

GIORLA CARLA PIUBELLI

“Bioatividade de Genótipos de Soja Resistentes a *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) e Interações de suas Substâncias Químicas com Inimigos Naturais”

Tese apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor, pelo Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Área de Concentração em Entomologia, do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Dr. Flávio Moscardi

Co-orientadora: Dr.^a Clara Beatriz Hoffmann-Campo

CURITIBA

2004

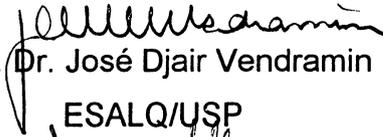
GIORLA CARLA PIUBELLI

“Bioatividade de genótipos de soja resistentes a *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) e interações de suas substâncias químicas com inimigos naturais.”

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de “Doutor em Ciências”, no Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Área de Concentração em Entomologia, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:



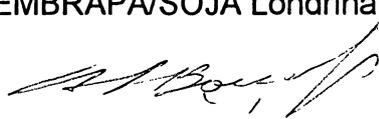
Dr. Flávio Moscardi (Orientador)
EMBRAPA/SOJA Londrina PR



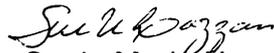
Prof. Dr. José Djair Vendramin
ESALQ/USP



Dr. Daniel Ricardo Sosa-Gomez
EMBRAPA/SOJA Londrina PR



Prof. Dr. Arlindo Leal Boiça Júnior
(UNESP/Jaboticabal SP)



Profa. Dra. Sonia Maria Noemberg Lazzari
UFPR

Curitiba, 26 de março de 2004.

À minha querida avó Gioconda,
meus pais Celina e Maurilio,
meus irmãos e sobrinhos,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar ao meu lado em todos os momentos.

Ao Dr Flávio Moscardi, pela amizade, orientação e confiança em mim depositada.

A Dra Clara Beatriz Hoffmann-Campo, pela orientação, paciência, ensinamentos prestados e acima de tudo, pela amizade. Foi uma honra ser sua orientada durante todos esses anos.

Ao Curso de Pós-Graduação em Entomologia do Setor de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Paraná, pela oportunidade de realização do curso, e a todo corpo docente, especialmente, Prof. Dr Mário Navarro e Prof. Dra Lúcia Massutti de Almeida.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

A Embrapa Soja, por disponibilizar a estrutura necessária à realização dos experimentos.

Aos Pesquisadores da Embrapa Soja, Antônio R. Panizzi, Beatriz S. Corrêa-Ferreira, Daniel Ricardo Sosa-Gomez, Décio L. Gazzoni, Ivan C. Corso, José Renato Bordignon, Júlio César Franchini e Lenita Jacob Oliveira, pela amizade e colaboração.

A Pesquisadora Maria Cristina N. de Oliveira e as funcionárias do Departamento de estatística da Embrapa Soja, Mariza e Tânia, pela importante colaboração nas análises estatísticas.

Aos funcionários do departamento de Entomologia da Embrapa Soja (Resistência de Plantas e Patologia de Insetos), Antônio Carlos, Carneiro, Elis, Fábio, Ivanilda, Sandra e Sérgio, cujo auxílio foi fundamental no decorrer dos experimentos.

Aos funcionários da Embrapa Soja, Jovenil, Jairo, Joacir, Tercília e Rosimeire (Entomologia), Clenilda, Danilo, Donizete, Gustavo, Marcelo, Mariluci, Moisés e Tica, pelo auxílio e amizade.

Ao secretário do curso de Pós-Graduação em Entomologia da UFPR, Jorge Luís Silveira dos Santos, pela colaboração durante esses quatro anos de tese.

Ao Dr. José Cola Zanuncio, do Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Viçosa, pela doação dos insetos, colaboração e sugestões nos experimentos com predadores.

Ao Dr Stephen J. Simpson, do Departamento de Zoologia da Universidade de Oxford, pelo auxílio na escolha do método mais adequado para a análise de lipídios.

À amiga Adriane Wendland, por estar sempre perto, mesmo quando está longe.

A Alessandra e Luciana, pela amizade tão especial.

Aos amigos que conquistei na Embrapa, em especial, Andréa Chernaki, Andréa Malaguido, Adriana, Angélica, Bráulio, Clarice, Cláudia, Denise, Edson, Eduardo, Lincoln, Lizandra, Lúcia, Marcus, D. Maria, Marliton, Silvana, Simone, Viviane, Wilsimar e Wladimir.

As amigas Andréa e Míriam, por terem me recebido com tanto carinho em Curitiba.

A minha avó Gioconda e tias Claudete e Cecília, sempre presente com suas orações.

Aos meus irmãos, Celismara, Mauri e Glaucilene, meus cunhados e sobrinhos, pelo apoio e carinho.

Aos meus pais, Celina e Maurilio, por estarem sempre ao meu lado. A vocês, meu eterno amor e gratidão.

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS.	iv
RESUMO.	x
ABSTRACT.	xiii
LISTA DE TABELAS.	xvi
LISTA DE FIGURAS.	xxii

CAPÍTULO 1

Introdução Geral.	1
1.1. Aspectos gerais.	1
1.2. Substâncias químicas e seus efeitos em insetos pragas da soja.	3
1.3. Manejo integrado de pragas e interações tritróficas.	5
1.4. Objetivos.	10
1.5. Literatura Citada.	11

CAPÍTULO 2

Aspectos biológicos e fisiológicos de <i>Anticarsia gemmatalis</i> Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) em diversos genótipos de soja com resistência a insetos.	20
2.1. Introdução.	20
2.2. Material e Métodos.	22
2.2.1. Genótipos de soja.	22
2.2.2. Preparo dos extratos.	23
2.2.3. Condução do experimento.	23
2.2.4. Análise estatística.	25
2.3. Resultados e Discussão.	26
2.3.1. Mortalidade, tempo de desenvolvimento, peso inicial, peso de pupa,	

dieta consumida e peso de fezes de <i>Anticarsia gemmatalis</i>	26
2.3.2. Crescimento, consumo alimentar, eficiência na assimilação e conversão dos alimentos ingeridos e digeridos em biomassa e ganho do peso de <i>Anticarsia gemmatalis</i>	30
2.4. Literatura Citada.	39

CAPÍTULO 3

Efeito de rotina em parâmetros biológicos e fisiológicos de populações de <i>Anticarsia gemmatalis</i> Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) suscetível e resistente ao seu vírus da poliedrose nuclear (VPNMAg)	43
3.1. Introdução.	43
3.2. Material e Métodos.	45
3.2.1. Condução do experimento.	45
3.2.2. Obtenção de população de <i>Anticarsia gemmatalis</i> resistente ao VPNMAg.	46
3.2.3. Análise estatística.	46
3.3. Resultados e Discussão.	48
3.3.1. Mortalidade, tempo de desenvolvimento, peso inicial, peso de pupa, dieta consumida, peso de fezes e porcentagem de lipídios de populações de <i>Anticarsia gemmatalis</i> suscetível (S) e resistente (R) ao VPNMAg.	48
3.3.2. Crescimento, consumo alimentar, eficiência na assimilação e conversão dos alimentos ingeridos e digeridos em biomassa, ganho do peso e conteúdo de lipídios de populações de <i>Anticarsia gemmatalis</i> suscetível (S) e resistente (R) ao VPNMAg.	55
3.4. Literatura Citada.	66

CAPÍTULO 4

Identificação e quantificação de flavonóides em genótipos de soja com

resistência a insetos.	69
4.1. Introdução.	69
4.2. Material e Métodos.	70
4.2.1. Procedimento experimental.	70
4.2.2. Análises cromatográficas e quantificação de rutina e genistina.	71
4.2.3. Análise estatística.	72
4.3. Resultados e Discussão.	72
4.4. Literatura Citada.	77

CAPÍTULO 5

Interações entre extratos de genótipos de soja com resistência a insetos e rutina com o vírus da poliedrose nuclear de <i>Anticarsia gemmatalis</i> Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) (VPNMAg) em populações de inseto suscetível e resistente ao vírus.	79
5.1. Introdução.	79
5.2. Material e Métodos.	80
5.2.1. Preparo das concentrações do VPNMAg e execução dos bioensaios.	81
5.2.2. Preparo dos extratos dos genótipos PI 227687 e PI 274454.	83
5.2.3. Obtenção de população de <i>Anticarsia gemmatalis</i> resistente ao VPNMAg.	84
5.3. Resultados e Discussão.	85
5.3.1. Teste 1- Interação entre extratos de genótipos de soja e o VPNMAg.	85
5.3.2. Teste 2- Interação entre rutina e VPNMAg.	91
5.4. Literatura Citada.	99

CAPÍTULO 6

Efeito da rotina no desenvolvimento ninfal e no desempenho reprodutivo do predador <i>Podisus nigrispinus</i> Dallas (Hemiptera: Pentatomidae).	102
6.1. Introdução.	102
6.2. Material e Métodos.	103
6.2.1. Criação das lagartas para alimentar os predadores.	103
6.2.2. Desenvolvimento ninfal do predador <i>Podisus nigrispinus</i>	103
6.2.2.1. Análise estatística.	104
6.2.3. Desempenho reprodutivo do predador <i>Podisus nigrispinus</i>	105
6.2.3.1. Análise estatística.	105
6.3. Resultados e Discussão.	106
6.3.1. Desenvolvimento ninfal do predador <i>Podisus nigrispinus</i>	106
6.3.1.1. Crescimento e ganho de peso do predador <i>Podisus nigrispinus</i>	112
6.3.2. Desempenho reprodutivo do predador <i>Podisus nigrispinus</i>	118
6.4. Literatura Citada.	122
CONCLUSÕES GERAIS	125

