilidade dos ovos para os tratamentos com couve e com brócolis (Tabelas 3 e 4). BODNARYK (1997) também constatou que a alimentação de *P. xylostella* e *Phyllotreta cruciferae* (Goeze) (Coleoptera: Chrysomelidae) em cultivares de *B. juncea* com diferentes níveis de sinigrina e de *Sinapis alba* (L.) (Cruciferae) com variados teores de sinalbina, também um glucosinolato, não apresentaram diferenças,

indicando que tanto a composição, quanto os níveis dessas substâncias secundárias podem interferir na oviposição, mas não têm efeito na alimentação de ambos os insetos.

O teste de Tukey para o parâmetro fecundidade de adultos em couve mostrou que a maior média de ovos por fêmea (161,50) para a dose 3,2mg/mL de sinigrina, diferiu significativamente de 0,8mg/mL (132,25), indicando que a alta concentração de sinigrina pode ter influenciado diretamente a oviposição de *P. xylostella* (Tabela 3), como citado por BODNARYK (1997). Esses resultados também corroboram os estudos de SPENCER et al. (1999), que propuseram ser, entre insetos especialistas de brássicas, as substâncias químicas secundárias, como os glucosinolatos e outros produtos secretados, fontes de alimentação primária e estimulante de oviposição. Porém, esse fato não foi evidenciado para os tratamentos com brócolis, pois não foram detectadas diferenças significativas entre as diferentes doses nos parâmetros de adulto e ovo. Esse resultado pode ser devido a sinigrina, nas fases iniciais do desenvolvimento, ter selecionado os indivíduos mais vigorosos que não foram afetados nas fases seguintes do desenvolvimento (adulto e ovo).

**Tabela 3.** Longevidade (dias), fecundidade de adultos, período de incubação (dias) e viabilidade dos ovos (%) e índice de Potencial Reprodutivo Corrigido (PRC) ( $\pm$ EP), de *Plutella xylostella*, alimentada com folhas de couve nos diferentes tratamentos com sinigrina.

Trat.* (mg/mL)	Adulto		Ovo		<sup>1</sup> PRC
	<sup>1</sup> Longevidade (dias)	Fecundidade	Período de Incubação (dias)	Viabilidade (%)	
0,0	14,06 $\pm$ 2,05	147,13 $\pm$ 4,25	2,80 $\pm$ 0,06	93,67 $\pm$ 2,33	1019,13 $\pm$ 289,82 ab
0,2	11,50 $\pm$ 1,61	147,38 $\pm$ 7,64	2,78 $\pm$ 0,14	97,00 $\pm$ 1,53	1676,16 $\pm$ 331,49 a
0,4	10,56 $\pm$ 1,47	153,63 $\pm$ 11,17	2,95 $\pm$ 0,05	97,00 $\pm$ 1,53	513,57 $\pm$ 129,34 b
0,8	10,44 $\pm$ 1,67	132,25 $\pm$ 5,93	2,73 $\pm$ 0,12	97,67 $\pm$ 0,88	812,61 $\pm$ 116,11 ab
1,6	14,56 $\pm$ 1,54	144,63 $\pm$ 4,38	2,76 $\pm$ 0,07	92,33 $\pm$ 0,67	615,45 $\pm$ 119,37 b
3,2	11,50 $\pm$ 1,53	161,50 $\pm$ 4,19	2,95 $\pm$ 0,03	98,33 $\pm$ 0,33	833,10 $\pm$ 323,60 ab
F	0,63 <sup>NS</sup>	2,08 <sup>NS</sup>	1,15 <sup>NS</sup>	3,05 <sup>NS</sup>	2,77*
DMS	0,7994	28,4729	0,4230	6,5602	1,2259
CV (%)	14,10	12,92	5,45	2,49	14,51

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). \*Doses de sinigrina. <sup>1</sup>A análise foi realizada com dados transformados em Log (x+1).

Analisando-se os valores de PRC, na couve, a concentração mais baixa de sinigrina (0,2mg/mL) apresentou o maior potencial reprodutivo (1676,16), quando comparado à 1,6mg/mL (615,45) e 0,4mg/mL (513,57). As demais doses não diferiram entre si e entre os valores extremos (Tabela 3). Esse fato não foi observado nos tratamentos com brócolis, indicando que a sinigrina aplicada nas folhas desta crucífera não influenciou significativamente o potencial reprodutivo corrigido (Tabela 4).

**Tabela 4.** Longevidade (dias), fecundidade de adultos, período de incubação (dias) e viabilidade dos ovos (%) e índice de Potencial Reprodutivo Corrigido (PRC) ( $\pm$ EP), de *Plutella xylostella*, alimentada com folhas de brócolis nos diferentes tratamentos com sinigrina.

Trat.* (mg/mL)	Adulto		Ovo		<sup>1</sup> PRC
	<sup>1</sup> Longevidade (dias)	Fecundidade	Período de Incubação (dias)	Viabilidade (%)	
0,0	12,25 $\pm$ 1,22	152,50 $\pm$ 4,81	2,93 $\pm$ 0,05	95,67 $\pm$ 1,33	736,19 $\pm$ 127,75
0,2	14,25 $\pm$ 1,77	147,13 $\pm$ 16,98	2,99 $\pm$ 0,01	93,33 $\pm$ 0,88	537,43 $\pm$ 158,10
0,4	11,00 $\pm$ 1,70	154,25 $\pm$ 19,36	2,76 $\pm$ 0,20	93,67 $\pm$ 2,85	763,05 $\pm$ 288,39
0,8	14,13 $\pm$ 1,30	150,50 $\pm$ 8,34	2,94 $\pm$ 0,03	93,33 $\pm$ 0,33	769,57 $\pm$ 241,10
1,6	14,13 $\pm$ 1,52	129,50 $\pm$ 10,19	2,84 $\pm$ 0,14	90,33 $\pm$ 1,86	397,62 $\pm$ 184,29
3,2	10,00 $\pm$ 1,34	124,75 $\pm$ 12,74	2,84 $\pm$ 0,13	97,00 $\pm$ 0,58	717,57 $\pm$ 186,22
F	1,72 <sup>NS</sup>	0,95 <sup>NS</sup>	0,55 <sup>NS</sup>	2,16 <sup>NS</sup>	1,53 <sup>NS</sup>
DMS	0,5414	55,0733	0,5495	7,3983	2,8754
CV (%)	9,31	25,79	6,94	2,87	39,93

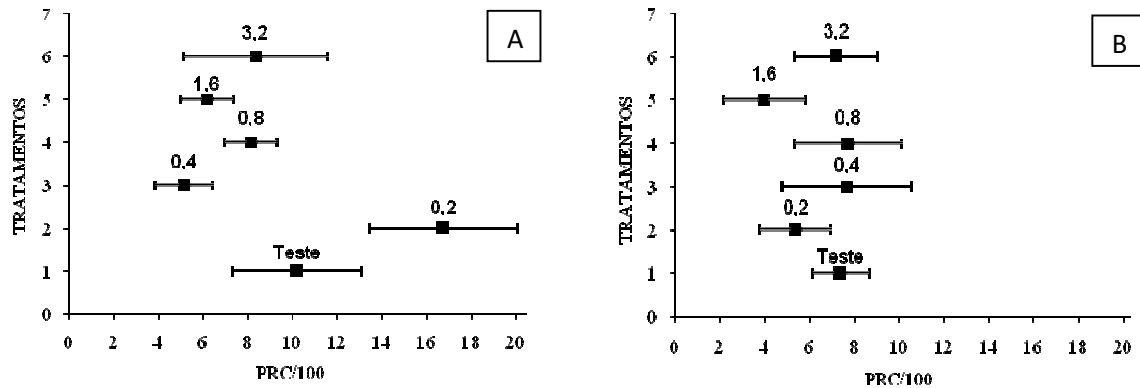
Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). \*Doses de sinigrina. <sup>1</sup>A análise foi realizada com dados transformados em Log (x+1).

Pode ser observado na análise do PRC dos tratamentos na couve, uma tendência de separação entre a dose 0,2mg/mL de sinigrina e as demais (Figura 8A), indicando maior potencial de reprodução das lagartas alimentadas com couve e sinigrina aplicada em baixas concentrações. Além disso, os tratamentos com as maiores concentrações de sinigrina apresentaram índices PRCs menores que a testemunha.

Nas doses em brócolis, a concentração 1,6mg/mL, seguido por 0,2mg/mL de sinigrina, distanciaram-se dos demais apresentando os menores valores absolutos para PRC (Figura 8B), porém, esses dados não foram diferentes significativamente pela análise de variância (Tabela 4), mostrando que a sinigrina aplicada nas folhas de



brócolis e oferecidas para lagartas de *P. xylostella* nas fases iniciais de seu desenvolvimento, não influenciaram na capacidade reprodutiva desse inseto.