RESUMO

A soja é a espécie vegetal de maior importância econômica para o Brasil, e nas últimas décadas vem apresentando significativa expansão de cultivo para novas regiões e em grandes propriedades. Paralelamente, diversos problemas foram surgindo, como o aumento proporcional de aplicações de inseticidas em populações de insetos-pragas, como a lagarta-da-soja (*Anticarsia gemmatalis* Hübner), considerada a principal praga desfolhadora da soja no país. Como o controle biológico vem sendo utilizado principalmente em pequenas e médias propriedades, a utilização de cultivares resistentes a insetos pode apresentar diversas vantagens, uma vez que é considerado um dos métodos de controle menos nocivos ao meio ambiente. Além disso, podem atenuar o aumento na utilização de pesticidas. Flavonóides como rutina (quercitina 3-O-rutinosídeo) foram identificadas em soja, e é reconhecido que esta substância desempenha importante papel na defesa da planta. Muitos autores citam sua incompatibilidade com alguns entomopatógenos e predadores que são importantes agentes de controle biológico de insetos-pragas da soja, incluindo *A. gemmatalis*. Este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade biológica de substâncias químicas de diversos genótipos de soja com característica de resistência, e de rutina sobre *A. gemmatalis*, e suas interações com o vírus da poliedrose nuclear de *A. gemmatalis* (VPNMAg) e o predador *Podisus nigrispinus* Dallas. Quando foram testadas a atividade biológica e fisiológica de extratos de folhas de genótipos de soja com característica de resistência em *A. gemmatalis*, observou-se que os genótipos PI 274454, PI 227687 e 'IAC-100', de modo geral, causaram maior mortalidade, prolongaram o ciclo larval, além de influenciarem negativamente no peso inicial das lagartas, o peso de pupa e o crescimento dos insetos, em relação a lagartas que se alimentaram em dieta sem a adição de extrato (testemunha). Lagartas que consumiram dieta contendo extrato do genótipo 'IAC-100' foram às menos eficientes na conversão do alimento ingerido e digerido em biomassa, mesmo consumindo a maior quantidade de alimento. Os genótipos PI 274454, PI 227687 e 'IAC-100' apresentaram resistência mais acentuada, sendo considerados como alimentos inadequados para o desenvolvimento de *A. gemmatalis*. No estudo da atividade biológica e fisiológica de rutina (0,65% e 1,30%) em populações de lagartas resistentes e suscetíveis ao VPNMAg, verificou-se que lagartas da população resistente ao vírus (R) foram mais negativamente influenciadas pela rutina em comparação com lagartas da população suscetível (S), mesmo com a

adição da menor quantidade do flavonóide (0,65%) à dieta. A maior mortalidade ocorreu na população resistente, quando lagartas se alimentaram da dieta contendo 1,30% de rutina. Os tratamentos 0,65% + R e 1,30% + S foram responsáveis pelo prolongamento do ciclo larval, menor peso inicial das lagartas e peso de pupa, além de reduzirem o crescimento e o acúmulo de lipídios nos insetos. Lagartas da população resistente ao VPNMAg que se alimentaram de dieta contendo 0,65% de rutina foram menos eficientes na conversão do alimento ingerido e digerido em biomassa e no acúmulo de lipídios, sugerindo que a rutina, possivelmente, pode contribuir atenuando a resistência de *A. gemmatalis* ao VPNMAg. Na identificação e quantificação de flavonóides em genótipos de soja com característica de resistência a insetos-praga, verificou-se que a 'IAC-100' apresentou a maior concentração e porcentagem dos flavonóides genistina e rutina, em comparação com os demais. Apenas a substância canferol, comum em genótipos suscetíveis a pragas, foi observada na 'BR-16'. No estudo das interações entre extratos de genótipos de soja com característica de resistência (PI 274454 e PI 227687) e rutina (0,65% e 1,30%) com diferentes concentrações de VPNMAg em populações de *A. gemmatalis* suscetível e resistente ao vírus, verificou-se maior mortalidade quando lagartas se alimentaram em dietas contendo extratos dos genótipos de soja e/ou rutina, em comparação a mortalidade de lagartas que se alimentam de dieta normal. Observou-se redução de aproximadamente 10 vezes na concentração letal média (CL_{50}) quando foram adicionados extratos da PI 274454 e diferentes concentrações do VPNMAg, em população de lagartas suscetível ao vírus, em comparação com a CL_{50} com o vírus na dieta normal. Na população resistente, a adição de rutina ao VPNMAg reduziu a CL_{50} , aproximadamente, 90 vezes. Efeito aditivo foi predominante quando lagartas se alimentaram em dietas contendo extratos dos genótipos (PI 274454 e PI 226687) e VPNMAg, em ambas populações de lagartas. As interações entre rutina (0,65% e 1,30%) e diferentes concentrações do VPNMAg foram todas aditivas para a população suscetível ao vírus. Já na população resistente ao VPNMAg, observou-se predominância do efeito sinérgico quando 0,65% de rutina interagiu com as diferentes concentrações do vírus e efeito aditivo, na mistura com 1,30% de rutina. O peso de pupa foi negativamente influenciado pela adição de extratos e/ou rutina nas dietas, sendo o efeito mais marcante na população resistente ao vírus. O efeito da rutina no desenvolvimento ninfal do predador *P. nigrispinus* variou de acordo com a quantidade do flavonóide, o ínstar e a geração do predador. Quando os predadores, nas duas gerações estudadas alimentaram-se de presas anteriormente

criadas em dieta contendo 1,30% de rutina, o tempo total de desenvolvimento foi prolongado. Também nesse tratamento, o número de lagartas consumidas foi maior e o consumo (mg) foi menor, provavelmente, porque as lagartas nesse tratamento atingiram menor peso; conseqüentemente, o predador não teve suas necessidades nutricionais supridas nesse alimento. Uma adaptação gradativa ao alimento ocorreu com os percevejos predadores da 2ª geração, pois esses obtiveram melhores índices de desenvolvimento comparados aos da 1ª geração. O ganho de peso dos predadores não foi influenciado pelos diferentes tratamentos na 1ª geração, porém, na 2ª geração observou-se que insetos provenientes do tratamento lagartas + DN e lagartas + 0,65% de rutina apresentaram maior ganho de peso, em comparação com predadores do tratamento com lagartas alimentadas em dieta contendo 1,30% de rutina. Não foi verificado efeito negativo da rutina na maioria das variáveis do desenvolvimento reprodutivo de *P. nigrispinus*. Entretanto, predadores da 2ª geração, que consumiram lagartas criadas em dieta normal ou acrescidas de 0,65% de rutina apresentaram o maior número de ovos por massa em relação aos alimentados com lagartas criadas em dieta com 1,30% de rutina. Os resultados sugerem que a utilização de cultivares de soja com característica de resistência a insetos-praga, contendo rutina, em geral são compatíveis com a utilização do VPNMAg e com o predador *P. nigrispinus*.

ABSTRACT

Soybean is the economically most important crop species in Brazil, which in the last decades is presenting significant expansion for new areas and in extensive farms. At the same time, several problems have arisen, such as an increase in insecticide applications against insect-pests, as the velvetbean caterpillar (*Anticarsia gemmatalis* Hübner), considered the main pest defoliator of soybean in the country. As the biological control has been used mainly in small and medium size farms, the use of resistance sources to insects presents several advantages, since it is considered the less harmful control method to the environment. Furthermore, it can contribute for a decrease in pesticide use. Flavonoids, such as rutin (quercetin 3-O-rutinoside), recognized to play an important role in the plant defense, were identified in soybean. However, many authors mention its incompatibility with some entomopathogens and predators that are important agents of biological control of soybean insect-pests, including *A. gemmatalis*. The objective of this study was to evaluate the biological activity of chemical substances in soybean genotypes with resistance characteristic, and rutin on *A. gemmatalis*, and their interactions with the nuclear polyhedrosis virus of *A. gemmatalis* (AgMNPV) and with the predator *Podisus nigrispinus* Dallas. The experiments were carried out to evaluate the biological and physiological activity of extracts of leaves from several soybean genotypes on *A. gemmatalis* showed that the genotypes PI 274454, PI 227687 and 'IAC-100', in general, caused higher mortality, elongated the larval cycle, and negatively influenced the initial larval weight, the pupal weight and insect growth. Larvae that consumed diet-containing extract of the genotype 'IAC-100' were less efficient in the conversion of the ingested and digested food to biomass, although presenting the largest amount of consumed food. The genotypes PI 274454, PI 227687 and 'IAC-100' presented more accentuated resistance characteristic, being considered as inadequate sources for the development of *A. gemmatalis*. In the study of the biological and physiological activity of rutin (0.65% e 1.30%) in populations of AgMNPV, it was observed that larvae from resistant population the virus (R) were more negatively influenced by the rutin, in comparison to larvae of the susceptible population (S), even with the addition of the lowest level of the flavonoid (0.65%) to the diet. The highest mortality was observed in the resistant population, when larvae fed on the diet containing 1.30% of rutin. The treatments 0.65% + R and 1.30% + S were responsible for the elongation of the larval cycle, smaller initial larval