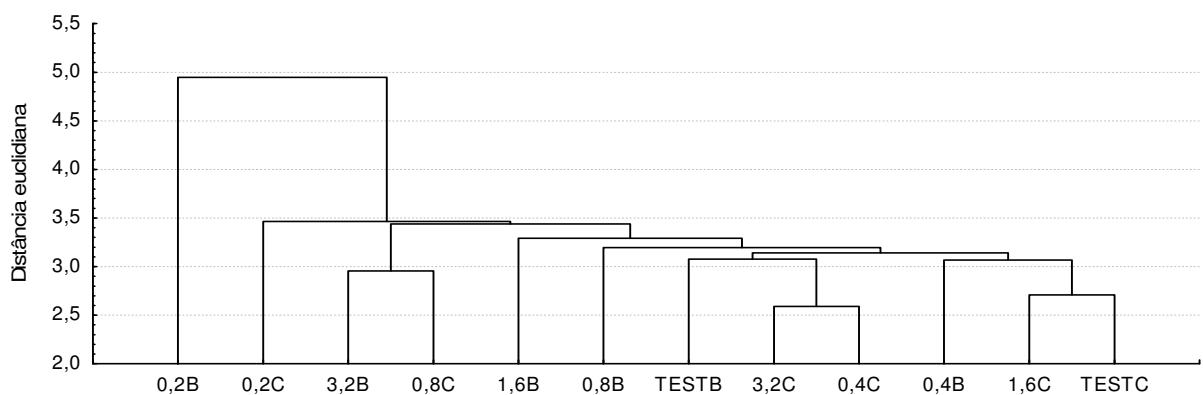
**Figura 8.** Potencial reprodutivo corrigido (PRC) de *Plutella xylostella*, alimentada com diferentes concentrações (tratamentos) de sinigrina aplicada em folhas de couve (A) e brócolis (B); valores PRC transformados por PRC/100.

Pela análise exploratória dos dados, a estatística multivariada pelo método de “cluster”, (“Single Linkage”), observou-se que a dose 0,2mg/mL de sinigrina em ambas as variedades apresentou os maiores contrastes, não formando nenhum grupo (Figura 9). As demais doses com concentrações mais altas não seguiram tendência crescente, mas ficaram próximos às testemunhas. Esse dado pôde ser observado também na análise dos componentes principais, onde é possível verificar claramente os maiores contrastes nos tratamentos 0,2mg/mL de sinigrina em ambas as espécies (Figura 10). A dose 0,2mg/mL de sinigrina em couve apresentou as maiores correlações com as características viabilidade de ovo (-0,91) e PRC (-0,71); 0,2mg/mL e 1,6mg/mL de sinigrina em brócolis estão correlacionados com a longevidade (0,75); o eixo componente principal 1 (CP1) retém mais informações, ou seja, é responsável por 25,85% da variabilidade contida nas variáveis originais.

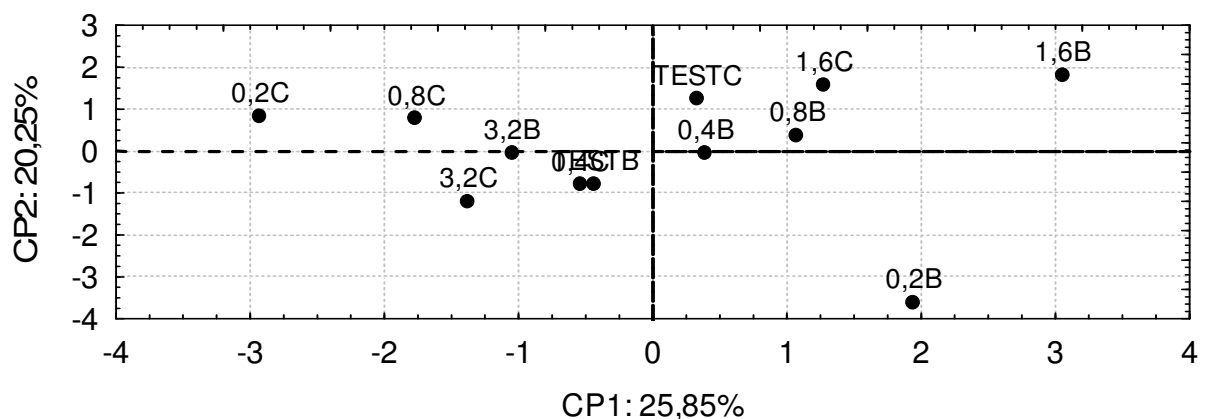
Para o eixo do componente principal 2 (CP2), 0,2mg/mL de sinigrina em brócolis apresentou maiores correlações com o peso pupal (-0,70) e com o período e incubação (-0,73). Este eixo é responsável por 20,25% da variabilidade contida nas variáveis originais, e junto com o CP1 retém mais de 46% das informações originais (Figura 10),

sendo que, mesmo baixos, refletem características importantes dessa interação, como o isolamento das menores concentrações de sinigrina (Figura 9) e o distanciamento com os demais tratamentos, especialmente separando os tratamentos com couve e brócolis (Figura 10).

As características apresentadas com as maiores correlações foram as que mais influenciaram para que os tratamentos 0,2C, 1,6B e 0,2B se distinguissem dos demais (Figura 10).



**Figura 9.** Dendrograma dos grupos resultantes da análise multivariada de agrupamento “cluster analysis” pelo método “Single Linkage” dos tratamentos com sinigrina em folhas de couve (TESTC, 0,2C, 0,4C, 0,8C, 1,6C, 3,2C) e brócolis (TESTB, 0,2B, 0,4B, 0,8B, 1,6B, 3,2B).



**Figura 10.** Distribuição dos tratamentos segundo a análise dos componentes principais dos tratamentos com sinigrina em folhas de couve (TESTC, 0,2C, 0,4C, 0,8C, 1,6C, 3,2C) e brócolis (TESTB, 0,2B, 0,4B, 0,8B, 1,6B, 3,2B).

Na análise confirmatória dos dados, alguns parâmetros estudados pelo teste de Tukey não apresentaram diferenças significativas e não seguiram uma tendência com o aumento das concentrações. O PRC foi determinante apenas para os tratamentos com couve, indicando boa capacidade reprodutiva com a menor concentração de sinigrina. Com a análise exploratória dos dados (multivariada), a análise de agrupamento e os componentes principais, ficou evidenciado que a menor concentração de sinigrina, em ambas variedades, beneficiou o desenvolvimento de *P. xylostella*.

As diferenças entre as cultivares testadas podem estar relacionadas com as diferentes quantidade de sinigrina presentes naturalmente nas folhas de cada espécie, por isso não podem ser comparadas. Segundo THULER (2006), não foi encontrada sinigrina em várias espécies de brássicas testadas, incluindo a couve-manteiga 'Da Geórgia' avaliada nesse trabalho, enquanto que, RANGKADILOK et al. (2002) encontraram grande variação na concentração de sinigrina entre as espécies de brássicas testadas por eles (*B. oleraceae* – repolho, couve-flor, brócolis, brócolis chinês, Kalibrini e couve-de-bruxelas, *B. nigra*, *B. juncea* - mostarda, *B. rapa* e *B. napus*). Adicionalmente, a baixa concentração de sinigrina foi observada em brócolis (0,02-0,04  $\mu\text{mol g}^{-1}$ ), comparada a altas concentrações encontradas em variedades de repolho e couve-flor (23,79 e 23,69  $\mu\text{mol g}^{-1}$ , respectivamente). A ausência desta substância em couve, comparada à concentração presente naturalmente em brócolis pode ter sido fundamental para as diferenças nos resultados obtidos neste trabalho.

#### 4. CONCLUSÃO

Baixa concentração de sinigrina, em couve e em brócolis, não prejudica o desenvolvimento de *P. xylostella*, porém altas afetam o parâmetro viabilidade.

## 5. REFERÊNCIAS

BARROS, R. **Efeito de cultivares de repolho *Brassica oleracea var. capitata* (L.) na biologia da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L., 1758), e do parasitóide *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879.** 1998. 98f. Tese (Doutorado em Entomologia) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1998.

BARROS, R.; VENDRAMIM, J. D. Efeito de cultivares de repolho, utilizadas para criação de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), no desenvolvimento de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Anais Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 28, n. 3, p. 469-476, 1999.

BODNARYK, R. P. Will low-glucosinolate cultivar of the mustards *Brassica juncea* and *Sinapis alba* be vulnerable to insect pests? **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 77, n. 2, p. 283-287, 1997.

CAMPOS, L. C. A.; CASTELO BRANCO, M.; JUNQUEIRA, A. M. R. Suscetibilidade de três populações de traça-das-crucíferas a *Bacillus thuringiensis*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 15, n.1, p. 40-42, 1997.

CASTELO BRANCO, M.; FRANÇA, F. H. Traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). In: VILELA, E. F.; ZUCCHI, R. A.; CANTOR, F. (Eds.). **Pragas introduzidas no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos, p. 85-89, 2001.

COLE, R. A. The relative importance of glucosinolates and amino acids to the development of two aphid pests *Brevicoryne brassicae* and *Myzus persicae* on wild and cultivated brassica species. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Netherlands, v. 85, n. 2, p. 121-133, 1997.

EIGENBRODE, S. D.; SHELTON, A. M.; DICKSON, M. H. Two types of resistance to the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) in cabbage. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 19, n.4, p. 1086-1090, 1990.

JACKSON, J. E. **A user's guide to principal components**. New York: Wiley, 1991. 569p.

OLSSON, K.; JONASSON, T. Leaf feeding by caterpillars on white cabbage cultivars with different 2-propenyl glucosinolate (sinigrin) content. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 118, n. 2, p. 197-202, 1994.

RANGKADILOK, N.; NICOLAS, M. E.; BENNETT, R. N.; PREMIER, R. R.; EAGLING, D. R.; TAYLOR, P. W. J. Determination of sinigrina and glucoraphanin in Brassica species using a simple extraction method combined with ion-pair HPLC analysis. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 96, n. 1, p. 27-41, 2002.

REICHELT, M.; BROWN, P. D.; SCHNEIDER, B.; OLDHAM, N. J.; STAUBER, E.; TOKUHISA, J.; KLIEBENSTEIN, D. J.; MITCHELL-OLDS, T.; GERSHENZON, J. Benzoic acid glucosinolate esters and other glucosinolatos from *Arabidopsis thaliana*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 59, n. 6, p. 663-671, 2002.

SNEATH, P. H. A.; SOKAL, R. R. **Numerical taxonomy**. San Francisco: W. H. Freeman, 1973. 573p.

SPENCER, J. L. Waxes enhance *Plutella xylostella* oviposition in response to sinigrina and cabbage homogenates. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Netherlands, v. 81, n. 2, p.165-173, 1996.

SPENCER, J. L.; PILLAI, S.; BERNAYS, E. A. Synergism in the oviposition behavior of *Plutella xylostella*: sinigrina and wax compounds. **Journal of Insect Behavior**, New York, v. 12, n. 4, p. 483-500, 1999.

THULER, R.T. ***Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutelidae): estratégias para o manejo integrado**. 2006. 83f. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola), Universidade Estadual Paulista, Unesp, Jaboticabal, 2006.

THULER, R. T.; DE BORTOLI, S. A.; HOFFMANN-CAMPO, C. B. Classificação de cultivares de brássicas com relação à resistência à traça-das-crucíferas e à presença de glucosinolatos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 4, p. 467-474, 2007.

TORRES, A. L. **Efeito de cultivares de repolho e extratos aquosos vegetais na biologia de *Plutella xylostella* (L.) e no parasitóide *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov)**. 2004. 88f. Tese (Doutorado em Entomologia) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2004.

ULMER, B. C.; GILLOTT, C.; WOODS, D.; ERLANDSON, M. Diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.), feeding and oviposition preferences on glossy and waxy *Brassica rapa* (L.) lines. **Crop Protection**, Guildford, v. 21, n. 4, p. 327-331, 2002.

ZILAHY-BALOGH, G. M. G.; ANGERILLI, N. P. D.; BORDEN, J. H.; MERAY, M.; TULUNG, M.; SEMBEL, D. Regional differences in pheromone response of diamondback moth in Indonesia. **International Journal of Pest Management**, London, v. 41, n. 4, p. 201-204, 1995.

## **CAPÍTULO 3 – CONSUMO FOLIAR DE LAGARTAS DE *Plutella xylostella* (L., 1758) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) EM COUVE E BRÓCOLIS TRATADOS COM SINIGRINA**

### **1. INTRODUÇÃO**

A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lep.: Plutellidae), é uma praga especialista encontrada em mais de 40 espécies de brássicas no mundo, causando danos e reduzindo significativamente a produção (MARAZZI et al., 2004).

O método de controle mais utilizado para controle desta praga é o químico, no entanto, causa o aparecimento gradativo de populações da traça-das-crucíferas resistentes aos produtos comerciais usualmente empregados (CASTELO BRANCO & GATEHOUSE, 1997). Desta maneira, esses problemas têm sinalizado para a utilização de técnicas alternativas como o uso de substâncias naturais das plantas, devido a sua seletividade, baixa toxicidade e eficiência contra várias espécies de insetos-praga (SCHMUTTERER, 1987; SAXENA, 1989; NEVES & NOGUEIRA, 1996).

Os glucosinolatos são um grupo de químicos secundários de plantas característicos da família Brassicaceae (BARKER et al., 2006) que afetam positivamente a saúde humana, reduzem ou estimulam o ataque de insetos herbívoros e inibem o crescimento de nematóides, fungos e outros microrganismos e o crescimento de plantas vizinhas. Além disso, os glucosinolatos promovem uma proteção química contra certos cânceres humanos. A sinigrina (2-propenylglucosinolate) é pertencente ao grupo dos glucosinolatos e ocorre naturalmente em plantas de brássicas, possuindo também propriedades anti-carcinogênicas (VELASCO et al., 2007).

É sabido que os glucosinolatos participam como estimulantes da alimentação e na seleção da planta hospedeira pelo inseto (SPENCER et al., 1999). Entretanto, há ausência de informações sobre o comportamento dessas substâncias no desenvolvimento dos insetos, requerendo estudos sobre a influência dos metabólitos

secundários das plantas nos aspectos biológicos de pragas importantes, como a traça-das-crucíferas.

GUPTA & THORSTEINSON (1960) demonstraram que constituintes de plantas hospedeiras afetam a alimentação larval e a oviposição de *P. xylostella*. Mais tarde, estudos confirmaram que o reconhecimento do hospedeiro e a oviposição pelos insetos também dependem de glucosinolatos. Depois de encontrarem uma planta hospedeira, estímulos de contato podem influenciar a oviposição. No caso de *P. xylostella*, glucosinolatos individuais, inclusive sinigrina e glucobrassicina, desempenham papel importante no reconhecimento do hospedeiro e estimulando a oviposição (REED et al., 1989; RENWICK, 2002), como também na alimentação larval, como reportado por VAN LOON et al. (2002).

O consumo e a utilização de alimento constituem condições primordiais para o crescimento, desenvolvimento e reprodução dos insetos, já que a quantidade e a qualidade do alimento utilizado na fase larval afetam o comportamento dos adultos (SOUZA et al., 2001). De acordo com (LARA, 1992), a quantidade e a qualidade do alimento interferem diretamente no ciclo biológico dos insetos.

A perda da área foliar afeta os componentes do rendimento, em decorrência das alterações provocadas na atividade fisiológica das plantas, refletindo-se na produtividade da planta (MOURA, 1999).

A medição do consumo foliar, causado por insetos fitófagos, é uma metodologia básica em várias áreas da Entomologia, como estudos sobre a resistência de plantas a insetos, entomologia econômica e em ecologia nutricional (PANIZZI & PARRA, 1991).

Diante disso, o objetivo desse trabalho foi determinar o consumo foliar em couve e brócolis, com diferentes doses de sinigrina aplicada na superfície, por lagartas de *P. xylostella* através de medições de área foliar, peso fresco e seco, bem como por escala visual de notas aplicadas à porcentagem de redução de área foliar.



## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos (LBCI), da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, da Universidade Estadual Paulista (FCAV-UNESP), Jaboticabal, SP, em sala climatizada a  $25\pm 1^{\circ}$  C, umidade relativa de  $70\pm 10\%$  e fotofase de 12 horas.

Utilizou-se lagartas de segundo ínstar de *P. xylostella*, oriundas da criação-estoque do laboratório, uma vez que, lagartas de primeiro ínstar têm hábito minador neste estágio, e, portanto, não ingeriria a sinigrina aplicada na superfície das folhas.

Foram utilizadas folhas de duas variedades de brássicas, a primeira de couve-manteiga (*Brassica oleracea* var. *acephala* DC, 1821) 'Da Geórgia' (Top Seed – Agristar), na qual não foi encontrada sinigrina em estudos anteriores (THULER et al., 2007) e brócolis (*Brassica oleracea* var. *Italica* Plenck, 1794) 'Ramoso Piracicaba Precoce' (Sementes Feltrin), que, conforme a literatura, possui sinigrina naturalmente nas folhas ( $0,02\text{--}0,04\ \mu\text{mol g}^{-1}$ ) (RANGKADILOK et al., 2002a,b).