weight and pupal weight, besides reducing insect growth and lipid accumulation. Larvae of the resistant population to AgMNPV that fed on diet containing rutin 0.65% were less efficient in the conversion of ingested and digested food into biomass and in lipid accumulation. The results suggest that rutin, possibly, can contribute to decrease resistance of *A. gemmatalis* to the AgMNPV. In the identification and quantification of flavonoids in several soybean genotypes with resistance characteristic to insects-pests, it was observed that 'IAC-100' presented the largest concentration and percentage of the flavonoids genistin and rutin in comparison with the other genotypes. Only the substance kaempferol, a common compound in susceptible genotypes, was observed in 'BR-16'. In the study of the interactions among extracts of soybean genotypes with resistance characteristic (PI 274454 and PI 227687) and rutin (0.65% and 1.30%) with different concentrations of AgMNPV in populations of *A. gemmatalis* susceptible and resistant to the virus, higher mortality was observed when larvae fed in diets containing extracts of the soybean genotypes and/or rutin, in comparison with mortality of larvae that fed in normal diet. The mean lethal concentration (LC₅₀) was reduced approximately 10 times, for the larval population susceptible to the virus, when PI 274454 extracts and different concentrations of AgMNPV were added to the diet, in comparison to the LC₅₀ in normal diet. In the virus resistant population, the lowest percentage of rutin mixed with AgMNPV was responsible for a reduction of approximately 90-fold in the LC₅₀. Additive effect was predominant when larvae fed on diets containing extracts of the genotypes (PI 274454 and PI 226687) and AgMNPV, for both larval populations. The interactions among rutin (0.65% and 1.30%) and different amount of AgMNPV were always additive in the virus susceptible population. Predominance of synergic and additive effects was observed in the AgMNPV resistant population when respectively, 0.65% and 1.30% rutin, interacted with different concentrations of virus. The pupal weight was negatively influenced by the addition of extracts and/or rutin in the diets, for both larval populations, notably for the virus resistant population. The effect of rutin on nymphal development of the predator *P. nigrispinus*, varied with the concentration of the flavonoid, instar and generation of the predator. When the predators of both generations fed on diet containing 1.30% rutin, their developmental time was elongated. The number of consumed larvae was higher and the consumption was lower, probably due to lower weight reached by the preys in that treatment, consequently, the predator had not supplied its nutritional requirements in that diet. A gradual adaptation to the food occurred at the 2nd generation of predators,

as they attained better development indexes, as compared to the insects of the 1st generation. The predator weight gain was not influenced by the different treatments in the 1st generation. However, in the 2nd generation it was observed that insects that fed larvae + ND and larvae + 0.65% rutin were heavier, in comparison to predators fed on larvae + 1.30% rutin. A negative effect of the rutin was not observed in most variables related to the reproductive development of *P. nigrispinus*. However, the 2nd generation of predators, that consumed larvae reared in normal diet or with addition of 0.65% rutin, presented the highest number of eggs per mass in relation to predators fed with larvae reared in diet with 1.30% rutin. The results suggest that the utilization of soybean genotypes with rutin is, in general, compatible with the utilization of AgMNPV and the predator *P. nigrispinus*.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Genealogia ou origem dos genótipos de soja utilizados nos testes de <i>Anticarsia gemmatalis</i>	22
Tabela 2. Porcentagem de mortalidade de <i>Anticarsia gemmatalis</i> alimentadas em dieta artificial contendo diferentes extratos de genótipos de soja. Temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.	27
Tabela 3. Tempo de desenvolvimento larval (dias) (Média \pm EP) de <i>Anticarsia gemmatalis</i> alimentadas em dieta artificial contendo diferentes extratos de genótipos de soja. Temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.	28
Tabela 4. Peso seco inicial de lagartas de 2 ^o /3 ^o ínstar (mg), peso seco de pupa (mg), dieta consumida (mg), peso de fezes (mg) (Média \pm EP) de <i>Anticarsia gemmatalis</i> alimentadas em dieta artificial contendo diferentes extratos de genótipos de soja. Temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.	29
Tabela 5. Análise de Covariância (ANCOVA) para verificar os efeitos dos diferentes extratos dos genótipos de soja no ajuste de peso de pupa de <i>Anticarsia gemmatalis</i> e quantidade de dieta consumida pela covariável tempo de desenvolvimento.	30
Tabela 6. Análise de Covariância (ANCOVA) para verificar os efeitos dos diferentes extratos dos genótipos de soja, no ajuste de peso de pupa de <i>Anticarsia gemmatalis</i> , pelas covariáveis peso inicial (a) e quantidade de alimento digerido (b)	33
Tabela 7. Análise de Covariância (ANCOVA) para verificar os efeitos dos diferentes extratos dos genótipos de soja no ajuste do peso de pupa e peso de fezes de <i>Anticarsia gemmatalis</i> , pela covariável quantidade de dieta consumida.	35

CAPÍTULO 3

Tabela 1. Porcentagem de mortalidade de populações de <i>Anticarsia gemmatalis</i> suscetível (S) e resistente (R) ao VPNMAg, alimentadas em dieta contendo ou não (DN) rutina (0,65% e 1,30%). Temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.	49
Tabela 2. Tempo de desenvolvimento larval (dias) (Média \pm EP) de populações de <i>Anticarsia gemmatalis</i> ¹ suscetível (S) e resistente (R) ao VPNMAg, alimentadas em dieta contendo ou não (DN) rutina (0,65% e 1,30%). Temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.	52
Tabela 3. Peso inicial de lagartas seco em 2 ^o /3 ^o ínstar (mg), peso seco de pupa (mg), dieta consumida (mg), peso de fezes (mg) e % de lipídios (Média \pm EP) de populações de <i>Anticarsia gemmatalis</i> ¹ suscetível (S) e resistente (R) ao VPNMAg, alimentadas em dieta contendo ou não (DN) rutina (0,65% e 1,30%). Temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.	53
Tabela 4. Análise de Covariância (ANCOVA) para verificar os efeitos dos diferentes tratamentos no ajuste de peso de pupa e quantidade de dieta consumida de <i>Anticarsia gemmatalis</i> , pela covariável tempo de desenvolvimento.	55
Tabela 5. Análise de Covariância (ANCOVA) para verificar os efeitos dos diferentes tratamentos no ajuste de peso de pupa de <i>Anticarsia gemmatalis</i> , pelas covariáveis peso inicial (a) e alimento digerido (b)	58
Tabela 6. Análise de Covariância (ANCOVA) para verificar os efeitos dos diferentes tratamentos no ajuste do peso de pupa e peso de fezes de <i>Anticarsia gemmatalis</i> , pela covariável quantidade de dieta consumida.	61
Tabela 7. Análise de Covariância (ANCOVA) para verificar os efeitos dos diferentes tratamentos no ajuste da quantidade de lipídios acumulada por <i>Anticarsia gemmatalis</i> , pela covariável peso de pupa.	64

CAPÍTULO 4

Tabela 2. Concentração (mg/ml) (Média \pm EP) e porcentagem (%) (Média \pm EP) de rutina e genistina em diversos genótipos de soja com característica de resistência a insetos. 75

Tabela 3. Tempo de retenção (min.) dos picos dos cromatogramas dos diversos genótipos de soja com característica de resistência a insetos e no genótipo suscetível 'BR-16'. 75

CAPÍTULO 5

Tabela 1. Concentrações de VPNMAg (corpos de oclusão/ml dieta) utilizadas em experimentos de interação com substâncias da soja que conferem resistência a *Anticarsia gemmatalis* na soja. 82

Tabela 2. Concentração letal média (CL₅₀), intervalo de confiança (95%), inclinação (Média \pm EP) e valores de qui-quadrado (χ^2) de populações de *Anticarsia gemmatalis* suscetível e resistente ao VPNMAg, em interação ou não (DN) com extratos de genótipos de soja com característica de resistência (PI 274454 e PI 227687). Temperatura de 25 \pm 2°C, UR de 70 \pm 10% e fotofase de 12h. 87

Tabela 3. Interação¹ entre extratos de genótipos de soja com característica de resistência (PI 274454 e PI 227687) e seis concentrações do vírus de poliedrose nuclear de *Anticarsia gemmatalis* (VPNMAg) em populações suscetível e resistente ao VPNMAg. Temperatura de 25 \pm 2°C, UR de 70 \pm 10% e fotofase de 12h. 88

Tabela 4. Efeito da interação entre extratos de genótipos de soja com característica de resistência (PI 274454 e PI 227687) e seis concentrações do vírus de poliedrose nuclear de *Anticarsia gemmatalis* (VPNMAg) no peso de pupa (mg) (Média \pm EP) da população suscetível ao VPNMAg (número de pupas entre parênteses). Temperatura de 25 \pm 2°C, UR de 70 \pm 10% e fotofase de 12h. 89