A sinigrina (Sigma) foi aplicada na superfície foliar nas concentrações 0,2; 0,4; 0,8; 1,6; 3,2 mg/mL em solução 5% de Tween 20® e, enquanto na testemunha aplicou-se apenas a solução 5% de Tween 20®.

Para alíquota do peso seco, 50 discos de 2,2 cm de diâmetro foram extraídos de folhas, com o auxílio de um vazador metálico. Estes discos das duas variedades foram pesados (frescos) e em seguida foram individualizados em sacos de papel ("tipo pipoca") e levadas à estufa a  $65\pm 5^{\circ}$ C durante 48 horas. Logo após, foram pesados novamente, para estimar o peso seco, a ser correlacionado com o peso fresco por meio de equações obtidas pela regressão linear.

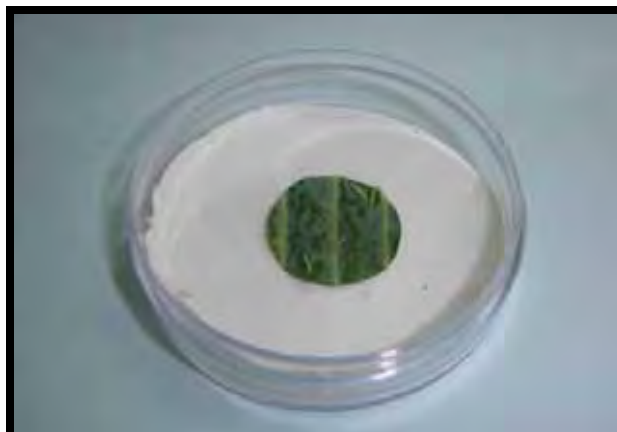
Para o estudo, foram medidos e pesados 120 discos de folhas das duas cultivares (2,2 cm de diâmetros) e para determinação da área foliar e do peso fresco, utilizou-se aparelho de aferição da área foliar LI3000 e balança analítica, respectivamente. Os discos foram então submetidos à aplicação de sinigrina nas referidas concentrações.

Para cada concentração (tratamentos) de sinigrina utilizou-se 20 repetições, cada uma constando de uma placa de Petri (6 cm de diâmetro) contendo um disco de folha da cultivar, onde foi aplicado sinigrina, em cada concentração, com auxílio de um pincel até o molhamento completo da superfície foliar ( $5,0 \mu\text{L}/\text{face}$  do disco) nos dois lados. O disco foi colocado sobre papel filtro levemente umedecido com água destilada. Sobre os discos foliares foram colocadas 10 lagartas de segundo ínstar de *P. xylostella*, e posteriormente, as placas foram vedadas com filme plástico para manter a umidade e evitar a fuga dos insetos (Figura 1), assim mantidas por 26 horas, tempo suficiente para discriminação do consumo entre os tratamentos, que foi determinado em teste preliminar.

Após esse período, as lagartas foram retiradas e os discos, limpos de restos de excrementos, foram pesados e submetidos à análise da área foliar. Como o equipamento de aferição da área foliar (LI3000) não contabilizava a área da película que ficava na folha na parte consumida, com auxílio de estilete, essas películas foram extraídas, fazendo-se nova medição da área foliar restante. Para determinação da área consumida, efetuou-se a subtração da área restante pela área total medida no início do teste.

Esses discos foram individualizados em sacos de papel (“tipo pipoca”) e então levados à estufa a  $65 \pm 5^\circ\text{C}$  para secagem durante 48 horas. Então foram novamente pesados, para determinação do peso seco após a alimentação. Para determinação do peso seco consumido, realizou-se uma subtração do peso seco restante pelo peso seco total estimado obtido pela equação obtida da regressão linear da alíquota.

Os dados encontrados foram transformados em  $(x + 0,5)^{1/2}$  e realizada a análise de variância pelo teste F, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey e submetidas à regressão polinomial, determinando-se as curvas mais ajustadas e os respectivos coeficientes de determinação ( $R^2$ ). Assim, verificou-se a influência das doses de sinigrina no consumo foliar entre os tratamentos. Além disso, o consumo foliar também foi avaliado atribuindo-se notas, utilizando-se a escala visual, com notas de 0 – 5 (Tabela 1), sendo que os métodos utilizados para medir o consumo foliar foram correlacionados através da análise de regressão linear.



**Figura 1.** Arena contendo um disco de folha com sinigrina e lagartas de *Plutella xylostella* utilizada como repetição.

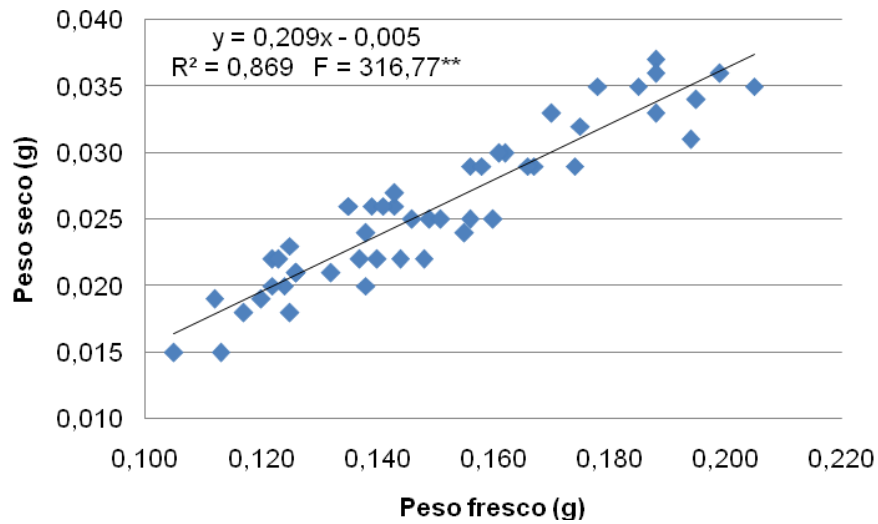
**Tabela 1.** Escala visual estabelecida para atribuição de notas às desfolhas provocados nos discos foliares de couve e brócolis por lagartas de *Plutella xylostella*.

Desfolha (%)	Nota
nenhuma	0
1 a 10%	1
11 a 25%	2
26 a 50%	3
51 a 75%	4
76 a 100%	5

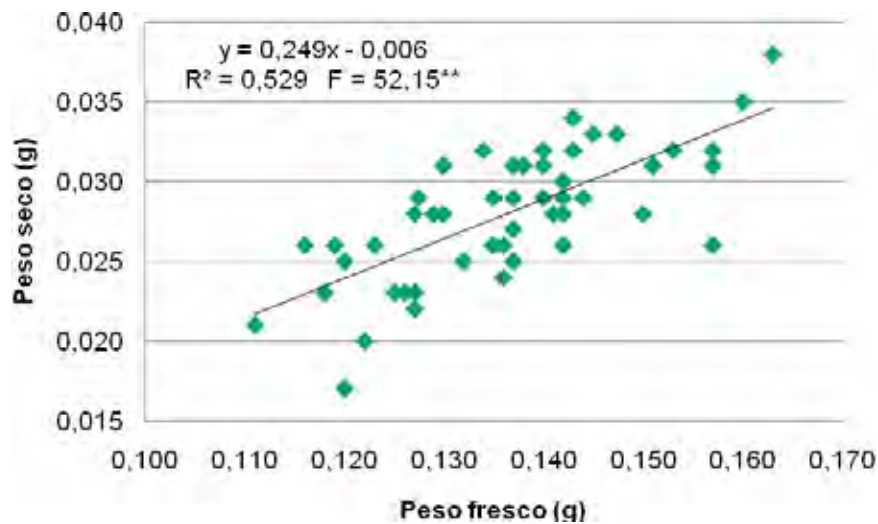
### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A alíquota do peso seco foi significativa na regressão linear para couve e para brócolis, indicando que pela equação se pode estimar o peso seco total (y), através do peso fresco medido (x) (Figuras 2 e 3). O  $R^2$  em couve foi de 0,869 e em brócolis 0,529, sendo este um pouco baixo devido ao grande número de pontos estimados; porém, o F

foi altamente significativo, com 99% de chance de acerto, indicando a importância e veracidade da equação.