Tabela 5. Efeito da interação entre extratos de genótipos de soja com característica de resistência (PI 274454 e PI 227687) e seis concentrações do vírus de poliedrose nuclear de <i>Anticarsia gemmatalis</i> (VPNMAg) no peso de pupa (mg) (Média ± EP) da população resistente ao VPNMAg (número de pupas entre parênteses). Temperatura de 25 ± 2°C, UR de 70 ± 10% e fotofase de 12h.	90
Tabela 6. Concentração letal média (CL ₅₀), intervalo de confiança (95%), inclinação (Média ± EP) e valores de qui-quadrado (χ^2) de populações de <i>Anticarsia gemmatalis</i> suscetível e resistente ao VPNMAg, em interação ou não (DN) rutina (0,65% e 1,30%). Temperatura de 25 ± 2°C, UR de 70 ± 10% e fotofase de 12h.	94
Tabela 7. Interação ¹ entre rutina (0,65% e 1,30%) e seis concentrações do vírus de poliedrose nuclear de <i>Anticarsia gemmatalis</i> (VPNMAg) em populações suscetível e resistente ao VPNMAg. Temperatura de 25 ± 2°C, UR de 70 ± 10% e fotofase de 12h.	95
Tabela 8. Efeito da interação entre rutina (0,65% e 1,30%) e seis concentrações do vírus de poliedrose nuclear de <i>Anticarsia gemmatalis</i> (VPNMAg) no peso de pupa (mg) (Média ± EP) da população suscetível ao VPNMAg (número de pupas entre parênteses). Temperatura de 25 ± 2°C, UR de 70 ± 10% e fotofase de 12h.	96
Tabela 9. Efeito da interação entre rutina (0,65% e 1,30%) e seis concentrações do vírus de poliedrose nuclear de <i>Anticarsia gemmatalis</i> (VPNMAg) no peso de pupa (mg) (Média ± EP) da população resistente ao VPNMAg (número de pupas entre parênteses). Temperatura de 25 ± 2°C, UR de 70 ± 10% e fotofase de 12h.	97

CAPÍTULO 6

- Tabela 1. Porcentagem de mortalidade de *Podisus nigrispinus* (1^a e 2^a geração) que receberam como alimento lagartas de *Anticarsia gemmatalis* alimentadas em dieta contendo ou não (DN) rutina (0,65% e 1,30%). Temperatura de 25 ± 2°C, UR de 70 ± 10% e fotofase de 12h. 107
- Tabela 2. Peso no início do 3^o ínstar (mg) e peso de adultos (mg) de *Podisus nigrispinus* (1^a e 2^a geração) (Média ± EP) que receberam como alimento lagartas de *Anticarsia gemmatalis* alimentadas em dieta contendo ou não (DN) rutina (0,65% e 1,30%). Temperatura de 25 ± 2°C, UR de 70 ± 10% e fotofase de 12h. 108
- Tabela 3. Tempo de desenvolvimento ninfal (dias) (Média ± EP) de *Podisus nigrispinus* (1^a e 2^a geração) que receberam como alimento lagartas de *Anticarsia gemmatalis* alimentadas em dieta contendo ou não (DN) rutina (0,65% e 1,30%). Temperatura de 25 ± 2°C, UR de 70 ± 10% e fotofase de 12h. 109
- Tabela 4. Número de lagartas de *Anticarsia gemmatalis*, alimentadas previamente em dieta contendo ou não (DN) rutina (0,65% e 1,30%), consumidas por *Podisus nigrispinus* (Média ± EP) (1^a e 2^a geração), em três ínstars e total. Temperatura de 25 ± 2°C, UR de 70 ± 10% e fotofase de 12h. . 110
- Tabela 5. Consumo de *Podisus nigrispinus* (mg) (Média ± EP) (1^a e 2^a geração) recebendo como alimento lagartas de *Anticarsia gemmatalis* alimentadas em dieta contendo ou não (DN) rutina (0,65% e 1,30%) em três ínstars e total. Temperatura de 25 ± 2°C, UR de 70 ± 10% e fotofase de 12h. 111
- Tabela 6. Análise de covariância para o crescimento de *Podisus nigrispinus* (1^a e 2^a geração) estimado através do ajuste de peso de adulto pela covariável tempo de desenvolvimento, recebendo como alimento lagartas de *Anticarsia gemmatalis* alimentadas em dieta contendo ou não (DN) rutina (0,65% e 1,30%). 112

- Tabela 7. Análise de covariância para o ganho de peso de *Podisus nigrispinus* (1ª e 2ª geração) estimado através do ajuste de peso de adulto pela covariável peso inicial, recebendo como alimento lagartas de *Anticarsia gemmatalis* alimentadas em dieta contendo ou não (DN) rutina (0,65% e 1,30%). 115
- Tabela 8. Período de pré-oviposição e oviposição, número de massas de ovos, número de ovos por massa e número médio de ovos por casal de *Podisus nigrispinus* (1ª e 2ª geração) (N= número de casais) (Média ± EP) que receberam como alimento lagartas de *Anticarsia gemmatalis* alimentadas em dieta contendo ou não (DN) rutina (0,65% e 1,30%). Temperatura de 25 ± 2°C, UR de 70 ± 10% e fotofase de 12h. 119
- Tabela 9. Duração da fase de ovo (dias), porcentagem de eclosão (%), e longevidade média de fêmeas e machos (dias) de *Podisus nigrispinus* (1ª e 2ª geração) (N= número de casais) (Média ± EP) que receberam como alimento lagartas de *Anticarsia gemmatalis* alimentadas em dieta contendo ou não (DN) rutina (0,65% e 1,30%). Temperatura de 25 ± 2°C, UR de 70 ± 10% e fotofase de 12h. 120

CAPÍTULO 1

1. Introdução Geral

1.1. Aspectos gerais

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] (Fabaceae) é considerada a principal cultura de exportação brasileira (Moscardi & Sosa-Gomez 1992). Em 2003, o Brasil figurou como o segundo produtor mundial, responsável por 52 das 194 milhões de toneladas produzidas (TECNOLOGIAS 2003). O crescimento explosivo da produção de soja no Brasil nas últimas três décadas, determinou uma cadeia de mudanças sem precedentes na história do País. Entre os benefícios causados pela expansão da cultura da soja, podemos citar: aceleração da mecanização das lavouras, modernização do sistema de transportes, expansão da fronteira agrícola, profissionalização e incremento do comércio internacional, aceleração da urbanização do País, interiorização da população brasileira e também a modificação e enriquecimento da dieta alimentar dos brasileiros (TECNOLOGIAS 2003).

Dentre os principais insetos-praga que causam dano econômico na cultura da soja, destacam-se: a lagarta desfolhadora *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) e os percevejos sugadores de vagens e grãos, incluindo *Nezara viridula* (L.), *Piezodorus guildinii* (Westwood) e *Euschistus heros* (Fabr.) (Hemiptera: Pentatomidae). Essas pragas são abundantes em todas as regiões produtoras de soja no País, e são responsáveis por praticamente 90% do total de aplicações de inseticidas na cultura (Moscardi & Sosa-Gomez 1992).

A lagarta-da-soja, *A. gemmatalis* é considerada a principal praga desfolhadora da soja no Brasil, sendo encontrada em praticamente todos os locais de cultivo. Normalmente, ocorre nas lavouras a partir de novembro, nas regiões ao Norte do Paraná, e a partir de dezembro a janeiro em todo o Sul do País, causando desfolhamento que pode chegar a 100% (Hoffmann-Campo *et al.* 2000; Silva 2000). Segundo Sosa-Gomez *et al.* (1993), a planta de soja apresenta excepcional capacidade de recuperação durante o período vegetativo e o florescimento. Já a partir do surgimento de vagens, as plantas tornam-se mais sensíveis ao desfolhamento (Gazzoni & Moscardi 1998), uma vez que é neste período que ocorre o deslocamento de carboidratos das folhas para a formação das vagens e desenvolvimento dos grãos.

Kogan & Fischer (1991) afirmam que o cultivo da soja sob condições tropicais ou subtropicais é mais vulnerável à injúria, provavelmente porque as condições ecológicas favorecem as pragas, e de algum modo diminuem a expressão dos mecanismos de defesa das plantas. Historicamente, as infestações de pragas nas culturas, em geral, têm sido suprimidas com a utilização de produtos químicos. Aproximadamente um terço da produção agrícola mundial é perdida anualmente, devido a insetos e patógenos, apesar do aumento do uso de defensivos agrícolas, que movimentou no Brasil, cerca de US\$ 2,3 bilhões no ano de 2003; sendo 38% deste montante utilizado somente para a cultura da soja. Para 2004, a cifra projetada é de US\$ 2,5 bilhões, em razão da estimativa do aumento na área plantada da soja, em torno de 3 milhões de hectares (SINDAG 2004). Apesar da importância dos inseticidas como ferramenta importante para o controle de insetos em várias culturas, seu uso indiscriminado tem sido ecologicamente nocivo, levando à resistência dos insetos aos produtos utilizados, surtos de pragas secundárias, efeitos adversos em organismos benéficos, resíduos indesejáveis de agroquímicos em alimentos e danos diretos aos aplicadores dos produtos (Smith 1970, citado por Castiglioni-Rosales 1990).

Numa tentativa de adequar o uso dos inseticidas para a redução dos custos de produção, bem como dos impactos ambientais, muitos esforços têm sido empenhados no desenvolvimento de técnicas alternativas de controle de pragas. A utilização de cultivares de plantas com resistência a pragas é considerada como o método ideal de controle, uma vez que as populações podem ser reduzidas abaixo do nível de dano econômico, diminuindo assim a poluição ambiental (Lara 1991). Entre as vantagens, pode-se citar, a menor utilização de inseticidas para o controle das pragas e o aumento dos lucros dos agricultores.

Adicionalmente a esses fatores, atualmente, a demanda por alternativas de controle de pragas que preserve o ambiente e produza alimentos livres de contaminantes é maior a cada dia. O controle de pragas com tecnologias de baixo impacto ambiental contribui, não só para uma agricultura sustentável, como também aumenta a competitividade do agronegócio, agregando valor aos produtos agrícolas. A resistência de plantas a pragas deve ser vista como um componente do programa de manejo integrado de pragas, e não como uma forma isolada de controle (Castiglioni-Rosales 1990).