**Figura 2.** Curva de regressão obtida para as alíquotas de pesos fresco e seco de discos de discos de folhas de couve.



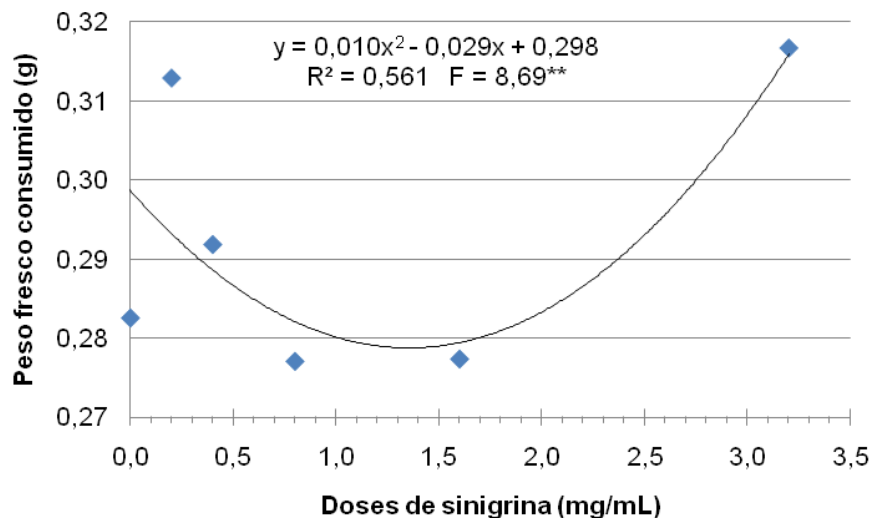
**Figura 3.** Curva de regressão obtida para as alíquotas de pesos fresco e seco de discos de discos de folhas de brócolis.

O peso fresco consumido em couve apresentou maiores índices nas doses extremas 0,2 (0,0498g) e 3,2mg/mL (0,0516g) de sinigrina, diferindo significativamente das doses intermediárias (0,8 e 1,6 mg/mL), ajustando-se ao modelo quadrático estimado através da regressão (Tabela 2 e Figura 4). VAN LOON et al. (2002) encontraram correlação negativa na resposta comportamental entre doses de sinigrina e intensidade de alimentação. O mesmo não aconteceu nos tratamentos com folhas de brócolis, onde os maiores consumos foram verificados nas doses intermediárias de sinigrina 0,8 (0,0419g) e 1,6mg/mL (0,0435g), diferindo dos tratamentos com a menor concentração de sinigrina (0,2 e 0,4 mg/mL) (Tabela 2), resultando em uma parábola decrescente no modelo quadrático da regressão, contrária aos tratamentos com couve (crescente), indicando, nesse caso, que as baixas concentrações de sinigrina (0,2 e 0,4mg/mL) prejudicam o consumo foliar, sendo até menores que o tratamento controle (0,0mg/mL) (Figura 5).

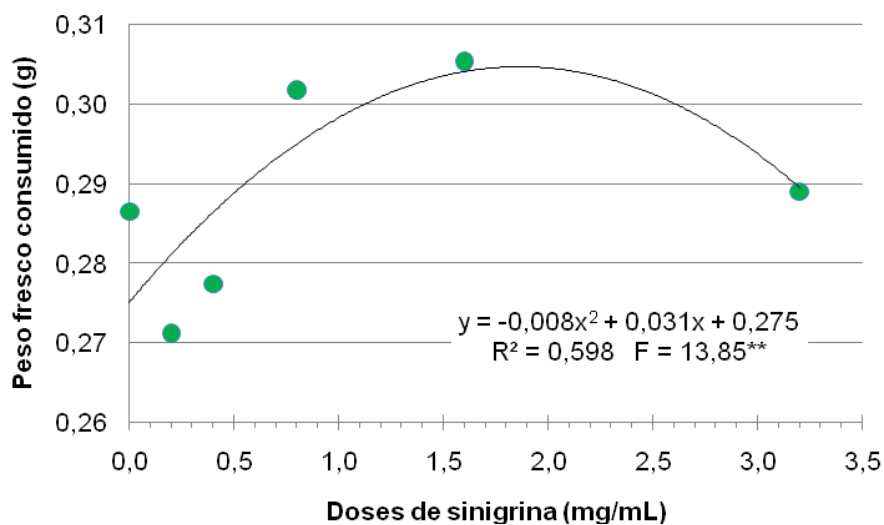
**Tabela 2.** Peso fresco (g), peso seco (g) e área foliar (cm<sup>2</sup>) consumidos e notas em função dos danos provocados por lagartas de *Plutella xylostella* nas diferentes doses de sinigrina (mg/mL).

Trat.* (mg/mL)	Peso Consumido <sup>1</sup>				Área Foliar Consumida <sup>1</sup>		Notas	
	Fresco		Seco		Couve	Brócolis	Couve	Brócolis
	Couve	Brócolis	Couve	Brócolis				
<b>0,0</b>	0,0311ab	0,0325ab	0,0061bc	0,0112ab	0,3680b	0,9205ab	2,65b	3,35ab
<b>0,2</b>	0,0498a	0,0244b	0,0080abc	0,0103b	0,4555ab	0,4480c	2,95ab	2,65c
<b>0,4</b>	0,0364ab	0,0274b	0,0085ab	0,0103b	0,5620ab	0,4850bc	2,80ab	3,00bc
<b>0,8</b>	0,0285b	0,0419a	0,0056c	0,0118ab	0,4120b	1,1060a	2,60b	3,60a
<b>1,6</b>	0,0280b	0,0435a	0,0065bc	0,0135a	0,3000b	1,2725a	2,85ab	3,55ab
<b>3,2</b>	0,0516a	0,0341ab	0,0102a	0,0127ab	0,7895a	0,5705bc	3,30a	3,35ab
<b>F</b>	4,17**	6,02**	7,54**	3,12*	4,71**	8,89**	3,00*	6,58**
<b>DMS</b>	0,0145	0,0087	0,0054	0,0021	0,1537	0,2027	0,5969	0,5790
<b>CV (%)</b>	2,15	1,30	2,47	0,32	17,19	19,52	22,76	19,42

\*Doses de sinigrina. <sup>1</sup>A análise foi realizada com dados transformados em  $(x+0,05)^{1/2}$ .



**Figura 4.** Curva ajustada para regressão polinomial entre o peso fresco consumido de folhas de couve por lagartas de *Plutella xylostella* e doses de sinigrina.



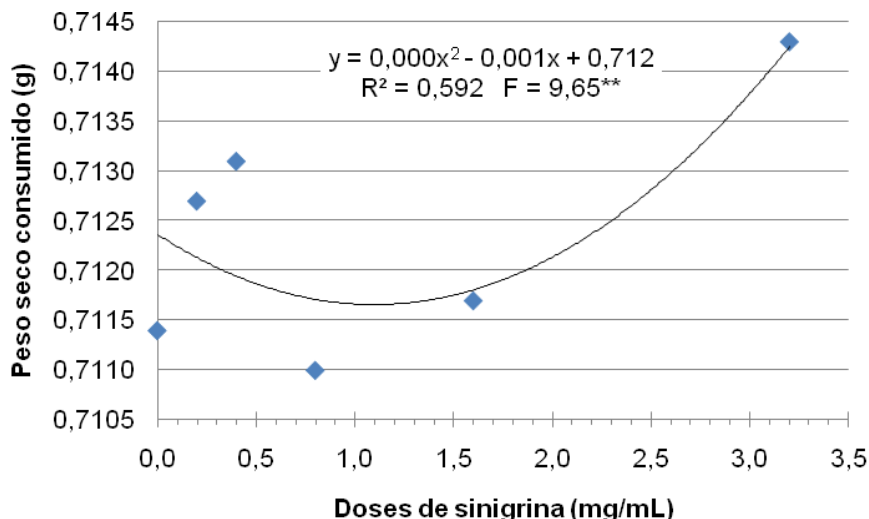
**Figura 5.** Curva ajustada para regressão polinomial entre o peso fresco consumido de folhas de brócolis por lagartas de *Plutella xylostella* e doses de sinigrina.

As medidas de peso seco em couve seguiram o mesmo padrão do peso fresco, sendo maior o consumo nos extremos 0,2 (0,0080g), 0,4 (0,0085g) e 3,2mg/mL

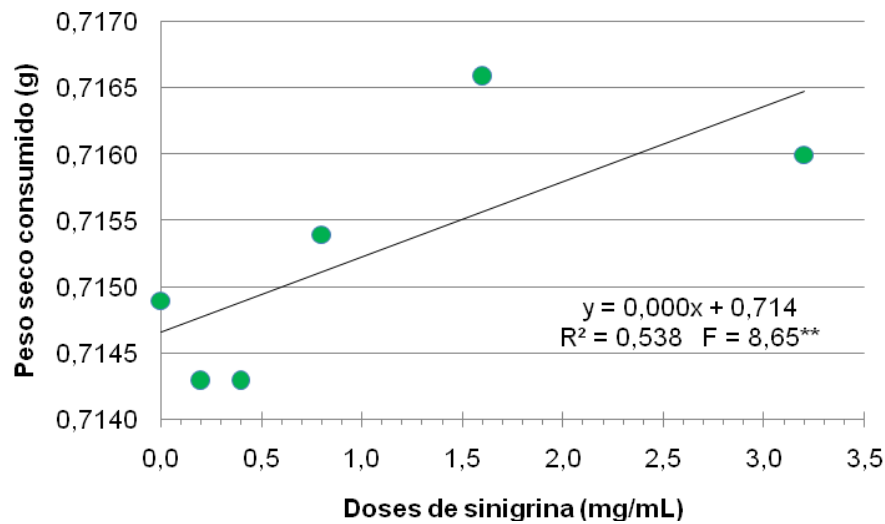
(0,0102g) de sinigrina (Tabela 2), ajustando-se a regressão polinomial de 2º grau com parábola crescente (Figura 6).