1.2. Substâncias químicas e seus efeitos em insetos-praga da soja

A resistência a insetos é devida, principalmente, a substâncias químicas (aleloquímicos) presentes nas plantas hospedeiras, tais como alcalóides, flavonóides, terpenóides, esteróides, etc. (Kubo & Hanke 1986). Embora a importância química dessas substâncias seja reconhecida desde a década de 1950, somente na última década a sua utilização pelos melhoristas tem aumentado, devido, principalmente, aos progressos na biologia molecular e genética (Srivastava *et al.* 1999).

A resistência de genótipos a insetos pode ser obtida através do melhoramento das plantas cultivadas, incorporando os fatores de resistência desejados, por métodos tradicionais e engenharia genética. No melhoramento tradicional, objetiva-se o aumento das concentrações de substâncias quimicamente ativas, ou a introdução na planta do fator de resistência, geralmente encontrado na mesma espécie vegetal. Já a biologia molecular, ou engenharia genética, amplia as possibilidades do melhoramento tradicional, pois permite a incorporação de fatores de resistência provenientes de outras espécies vegetais e até mesmo de animais e microrganismos (Vendramim & Castiglioni 2000).

As substâncias químicas desempenham importante função não somente na escolha inicial pelo inseto, como na determinação da quantidade de alimento que o mesmo vai ingerir (Beck 1965; Fraenkel 1969; Jermy 1966; Srivastava *et al.* 1999). De acordo com a classificação empírica de Painter (1951) e Kogan & Ortman (1978), a resistência da soja a insetos pode ser descrita como causada pela não-preferência ou antixenose, indicada pela redução no consumo (Beach & Todd 1988; Killen & Lambert 1986; Kogan 1972; Reynolds *et al.* 1984; Smith & Gilman 1981); ou por antibiose, manifestada através da redução na eficiência de conversão dos alimentos ingeridos em biomassa (Beach & Todd 1988; Reynolds *et al.* 1984; Sharma & Norris 1991), e pela maior mortalidade quando comparada com larvas alimentadas com plantas suscetíveis (Beach & Todd 1988; Hatchett *et al.* 1976; Portillo & Pitre 1992; Reynolds *et al.* 1984; Smith & Gilman 1981).

Os flavonóides são substâncias químicas fenólicas que ocorrem amplamente nas plantas (Bi *et al.* 1997; Dixon & Steele 1999; Harborne 1967; Simmonds 2001), desempenhando as mais variadas funções, tais como, proteção à radiação ultravioleta; insetos; doenças causadas por fungos, bactérias e vírus; atraentes para a polinização (pétalas coloridas); dispersantes de sementes (frutas vermelhas); controladores de

hormônios; estimulantes à produção de nódulos pelos rizóbios; inibidores enzimáticos; antioxidantes e agentes alelopáticos (Markham 1989). Segundo Markham (1982), os flavonóides podem ser divididos em flavonas, flavonóis, antocianina, isoflavona, flavanonas, diidroflavonóis, biflavonóides. Simmonds (2001) afirma que os flavonóides podem ser atraentes, deterrentes, repelentes e tóxicos aos insetos.

Segundo Appel (1993), a ativação dos compostos fenólicos ocorre por oxidação. Essas substâncias são consideradas bloqueadores de consumo foliar, inibidores da digestão e formadores de radicais livres. O efeito bloqueador está relacionado à sensação adstringente, decorrente da capacidade dos compostos fenólicos em precipitar proteínas. Esse autor relata que os radicais de hidroxila formados durante a oxidação dos compostos fenólicos possuem ação tóxica, pois são responsáveis pela ruptura da integridade da membrana e por distúrbios de metabolismo no epitélio intestinal do inseto.

Embora a soja e outras leguminosas não apresentem metabólitos secundários com potencial aleloquímico evidente (Kogan 1986), muitos flavonóides, constitutivos ou induzidos, foram identificados em diferentes órgãos da planta. A rutina (quercitina 3-O-rutinosídeo) foi um dos flavonóides encontrados no genótipo PI 227687 (Hoffmann-Campo 1995). Esse genótipo tem sido amplamente utilizado em programas de melhoramento como fonte de resistência a insetos desfolhadores. Também tem mostrado efeito antibiótico e/ou antinutricional em diversos insetos sugadores (Gilmar *et al.* 1982, Piubelli *et al.* 2003) e mastigadores (Hoffmann-Campo *et al.* 2001; Simmonds 2001; Stamp & Skrobola 1993), contudo seu efeito sobre a lagarta-da-soja ainda não está bem esclarecido.

Os isoflavonóides daidzeína, gliceolinas, sojagol e coumestrol, extraídos da PI 227687 mostraram efeitos antinutricionais e/ou antibióticos em *Trichoplusia ni* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) (Neupane & Norris 1991a; Sharma & Norris 1991). Coumestrol, faseolina e afromorsina também alteraram o desenvolvimento de *Pseudoplusia includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) (Caballero *et al.* 1986). Por outro lado, Burden & Norris (1992) observaram que a concentração de coumestrol na cultivar suscetível Davis, esteve abaixo da dose mínima necessária para alterar o comportamento alimentar de *Epilachna varivestis* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae). A preferência alimentar de *T. ni* foi inversamente proporcional ao teor de fitoalexinas, como as gliceolinas (isoflavonóides induzidos), extraídas de folhas de soja (Neupane & Norris 1991b). Folhas de feijão tratadas com gliceolina foram menos aceitas por

Diabrotica undecimpunctata howardi Barber (Coleoptera: Chrysomelidae) e *E. varivestis*, mas esse tratamento não afetou *Cerotoma trifurcata* (Foster) (Coleoptera: Chrysomelidae), mesmo nas maiores concentrações testadas (Fischer *et al.* 1990). Embora as propriedades antinutricionais das gliceolinas contra insetos desfolhadores tenham sido observadas sob condições experimentais, essas fitoalexinas não mostraram efeito significativo no crescimento, desenvolvimento ou sobrevivência de *P. includens* (Hart *et al.* 1983).

1.3. Manejo integrado de pragas e interações tritróficas

A utilização de técnicas de manejo integrado de pragas (MIP) permitiu a redução da quantidade de inseticidas usualmente utilizada em soja para um terço da expectativa de uso na ausência do MIP (Finardi & Sousa 1980; Moscardi 1993). O controle biológico, tanto através da conservação quanto da liberação inoculativa de inimigos naturais, tem sido um dos fatores responsáveis por essa redução (Moscardi & Sosa-Gomez 1992). O manejo integrado de pragas em soja no Brasil é reconhecido pelos avanços obtidos com o controle biológico da lagarta-da-soja e dos percevejos e está bastante avançado em relação ao manejo adequado de produtos químicos e à seletividade a agentes de controle biológico (Hoffmann-Campo *et al.* 2003). Entretanto, é necessário incrementar o MIP, incorporando mais informações e novas técnicas para o controle de insetos, em especial aquelas ligadas à resistência genética do hospedeiro.

O controle biológico apresenta grande potencial dentro de um programa de MIP, entretanto, a efetividade dos inimigos naturais pode ser influenciada por aspectos morfológicos e bioquímicos das plantas hospedeiras (Price 1986), levando a alterações na sobrevivência, fecundidade, longevidade e comportamento desses agentes. Portanto, as interações no terceiro nível trófico devem ser consideradas cuidadosamente para evitar a incompatibilidade na utilização de cultivares resistentes e o controle biológico (Boethel & Eikenbary 1986), principalmente em culturas como a soja, onde além de inúmeros insetos predadores e parasitóides (Gazzoni *et al.* 1988), muitos patógenos estão associados aos insetos-praga (Moscardi & Sosa-Gomez 1992).

A despeito do sucesso do uso do vírus da poliedrose nuclear para controle de *A. gemmatalis* (VPNMAg) em soja, e da freqüente ocorrência de fungos, como *Nomuraea riley* Farlow (Samson), em muitas áreas (Moscardi 1999), a utilização de inseticidas

químicos para lagartas ainda é muito elevado, especialmente nas áreas de agricultura extensiva do Cerrado. Mesmo a bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner, que está disponível como produto comercial, não é utilizada de maneira satisfatória, em termos de área de utilização, para o controle de pragas na soja, a despeito dos grandes avanços gerados pela pesquisa, na última década. Com relação aos percevejos-praga e seus inimigos naturais, muitos aspectos têm sido estudados. A partir de meados dos anos 80, os trabalhos têm se concentrado em métodos para diminuir o impacto ambiental do controle de percevejos, tais como estudos sobre controle biológico, principalmente parasitóides de ovos, sobre seletividade de inseticidas aos inimigos naturais e diminuição do número de aplicações e doses de inseticidas. Apesar dos excelentes resultados obtidos no programa de controle biológico de percevejos e lagartas, esse método ainda não abrange a maior parte das lavouras de soja, e muitas aplicações de inseticidas ainda são feitas para controle dessas pragas, especialmente para percevejos. Assim, torna-se premente o estudo de resistência genética da soja a insetos e a seleção de fontes de resistência a essas pragas.