O mesmo não foi observado neste parâmetro para os tratamentos com folhas de brócolis, já que, como visto anteriormente no peso fresco, o maior consumo foi no tratamento com dose intermediária de sinigrina, 1,6mg/mL, apresentando 0,0135g de peso seco médio consumido pelas lagartas de *P. xylostella*, significativamente diferente das doses menores (0,2 e 0,4mg/mL) (Tabela 2). A curva mais ajustada para esta regressão foi a linear reta crescente. Neste caso, novamente as doses baixas de sinigrina, 0,2 e 0,4mg/mL, prejudicaram o consumo, sendo menor que o tratamento controle, sem aplicação de sinigrina (Figura 7).

Esses resultados são contrastantes com publicações anteriores comparando diferentes espécies de brássicas em níveis de glucosinolatos (PIVNICK et al., 1994; BODNARYK, 1997). Esses autores concluíram que espécies como *P. xylostella* são insensíveis a sinigrina e sugeriram que o “status” de praga em baixos níveis de glucosinolatos permaneceria inalterado.



**Figura 6.** Curva ajustada para regressão polinomial entre o peso seco consumido de folhas de couve por lagartas de *Plutella xylostella* e doses de sinigrina.



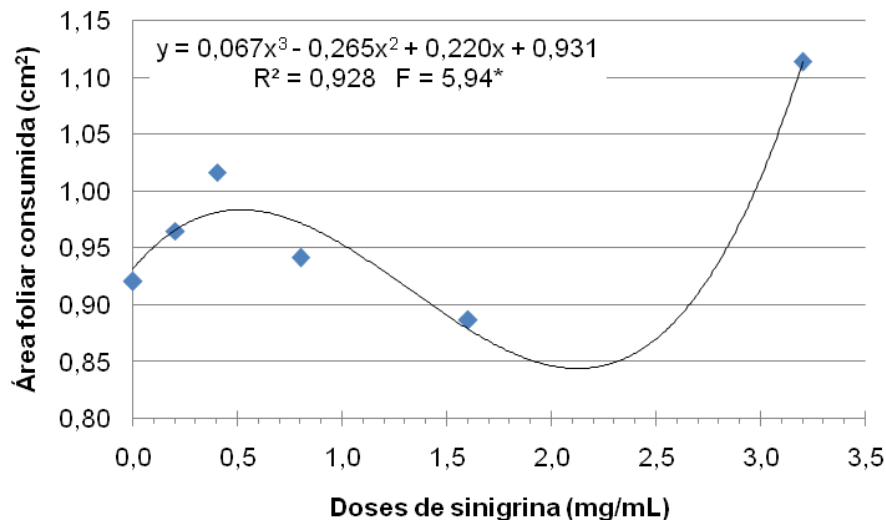
**Figura 7.** Curva ajustada para regressão polinomial entre o peso fresco consumido de folhas de brócolis por lagartas de *Plutella xylostella* e doses de sinigrina.

A área foliar consumida em folhas de couve por lagartas de *P. xylostella* foi maior no tratamento com a dose mais elevada de sinigrina, 3,2mg/mL, sendo 0,7895cm<sup>2</sup> a área consumida, diferente dos tratamentos intermediários 0,8 e 1,6mg/mL que apresentaram menores consumos (0,4120 e 0,300 cm<sup>2</sup>), respectivamente (Tabela 2). A curva mais ajustada para essa regressão foi a polinomial de 3º grau, em que o tratamento controle apresenta valores médios de consumo aumentando levemente nas menores doses de sinigrina e diminuindo logo em seguida nas doses intermediárias, e apresentando o pico de consumo na dose mais alta (Figura 8). Esse gráfico do ponto de vista estatístico está correto, embora na biologia ele não explique corretamente o que aconteceu com os insetos.

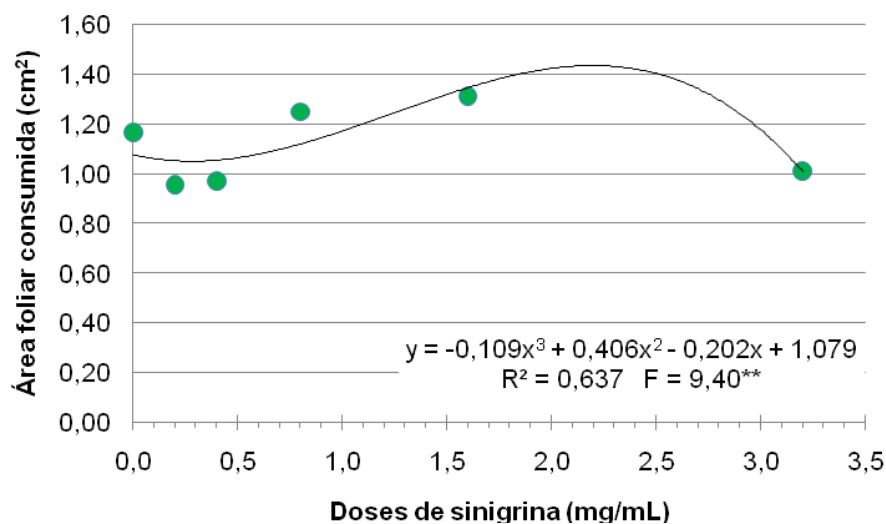
Nos tratamentos com folhas de brócolis, os resultados seguem o mesmo padrão visto nos demais parâmetros, sempre contrários aos apresentados com folhas de couve. Os maiores consumos foram nas doses intermediárias de sinigrina 0,8 e 1,6mg/mL, sendo 1,1060cm<sup>2</sup> e 1,2725cm<sup>2</sup>, respectivamente, o consumo foliar nessas doses, semelhantes à testemunha e diferentes das demais doses (Tabela 2). Na análise de regressão, a curva melhor ajustada para esse parâmetro foi o modelo cúbico (Figura 9), passando pela mesma indagação da Figura 8, quanto a visão estatística e biológica.



Pode ser observado também que as lagartas alimentadas com folhas de brócolis e sinigrina apresentaram maior consumo foliare do que aquelas tratadas com folhas de couve e sinigrina, indicando assim uma possível preferência por aquela variedade (Tabela 2).



**Figura 8.** Curva ajustada para regressão polinomial entre a área foliar consumida de folhas de couve por lagartas de *Plutella xylostella* e doses de sinigrina.



**Figura 9.** Curva ajustada para regressão polinomial entre a área foliar consumida de folhas de brócolis por lagartas de *Plutella xylostella* e doses de sinigrina.

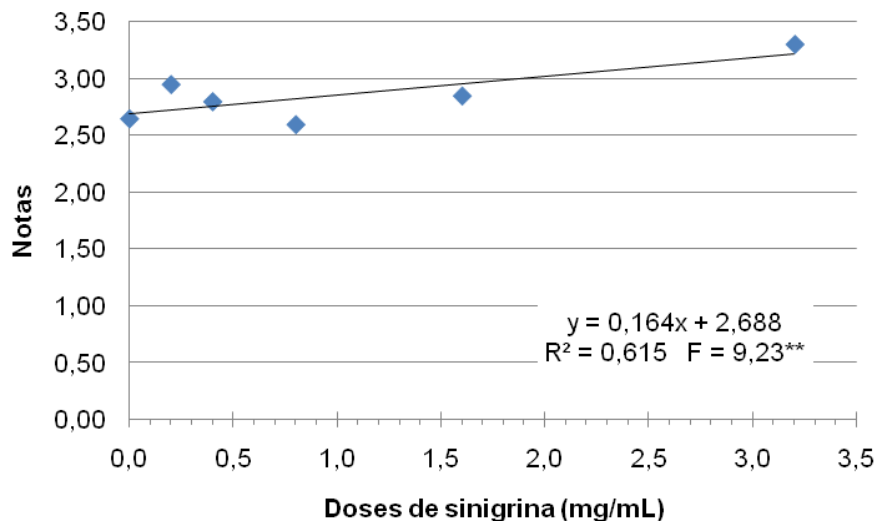
As notas estabelecidas em função dos danos provocados por lagartas de *P. xylostella*, exemplificadas na Figura 10, foram maiores nos tratamentos com folhas de brócolis do que em couve. Confirmando os parâmetros analisados, com o brócolis sendo mais consumido pelas lagartas (Tabela 2).

Em couve, a curva que mais se ajustou aos dados na regressão foi a linear, enquanto que em brócolis, foi a quadrática. Os valores das notas também seguem o padrão de que em couve as doses de sinigrina extremas apresentaram maiores danos, enquanto que em folhas de brócolis, os valores intermediários foram os mais danificados (Figuras 11 e 12). O  $R^2$  em brócolis, apesar de baixo 0,346, foi significativo ( $F=6,28^*$ ), respondendo a mais que 6 vezes o valor do desvio da equação (2,966), além disso, do ponto de vista biológico, acredita-se que este gráfico seria uma reta, mas devido a algum ponto fora da curva ('outlier'), a regressão quadrática também foi significativa (Figura 12)..

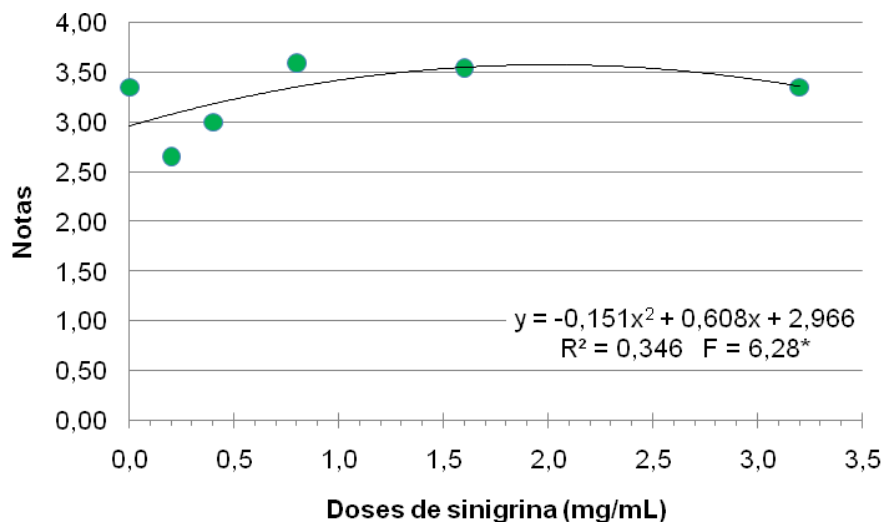
Resultados semelhantes foram encontrados por THORSTEINSON (1953), que testou a resposta larval de *P. xylostella* a três glucosinolatos (sinigrina, sinalbina e glucocheirolina), metabólitos secundários característicos da família Brassicaceae. Esse autor concluiu que os glucosinolatos estimulam fortemente a alimentação de *P. xylostella* no quarto ínstar larval em dietas artificiais e em 18 plantas não hospedeiras, sendo elas completamente aceitas após a aplicação desses compostos.



**Figura 10.** Danos provocados por lagartas de *Plutella xylostella* em folhas de variedades de brássicas com aplicação de sinigrina.



**Figura 11.** Curva ajustada para regressão polinomial entre as notas em função dos danos nas folhas de couve provocados por lagartas de *Plutella xylostella* e doses de sinigrina.



**Figura 12.** Curva ajustada para regressão polinomial entre as notas em função dos danos nas folhas de brócolis provocados por lagartas de *Plutella xylostella* e doses de sinigrina.

A correlação dos métodos utilizados para medir o consumo foliar apresentou significância em couve para peso fresco e nota ( $R=0,84^*$ ), peso seco com área foliar ( $R=0,87^*$ ) e nota ( $R=0,86^*$ ). Em brócolis, os métodos com correlação significativa foram peso fresco com peso seco ( $R=0,87^*$ ), área foliar ( $0,93^{**}$ ) e nota ( $R=0,94^{**}$ ); área foliar e nota ( $R=0,84^*$ ) (Tabela 3). Esses resultados mostram que as correlações entre a maior parte dos métodos foram significativas, indicando alta similaridade entre os métodos utilizados para discriminar o consumo foliar. Desta forma, a utilização de métodos mais práticos como medições de peso fresco e nota visual para o dano tornam-se mais eficientes.

**Tabela 3.** Coeficiente de correlação (R) e teste T para R ( $p \leq 0,05$ ) entre os métodos utilizados para avaliar o consumo foliar e o dano provocado pelas lagartas de *Plutella xylostella* em folhas de couve e brócolis com sinigrina.

	Couve			Brócolis		
	Peso seco	Área foliar	Nota	Peso seco	Área foliar	Nota
<b>Peso fresco</b>	0,77 <sup>n.s.</sup>	0,76 <sup>n.s.</sup>	0,84 <sup>*</sup>	0,87 <sup>*</sup>	0,93 <sup>**</sup>	0,94 <sup>**</sup>
<b>Peso seco</b>	-	0,87 <sup>*</sup>	0,86 <sup>*</sup>	-	0,68 <sup>n.s.</sup>	0,78 <sup>n.s.</sup>
<b>Área foliar</b>	-	-	0,78 <sup>n.s.</sup>	-	-	0,84 <sup>*</sup>

As respostas encontradas para os pesos frescos, secos, na área foliar consumida e conseqüentemente, nas notas de danos, seguiram a mesma tendência. As doses extremas, 0,2, 0,4 e 3,2mg/mL de sinigrina apresentaram maior o consumo de folhas de couve e menor em folhas de brócolis, sendo que as lagartas nos tratamentos com brócolis preferiram doses intermediárias, como 0,8 e 1,6mg/mL. Além disso, observou-se, também, em praticamente todos os tratamentos, que o consumo foi maior pelas lagartas alimentadas com folhas de brócolis. Essa diferença nos dados obtidos para os tratamentos com folhas de couve e de brócolis deve estar ligada ao teor de sinigrina encontrado naturalmente nas folhas de brócolis e a sua ausência nas folhas de couve, que podem ter estimulado mais a alimentação pelas lagartas.

Segundo VELASCO et al. (2007), a variação no padrão de glucosinolatos tem sido atribuída a fatores genéticos e ambientais, incluindo idade da planta, temperatura,

estresse hídrico e tipo de solo. A distribuição de glucosinolatos varia conforme a parte da planta, com diferenças quantitativas e qualitativas no meio das raízes, folhas, talos e semente. Além disso, o ataque de pragas pode alterar notadamente o nível de glucosinolatos nas folhas.

RANGKADILOK et al. (2002b) citam a ocorrência de grande variação na concentração de sinigrina entre as espécies de brássicas testadas (*B. oleraceae* – repolho, couve-flor, brócolis, brócolis chinês, Kalibrini e couve-de-bruxelas; *B. nigra*; *B. juncea* – mostarda; *B. rapa* e *B. napus*), sendo que, baixa concentração de sinigrina foi obtida no brócolis ( $0,02-0,04 \mu\text{mol g}^{-1}$ ), comparada a altas concentrações encontradas em variedades de repolho e couve-flor ( $23,79$  e  $23,69 \mu\text{mol g}^{-1}$ , respectivamente). A ausência desta substância em couve comparada à concentração presente naturalmente em brócolis pode ter sido fundamental para as diferenças nos resultados obtidos nas variáveis testadas. Por outro lado, THULER et al. (2007) não encontraram sinigrina em diversas variedades de brássicas testadas, incluindo a couve-manteiga ‘Da Geórgia’ utilizada nesse trabalho.

VELASCO et al. (2007) concluíram que o padrão de glucosinolatos foi estável nas partes da planta, mas não nas diferentes fases do desenvolvimento. Brotos florescentes e folhas colhidas 5 meses depois do transplante continham a concentração mais alta de glucosinolatos, e em particular sinigrina. Os glucosinolatos alifáticos (composto orgânico que não é cíclico) foram menos suscetíveis aos efeitos ambientais que os glucosinolatos indolil (composto orgânico heterocíclico). A relação entre a variação na concentração de glucosinolatos em folhas e o dano causado por várias espécies de lepidópteros especialistas parece ocorrer, embora seja difícil de confirmar uma relação direta entre a perda de conteúdo de glucosinolatos em folhas e o dano da praga. Os fatores ambientais como pH do solo e temperatura parecem ter alguma influência na variação de glucosinolatos.

#### 4. CONCLUSÃO

- As doses extremas (0,2, 0,4 e 3,2mg/mL) de sinigrina aumentam o consumo de folhas de couve e diminuem em folhas de brócolis por lagartas de *P. xylostella*.
- O consumo foi maior pelas lagartas alimentadas com folhas de brócolis.
- As metodologias utilizadas proporcionam resultados similares, sendo as medições de peso fresco e nota visual mais práticas e viáveis.