Segundo Whitman (1988), o comportamento dos herbívoros e dos seus inimigos naturais (parasitóides, predadores e doenças) depende das substâncias químicas das plantas (Rowell-Rahier & Pasteels 1992). Porém, segundo VanDriesche & Bellows Jr. (1996), citado por Figueira *et al.* (2002), o nível de resistência das plantas não deve ser muito elevado, de forma a suplementar os efeitos dos inimigos naturais existentes. Se for muito alto, poderá reduzir o sistema a um só fator e em conseqüência, tornar a resistência menos estável ao longo do tempo, podendo acelerar a adaptação da praga à variedade.

Assim, é altamente desejável que a resistência de plantas seja usada em combinação e perfeita compatibilidade com outras técnicas de MIP. Embora a interação entre resistência de plantas e controle biológico tenha sido normalmente considerada compatível, Hare (1992) descreve que as interações são divididas basicamente em três categorias: (a) aditivas, quando a redução na densidade da praga pelo uso dos métodos em combinação pode ser obtida pelo efeito de cada tática isoladamente; (b) sinérgicas, quando a redução na densidade da praga pelo uso dos métodos em combinação é maior do que quando usados isoladamente e, (c) antagônicas, quando a redução na densidade da praga pelo uso dos métodos em combinação é menor do que quando usados isoladamente.

A resistência de plantas e o controle biológico podem atuar, portanto, como táticas complementares (Lara 1991). Numerosos estudos indicam a compatibilidade entre os dois métodos de controle em culturas como: arroz (*Oryza sativa* ssp.) (Myint *et al.* 1986), milho (*Zea mays* L.) (Isenhour *et al.* 1989), tomate (*Lycopersicon esculentum* L.) (Farrar & Kennedy 1991, Barbour *et al.* 1997), trigo (*Triticum aestivum* L.) (Farid *et al.* 1994) e cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) (Boiça Jr. *et al.* 1997). Porém, outros estudos mostram a incompatibilidade entre esses dois métodos para algumas espécies de plantas e insetos envolvidos (Bozer *et al.* 1996; Gamarra *et al.* 1999; Weiser & Stamp 1998).

Muitos autores revisaram aspectos relacionados aos efeitos das defesas químicas das plantas sobre o comportamento de predadores, parasitóides e entomopatógenos (Pasteels *et al.* 1983; Barbosa 1988; Whitman 1988) com os resultados mostrando efeitos benéficos ou detrimenais. Cultivares com característica de resistência a insetos podem alterar os níveis das substâncias atrativas, arrestantes ou repelentes aos inimigos naturais (Jones *et al.* 1985) ou podem afetá-los indiretamente, através de efeitos fisiológicos causados nos herbívoros (Price *et al.* 1980). Ainda, o efeito do estresse do inseto causado pela sua alimentação em substratos vegetais, assim como, o efeito direto de substâncias químicas antimicrobianas das plantas sobre a atividade de vírus entomopatogênicos foi observado por diversos autores (Keating & Yendol 1987; Keating *et al.* 1988; Rabindra *et al.* 1994), algumas vezes com interações sinérgicas (Hamm & Wiseman 1986), e outras antagônicas (Felton & Duffey 1990).

Os voláteis das plantas podem ser usados como sinalizadores para os inimigos naturais dos herbívoros para encontrar suas presas ou fornecer-lhes abrigo ou alimento alternativo (Rowell-Rahier & Pasteels 1992). Dicke & Sabelis (1992) sugeriram que as plantas podem chamar por seus “guarda-costas” através da emissão de uma mistura de voláteis. Entretanto, esses voláteis não são emitidos por plantas intactas ou artificialmente danificadas, mas somente os emitem quando atacadas pelas pragas (Sabelis & Van De Baan 1983; Dicke *et al.* 1990).

Os inimigos naturais dos herbívoros, principalmente os especialistas, podem utilizar-se de odores para encontrar a planta e, na seqüência, suas presas. *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae) utiliza sinigrin (óleo de mostarda) como um sinalizador para encontrar a planta hospedeira, assim como seu parasitóide, *Diaeretiella rapae* (McIntoch) (Hymenoptera: Aphidiidae), para encontrar sua presa

(Read *et al.* 1970). Gossipol, uma das substâncias responsáveis pela resistência do algodão ao complexo *Helicoverpa/Heliothis* (Lepidoptera: Noctuidae), atua também como atraente para o parasitóide *Campoletis sonorensis* (Cameron) (Hymenoptera: Ichneumonidae) (Elzen *et al.* 1983). Terpenóides, liberados por plantas danificadas por herbívoros, atuam na atração dos parasitóides *Cotesia marginiventris* (Say) (Hymenoptera: Braconidae) (Turlings *et al.* 1990). Quaiacol, oriundo das fezes de *P. includens*, alimentada em folhas de soja, foi considerado um sinalizador para seu parasitóide *Microplitis demolitor* Wilkinson (Hymenoptera: Braconidae) (Ramachandran *et al.* 1991), sendo interessante essa interação, pois a substância química é um metabólito larval advindo da planta.

O seqüestro ou armazenamento de substâncias tóxicas pelos herbívoros, para a sua própria defesa, tem sido muito bem documentado (Rothschild & Kellet 1972, citado por Whitman 1988; Bernays 1988; Pasteels *et al.* 1988). As toxinas das plantas seqüestradas pelos herbívoros causam, principalmente, efeito deterrente ou repelente sobre seus predadores e parasitóides, mas, em alguns casos, podem ter efeito tóxico, não-comportamental (Rowell-Rahier & Pasteels 1992). Por exemplo, o crescimento dos predadores de ovos de *Heliothis (Helicoverpa) zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) foi adversamente afetado por metil-quetona presente nas folhagens de tomate selvagem (Barbour *et al.* 1997). A rutina foi citada afetando negativamente o crescimento do percevejo predador *Podisus maculiventris* Say (Hemiptera: Pentatomidae), embora não tenha sido observada deterrência do predador por lagartas de *Manduca sexta* (L.) (Lepidoptera: Sphingidae) alimentadas com dieta contendo esse flavonóide (Stamp *et al.* 1991).

Os parasitóides também podem ser negativamente afetados pelas toxinas das plantas. A taxa de desenvolvimento de parasitóides foi reduzida quando seus hospedeiros herbívoros foram anteriormente alimentados em dieta contendo nicotina, gossipol e α -tomatina (Vinson & Barbosa 1987). A última substância, adquirida por *H. zea*, ao se alimentar de tomate, causou a morte do parasitóide *Hyposoter exiguae* (Viereck) (Hymenoptera: Ichneumonidae) (Campbell & Duffey 1979). O efeito detrimental do alcalóide nicotina e do flavonóide rutina em diversos parasitóides foi revisado por Barbosa (1988), sendo observado que o efeito da nicotina sobre *Cotesia congregata* (Say) (Hymenoptera Braconidae) foi mais severo do que o do flavonóide.

A patogenicidade do fungo *N. rileyi* foi diminuída consideravelmente quando *H. zea* ingeriu tomate contendo α -tomatina (Gallardo *et al.* 1990). Contrariamente, Bell

(1978), ao comparar a mortalidade de lagartas de *H. zea* alimentadas em cultivares de soja resistentes ou suscetíveis, tratadas com *N. rileyi* e *B. thuringiensis*, observou que o efeito combinado das duas técnicas resultou em maior mortalidade e em menor tempo, do que cada uma isoladamente. Oliveira (1981) e Oliveira *et al.* (1984) demonstraram efeito semelhante da interação de cultivar resistente e *N. riley* sobre *A. gemmatalis*. As larvas de *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) alimentadas em diferentes espécies de Solanáceas, variaram em susceptibilidade a *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Hare & Andreadis 1983), sendo as larvas mais suscetíveis ao fungo quando criadas nos hospedeiros menos adequados. Da mesma forma, Giustolin *et al.* (2001a e 2001b), utilizando lagartas de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) criadas em folhas de genótipos de tomateiro suscetível (cv. Santa Clara) e resistente (PI 134417) tratadas com suspensão do fungo *B. bassiana* ou da bactéria *B. thuringiensis*, verificaram um aumento da eficiência do controle de *T. absoluta* no genótipo resistente. Esse efeito foi dependente do ínstar em que as lagartas foram alimentadas. Por outro lado, a mortalidade de adultos do percevejo *Blissus leucopterus leucopterus* Say (Hemiptera: Lygaeidae), alimentados em sorgo (*Sorghum vulgare* Pers.) e milho tratado com suspensão de *B. bassiana*, foi reduzida em relação aos outros alimentos (Ramoska & Todd 1985). Os autores mencionam que a presença de aleloquímicos nas duas gramíneas podem ter interferido na patogenicidade do fungo.

Muitos compostos e substâncias foram extraídos, isolados e algumas vezes identificados na soja. Porém, o papel que representam na interação da soja com pragas da cultura não está totalmente esclarecido. Cabe ressaltar que o efeito dos isoflavonóides induzido (fitoalexinas) sobre insetos desfolhadores foi mais estudado que os isoflavonóides constitutivos e os demais grupos de flavonóides. Informações sobre as interações no terceiro nível trófico das pragas com os flavonóides constitutivos são essenciais para o desenvolvimento de cultivares resistentes compatíveis com o controle biológico.

Além disso, as informações sobre as substâncias biologicamente ativas em insetos são importantes, pois a sua detecção precoce pode acelerar o processo de desenvolvimento de cultivares com característica de resistência a pragas, através, principalmente, da biologia molecular. A associação de marcadores moleculares com genes chaves pode fornecer informações importantes que, certamente, podem encurtar os caminhos para a obtenção de cultivares resistentes geneticamente modificados para

resistir a pragas, em programas de melhoramento. Os resultados obtidos poderão ter aplicação direta como tática do manejo integrado de pragas.