#### 5. REFERÊNCIAS

- BARKER, A. M.; MOLOTSANE, R.; MÜLLER, C.; SCHAFFNER, U.; STÄDLER, E. Chemosensory and behavioral responses of the turnip sawfly, *Athalia rosae*, to glucosinolates and isothiocyanates. **Chemoecology**, Berlin, v. 16, n. 4, p. 209-218, 2006.
- BODNARYK, R. P. Will low-glucosinolate cultivar of the mustards *Brassica juncea* and *Sinapis alba* be vulnerable to insect pests? **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 77, n. 2, p. 283-287, 1997.
- CASTELO BRANCO, M.; GATEHOUSE, A. G. Insecticide resistance in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) in the Federal District, Brazil. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 26, n. 1, p. 75-79, 1997.
- GUPTA, P. D.; THORSTEINSON, A. J. Food plant relationships of the diamondback moth (*Plutella maculipennis* (Curt)). **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Netherlands, v. 3, n. 3, p. 241–250, 1960.
- LARA, F. M. **Princípios de entomologia**. 3ªed. São Paulo: Ícone, 1992. 331p.

MARAZZI, C.; PATRIAN, B.; STÄDLER, E. Secondary metabolites of the leaf surface affected by sulphur fertilization and perceived by the diamondback moth. **Chemoecology**, Berlin, v. 14, n. 2, p. 81-86, 2004.

MOURA, G. de M. Efeitos do desfolhamento no rendimento do feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 1, p. 57-62, 1999.

NEVES, B. P.; NOGUEIRA, J. C. M. Cultivo e utilização do nim indiano (*Azadirachta indica* A. Juss.). Embrapa - CNPAF – APA, 1996. 32p. (Circular Técnica, 28).

PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. São Paulo: Manole, 1991. 359p.

PIVNICK, K. A.; JARVIS, B. J.; SLATER, G. P. Identification of olfactory cues used in host-plant finding by diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 20, n. 7, p. 1407–1427, 1994.

RANGKADILOK, N.; NICOLAS, M. E.; BENNETT, R. N.; PREMIER, R. R.; EAGLING, D. R.; TAYLOR, P. W. J. Developmental changes of sinigrina and glucoraphanin in three Brassica species (*Brassica nigra*, *Brassica juncea* and *Brassica oleracea* var. *italica*). **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 96, n.1, p. 11-26, 2002a.

RANGKADILOK, N.; NICOLAS, M. E.; BENNETT, R. N.; PREMIER, R. R.; EAGLING, D. R.; TAYLOR, P. W. J. Determination of sinigrina and glucoraphanin in Brassica species using a simple extraction method combined with ion-pair HPLC analysis. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 96, n. 1, p. 27-41, 2002b.

REED, D. W.; PIVNICK, K. A.; UNDERHILL, E. W. Identification of chemical oviposition stimulants for the diamondback moth, *Plutella xylostella*, present in three species of

Brassicaceae. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Netherlands, v. 53, n. 3, p. 227–286, 1989.

RENWICK, J. A. A. The chemical world of crucivores: lures, treats and traps. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Netherlands, v. 104, n. 1, p. 35–42, 2002.

SAXENA, R. C. Insecticides from Neem. In: ARNASON, J. T.; PHILOGENE, B. J. R.; MORAND, P. (Eds.). **Insecticides of plant origin**. Washington: American Chemical Society, p. 110-129, 1989.

SCHMUTTERER, H. Insect growth-disrupting and fecundity-reducing ingredients from the neem and chynaberry trees. In: MORGAN, E. D.; MANDAVA, N. B. (Eds.). **CRC Handbook of natural pesticides: volume III, Insect Growth Regulators – Part B**. Washington: CRC, p. 119-167, 1987.

SOUZA, A. M. L.; ÁVILA, C. J.; PARRA, J. R. P. Consumo e utilização de alimento por *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Pyralidae), *Heliothis virescens* (Fabr.) e *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em duas temperaturas. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 11-17, 2001.

SPENCER, J. L.; PILLAI, S.; BERNAYS, E. A. Synergism in the oviposition behavior of *Plutella xylostella*: sinigrina and wax compounds. **Journal of Insect Behavior**, New York, v. 12, n. 4, p. 483-500, 1999.

THORSTEINSON, A. J. The chemotactic responses that determine host specificity in an aoligophagous insect (*Plutella maculipennis*) (Curt.) (Lepidoptera). **Canadian Journal of Zoology**, Ottawa, v. 31, n. 1, p. 52-72, 1953.

THULER, R. T.; DE BORTOLI, S. A.; HOFFMANN-CAMPO, C. B. Classificação de cultivares de brássicas com relação à resistência à traça-das-crucíferas e à presença de



glucosinolatos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 4, p. 467-474, 2007.

VAN LOON, J. J. A.; WANG, C. Z.; NIELSEN, J. K.; GOLS, R.; QIU, Y. T. Flavonoids from cabbage are feeding stimulants for diamondback moth larvae additional to glucosinolatos: Chemoreception and behavior. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Netherlands, v. 104, n. 1, p. 27-34, 2002.

VELASCO, P.; CARTEA, M. E.; GONZÁLEZ, C.; VILAR, M.; ORDÁS, A. Factors affecting the glucosinolate content of kale (*Brassica oleraceae acephala* group). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 55, n. 3, p. 955-962, 2007.

## CAPÍTULO 4 - IMPLICAÇÕES

A interação inseto-planta é um processo complexo e dinâmico, de um lado as plantas, que oferecem abrigo, substrato para oviposição e alimento aos insetos, e de outro eles que proporcionam defesa (predadores) e polinização as plantas. Esse processo é mediado por substâncias químicas secundárias das plantas, os chamados metabólitos secundários. Com o passar do tempo, as plantas tiveram que desenvolver mecanismos de defesa para tolerar pragas e doenças, e as pragas, por sua vez, adaptarem-se aos metabólitos das plantas, usando-os em seu benefício. Os glucosinolatos estão diretamente envolvidos nessa interação inseto-planta, sendo a sinigrina um exemplo de metabólito secundário de brássicas envolvido nessa interação.

Esclarecimentos sobre os efeitos dessas substâncias no desenvolvimento dos insetos são necessários, devido a existência de poucos e contrastantes resultados nos trabalhos publicados, suportando a hipótese de que para cada espécie vegetal e animal, estes mecanismos são expressos de maneira diferenciada, principalmente pelos excessivos melhoramentos genéticos realizados nas plantas de brássicas.

Desta forma, essa pesquisa teve como objetivo estudar os efeitos de diferentes concentrações de sinigrina aplicada na superfície foliar de couve e brócolis, em alguns parâmetros biológicos de *Plutella xylostella*, além de determinar a capacidade de ingestão de lagartas e estabelecer uma escala visual de notas para medir os danos.

Os dados mostraram que a sinigrina apresentou diferentes resultados em couve e em brócolis. Na primeira, viabilidades larvais baixas, selecionaram indivíduos de *P. xylostella* resistentes a sinigrina, que então, não foram afetados por essa substância na fase seguinte (pupa). As concentrações intermediárias de sinigrina (0,8 e 1,6 mg/mL) foram as mais eficazes no controle da traça-das-crucíferas, pois além de diminuir sua viabilidade larval, apresentaram um menor consumo em todos os meios avaliados (peso fresco, peso seco, área foliar consumida e escala visual de notas), proporcionando menos danos à couve. O contrário pode ser visto nas lagartas alimentadas com folhas de brócolis, que apresentaram menor viabilidade larval na

menor dose de sinigrina (0,2 mg/mL), não influenciando significativamente nas fases seguintes e apresentando o menor consumo foliar nas doses baixas (0,2 e 0,4mg/mL) em todos os meios testados. O consumo foliar entre as variedades, de maneira geral, foi maior em folhas de brócolis que em couve.

Os diferentes resultados obtidos nas variedades de couve e brócolis parecem estarem ligados a presença de sinigrina naturalmente nas folhas de brócolis e a ausência nas de couve. Essa hipótese, entretanto precisa ser confrontada com a realização de novos testes nessas variedades, inclusive quantificando os glucosinolatos, uma vez que, melhoramentos genéticos sucessivos nas plantas, podem afetar, ou terem afetado, sua quantidade.

As diferentes metodologias, medição de área foliar consumida, em peso fresco e seco, e a escala de notas, empregadas para quantificar o consumo foliar pelas lagartas de *P. xylostella*, são similares e podem ser utilizadas. Entretanto, a maneira mais prática e eficiente é o emprego do peso fresco e a escala visual de notas.

Desta forma, frente aos resultados obtidos, pode-se afirmar que a sinigrina é um metabólito que pode afetar o desenvolvimento de *P. xylostella*, seja retardando o desenvolvimento, diminuindo sua viabilidade ou seu consumo. Assim, desperta interesse e curiosidade em novas pesquisas para se obter mais informações sobre essa importante interação entre a *P. xylostella* e variedades de brássicas, mediadas por substâncias químicas.