1.4. Objetivos

Objetivo geral

- Avaliar a atividade biológica de substâncias químicas de diversos genótipos de soja com característica de resistência, e de rutina sobre *Anticarsia gemmatalis* Hübner, e suas interações com seus inimigos naturais.

Objetivos específicos

- Testar a atividade biológica de frações extraídas de folhas de genótipos de soja com característica de resistência a *A. gemmatalis*;
- Testar a atividade biológica da substância quimicamente pura (rutina) em populações de lagartas resistentes e suscetíveis ao vírus da poliedrose nuclear de *A. gemmatalis* (VPNMAg);
- Identificar e quantificar os flavonóides em genótipos de soja com característica de resistência a insetos pragas;
- Determinar o efeito das interações entre extratos brutos de genótipos de soja com característica de resistência e de rutina em populações de lagartas resistentes e suscetíveis ao VPNMAg;
- Determinar a influência de rutina sobre o desenvolvimento ninfal e desempenho reprodutivo do predador *Podisus nigrispinus* Dallas.

1.5. Literatura Citada

- Appel, H.M. 1993.** Phenolics in ecological interactions: the importance of oxidation. *J. Chem. Ecol.* 19: 1521-1552.
- Barbosa, P. 1988.** Natural enemies and herbivore-plant interactions: influence of plant allelochemicals and host specificity, p. 201-214. In Barbosa, P. & D.K. Letourneau (eds.). *Novel Aspects of Insect-Plant Interactions*. John Wiley & Sons, New York, 362p.
- Barbour, J.D., R.R. Farrar Jr. & G.G. Kennedy. 1997.** Interaction of *Manduca sexta* resistance in tomato with insect predator of *Helicoverpa zea*. *Entomol. Exp. Appl.* 68: 143-155.
- Beach, R.M. & J.W. Todd. 1988.** Foliage consumption and development parameters of the soybean looper and velvetbean caterpillar (Lepidoptera: Noctuidae) reared on susceptible and resistant soybean genotypes. *J. Econ. Entomol.* 81: 310-316.
- Beck, S.D. 1965.** Resistance of plants to insects. *Annu. Rev. Entomol.* 10: 207-232.
- Bell, J.V. 1978.** Development and mortality in bollworms fed resistant and susceptible soybean cultivars treated with *Nomuraea rileyi* or *Bacillus thuringiensis*. *J. Georgia Ent. Soc.* 13: 50-55.
- Bernays, E.A. 1988.** Host specificity in phytophagous insects: selection pressure from generalist predator. *Entomol. Exp. Appl.* 49: 131-140.
- Bi, J.L., G.W. Felton, J.B. Murphy, P.A. Howles, R.A. Dixon & C.J. Lamb. 1997.** Do plant phenolics confer resistance to specialist and generalist insect herbivores? *J. Agric. Food Chem.* 45: 4500-4504.
- Boethel, D.J. & R.D. Eikenbary. 1986.** Interactions of plant resistance and parasitoids and predators of insects. Ellis Horwood Limited, West Sussex, 224p.
- Boiça Jr., A.L., F.M. Lara & M.P. Bellodi. 1997.** Influência de variedades de cana-de-açúcar incorporadas em dieta artificial, no desenvolvimento de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) e no parasitismo de *Cotesia flavipes* (Cam.). *An. Soc. Entomol. Brasil* 26: 537-542.
- Bozer, S.F., M.S. Traugott & N.E. Stamp. 1996.** Combined effects of allelochemical-fed and scarce prey on generalist insect predator *Podisus maculiventris*. *Ecol. Entomol.* 21: 328-334.

- Burden, B.J. & D.M. Norris. 1992.** Role of isoflavonoid coumestrol in the constitutive antixenotic properties of 'Davis' soybeans against an oligophagous insect, the Mexican bean beetle. *J. Chem. Ecol.* 18: 1069-1081.
- Caballero, P., C.M. Smith, F.R. Fronczek, & N.H. Fischer. 1986.** Isoflavones from insect-resistant variety of soybean and the molecular structure of afrormosin. *J. Nat. Prod.* 49: 1126-1129.
- Campbell, B.C. & S.S. Duffey. 1979.** Tomatine and parasitic wasps: potential incompatibility of plant antibiosis with biological control. *Science* 205: 700-702.
- Castiglioni-Rosales, E.A. 1990.** Aspectos biológicos e não preferência para alimentação e oviposição de *Anticarsia gemmatalis* Hubner, 1818 em genótipos de soja [*Glycine max* (L.) Merrill]. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura "Luis de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 160p.
- Dicke, M. & M.W. Sabelis. 1992.** Costs and benefits of chemical information conveyance: proximate and ultimate factors, p. 122-155. In B.D. Roitberg & M.B. Isman (eds.), *Insect Chemical Ecology - An Evolutionary Approach*. New York, Chapman & Hall, 320p.
- Dicke, M., T. Van Beek, M.A. Van Posthumus, N. Ben Dom, H. Van Bokhoven & A.E. Groot. 1990.** Isolation and identification of volatile kairomone that affect acarine predator prey interaction: involvement of host plant in its production. *J. Chem. Ecol.* 16: 381-396.
- Dixon, R.A. & C.L. Steele. 1999.** Flavonoids and Isoflavonoids - a gold mine for metabolic engineering. *Trends of Plant Sci.* 10: 394-400.
- Elzen, G.W., H.J. Williams & S.B. Vinson. 1983.** Response by the parasitoid *Campoletis sonorensis* (Hymenoptera: Ichneumonidae) to chemicals (synomones) in plants: implication for host habitat location. *Environ. Entomol.* 12: 1872-1876.
- Farid, A., J.B. Johnson & S.S. Quisenberry. 1994.** Compatibility of a coccinellid predator with a russian wheat aphid resistant wheat. *J. Kansas Entomol. Soc.* 70: 114-119.
- Farrar Jr., R.R. & G.G. Kennedy. 1991.** Inhibition of *Telenomus sphingis* (Ashmed) (Hymenoptera: Scelionidae) on egg parasitoid of *Manduca* spp. (Lepidoptera: Sphingidae) by trichome/ 2- tridecanone based host plant resistance in tomato. *Entomol. Exp. Appl.* 60: 157-166.
- Felton, G.W. & S.S. Duffey. 1990.** Inactivation of baculovirus by quinones formed in insect damaged plant tissues. *J. Chem. Ecol.* 16: 1221-1236.

- Figueira, L.K., F.M. Lara & I. Cruz. 2002.** Efeitos de genótipos de sorgo sobre o predador *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) alimentado com *Schizaphis graminun* (Rondani) (Hemiptera: Aphididae). Neotrop. Entomol. 31: 133-139.
- Finardi, C.E. & G.L. Sousa. 1980.** Ação da extensão rural no manejo integrado de pragas da soja. Associação de Crédito e Assistência Rural do Paraná, Curitiba, 16p.
- Fischer, D.C., M. Kogan & J. Paxton. 1990.** Effect of glyceollin, a soybean phytoalexin, on feeding by three phytophagous beetles (Coleoptera: Coccinellidae and Chrysomelidae): dose versus response. Environ. Entomol. 19: 1278-1282.
- Fraenkel, G. 1969.** Evaluation of our thoughts on secondary plant substances. Entomol. Exp. Appl. 12: 473-486.
- Gallardo, F., D.J. Boethel, J.R. Fuxa & A. Richter. 1990.** Susceptibility of *Heliothis zea* (Boddie) to *Nomuraea rileyi* (Farlow) Sampson. Effects of α -tomatine at the third trophic level. J. Chem. Ecol. 16: 1751-1759.
- Gamarra, D.C., V.H.P. Bueno, J.C. Moraes & A.M. Aud. 1999.** Influência de tricomas glandulares de *Solanum berthaultii* na predação de *Scymnus* (Pullus) *argentificus* (Weise) (Coleoptera: Coccinellidae) em *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae). An. Soc. Entomol. Brasil 27: 59-65.
- Gazzoni, D.L., E.B. Oliveira, I. Corso, B.S. Correa, G.L. Villas-Boas, F. Moscardi & A.R. Panizzi. 1988.** Manejo de pragas da soja. Londrina, Embrapa Soja, Documentos nº 5, 44p.
- Gazzoni, D.L. & F. Moscardi. 1998.** Effect of defoliation levels on recovery of leaf area, on yield and agronomic traits of soybeans. Pesq. Agropec. Bras. 33: 411-424.
- Gilmar, D.F., M. McPherson, L.D. Newsom, D.C. Herzog & C. Williams. 1982.** Resistance in soybeans to the southern green stink bug. Crop Sci. 22: 573-576.
- Giustolin, T.A., J.D. Vendramim, S.B. Alves & S.A. Vieira. 2001a.** Patogenicidade de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. sobre *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) criada em dois genótipos e tomateiro. An. Soc. Entomol. Brasil 30: 417-421.
- Giustolin, T.A., J.D. Vendramim, S.B. Alves & S.A. Vieira. 2001b.** Efeito associado de genótipo de tomateiro resistente e *Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki* sobre o desenvolvimento de *Tuta absoluta* Meyrick (Lep., Gelechiidae). An. Soc. Entomol. Brasii 30: 461-465.

- Hamm, J.J. & B.R. Wiseman. 1986.** Plant resistance and nuclear polyhedrosis virus for suppression of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Florida Entomol.* 69: 541-549.
- Hare, J.D. 1992.** Effects of plant variation on herbivore-natural enemy interactions. p. 278-298. In R.S. Fritz & E.L. Simms (eds.), *Plant resistance to herbivores and pathogens: ecology, evolution, and genetics*. Chicago, University of Chicago Press, 590p.
- Hare, J.D. & T.G. Andreadis. 1983.** Variation in the susceptibility of *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae) when reared on different host plant to the fungal pathogen, *Beauveria bassiana* in the field and laboratory. *Environ. Entomol.* 12: 1891-1896.
- Harborne, J.B. 1967.** *Comparative biochemistry of the flavonoids*. London, Academic Press, 294p.
- Hart, S.V., M. Kogan & J.D. Paxton. 1983.** Effect of soybean phytoalexins on the herbivorous insect Mexican bean beetle and soybean looper. *J. Chem. Ecol.* 9: 657-672.
- Hatchett, J.H., G.L. Beland & E.E. Hartwig. 1976.** Leaf resistance to bollworm and tobacco budworm in three soybean plant introductions. *Crop Sci.* 16: 277-280.
- SINDAG. 2004.** <http://www.sindag.com.br/news/noticias>, acesso em 16/02/2004.
- Hoffmann-Campo, C.B. 1995.** Role of the flavonoids in the natural resistance of soybean to *Heliothis virescens* (F.) and *Trichoplusia ni* (Hübner). Ph.D. Dissertation, The University of Reading, Reading, 165p.
- Hoffmann-Campo, C.B., F. Moscardi, B.S. Corrêa-Ferreira, L.J. Oliveira, D.R. Sosa-Gomez, A.R. Panizzi, J.C. Corso, D.L. Gazzoni & E.B. Oliveira. 2000.** *Pragas da soja no Brasil e seu manejo integrado*. Londrina, Embrapa Soja, Circular Técnica nº 30, 70p.
- Hoffmann-Campo, C.B., J.B. Harbone & A.R. McAffery. 2001.** Pre-ingestive and post-ingestive effects of soya bean extracts and rutin on *Trichoplusia ni* growth. *Entomol. Exp. Applic.* 98: 181-194.
- Hoffmann-Campo, C.B., L.J. Oliveira, F. Moscardi, D.L. Gazzoni, B.S. Corrêa-Ferreira, I.A. Lorini, M. Borges, A.R. Panizzi, D.R. Sosa-Gomez & I. Corso. 2003.** Integrated pest management in Brazil, p. 285-299. In K.M. Maredia, D. Dakouo & D. Mota-Sanches (eds), *Integrated pest management in the global arena*. Trowbridge, UK, CABI Publishing, Cromwell Press, 512p.

- Isenhour, D.J., B.R. Wiseman & R.C. Clayton. 1989.** Enhanced predation by *Orius insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae) on larvae of *Heliothis zea* and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) caused by prey feeding on resistant corn genotypes. *Environ. Entomol.* 18: 418-422.
- Jermy, T. 1966.** Feeding inhibitors and food preference in chewing phytophagous insects. *Entomol. Exp. Appl.* 9: 1-12.
- Jones, D., A. Jones, T. Hagen & E. Creech. 1985.** Wild species of *Nicotiana* as new source of tobacco resistance to the tobacco hornworm *Manduca sexta*. *Entomol. Exp. Appl.* 38: 157-164.
- Keating, S.T. & W.G. Yendol. 1987.** Influence of selected host plants on gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) larval mortality caused by a baculovirus. *Environ. Entomol.* 16: 459-462.
- Keating, S.T., W.G. Yendol & J.C. Scultz. 1988.** Relationship between susceptibility of gypsy moth larvae (Lepidoptera: Lymantriidae) to a baculovirus and host plant constituents. *Environ. Entomol.* 17: 952-958.
- Killen, T.C. & L. Lambert. 1986.** Evidence for different genes controlling insect resistance in three soybean genotypes. *Crop. Sci.* 17: 397-398.
- Kogan, M. 1972.** Feeding and nutrition of insects associated with soybeans. 2. Soybean resistance and host preference of the Mexican bean beetle, *Epilachana varivestis*. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 65: 675-683.
- Kogan, M. 1986.** Natural chemical in plant resistance to insects. *Iowa State J. Res.* 60: 501-527.
- Kogan, M. & E.E. Ortman. 1978.** Antixenosis – a new term proposed to replace Painter's "non-preference" modality of resistance. *Entomol. Soc. Am. Bull.* 24: 175-176.
- Kogan, M. & D.C. Fischer. 1991.** Inducible defenses in soybean against herbivorous insects, p.347-380. In W.D. Tallamy & M.J. Raupp (eds.), *Phytochemical induction by herbivorous*. New York, John Wiley & Sons, 432p.
- Kubo, I. & F.G. Hanke. 1986.** Chemical methods for isolating and identifying phytochemicals biologically active in insects, p. 225-249. In J.R. Miller & T.A. Miller (eds.), *Insect-plant interactions*. New York, Springer-Verlag, 374p.
- Lara, F.M. 1991.** Princípios de resistência de plantas a insetos. São Paulo: Ícone, 336p.
- Markham, K.R. 1982.** Techniques of flavonoid identification. *Biological Techniques Series*. London, Academic Press, 113p.

- Markham, K.R. 1989.** Flavones, flavonols and their glycosides, p. 197-235. In P.M. Dey & J.B. Harbone (eds.), *Methods in plant biochemistry*. London, Academic Press, 552p.
- Moscardi, F. 1993.** Soybean integrated pest management in Brazil. *FAO Plant protection*. Rome, Bulletin 41: 91-100.
- Moscardi, F. 1999.** Assesment of the application of baculovirus for control of lepidoptera. *Annu. Rev. Entomol.* 44: 257-289.
- Moscardi, F. & D.R. Sosa-Gomez. 1992.** Use of viruses against soybean caterpillars in Brazil, p. 98-107. In L.G. Copping, M.B. Green & R.T. Rees (eds.), *Pest Management in Soybean*. Essex, SCI Elsevier Applied Science, 369p.
- Myint, M.M., H.R. Rapusas & E.A. Heinrichs. 1986.** Integration of varietal resistance and predation for the management of *Nephotettix virescens* populations on rice. *Crop. Prot.* 5: 259-265.
- Neupane, F. & D.M. Norris. 1991a.** α -Tocopherol alteration of soyabean antiherbivory to *Trichoplusia ni* larvae. *J. Chem. Ecol.* 17: 1941-1951.
- Neupane, F. & D.M. Norris. 1991b.** Sulphydryl-reagent alteration of soybean resistance to the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. *Entomol. Exp. Appl.* 60: 239-245.
- Oliveira, E.B. 1981.** Effect of resistant and susceptible soybean genotypes at different phenological stages on development, leaf consumption and oviposition of *Anticarsia gemmatalis*. M.Sc. Thesis. University of Florida, Gainesville, 162p.
- Oliveira, E.B. de, D.C. Herzog & J.L. Stimac. 1984.** Efeito de dois genótipos de soja, resistente e suscetível, na população de *Anticarsia gemmatalis* Hubner e incidência de *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson. *An. Soc. Entom. Brasil* 13: 281-94.
- Painter, R.H. 1951.** Resistance of plants to insects. *Annu. Rev. Entomol.* 3: 267-290.
- Pasteis, J.M., J.C. Grégorie & M. Rowell-Rahier. 1983.** The chemical ecology of defense in arthropods. *Annu. Rev. Entomol.* 28: 263-289.
- Pasteels, J.M., M. Rowell-Rahier & M.J. Raupp. 1988.** Plant-derived defense in chrysomelid beetles, p. 235-272. In P. Barbosa, & D.K. Letourneau (eds.), *Novel Aspects of Insect-Plant Interactions*. New York, John Wiley & Sons, 362p.
- Piubelli, G.C., C.B. Hoffmann-Campo, I.C. Arruda & F.M. Lara. 2003.** Nymphal development, lipid content, growth and weight gain of *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae) fed on soybean genotypes. *Neotrop. Entomol.* 32: 127-132.

- Portillo, H.E. & H.N. Pitre. 1992.** Effect of four soybean genotypes on the development and fecundity of *Heliothis virescens* and *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae). Florida Entomol. 75: 386-390.
- Price, P.W. 1986.** Ecological aspects of host plant resistance and biological control: interactions among three trophic levels, p 11-30. In D.J. Boethel & R.D. Eikenbary (eds.), Interactions of plant resistance and parasitoids and predators of insects. Chichester, UK, Ellis Horwood, 224p.
- Price, P.W., C.E. Bouton, P. Gross, B.A. McPherson, J.N. Thompson & A.E. Weis. 1980.** Interactions among three trophic levels: influence of plants on interactions between insects herbivores and natural enemies. Annu. Rev. Ecol. Syst. 11: 41-65.
- Rabindra, R.J., M. Muthuswami & S. Jayaraj. 1994.** Influence of host plant surface environment on the virulence of nuclear polyhedrosis virus against *Helicoverpa armigera* (Hbn.) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. J. Appl. Entomol. 118: 453-460.
- Ramanchandran, R., D.M. Norris, J.K. Phillips & T.W. Phillips. 1991.** Volatiles mediating plant-herbivore-natural enemies interactions: soybean looper frass volatiles 3-octanone and guaiacol, as kairomones for the parasitoid *Microplitis demolitor*. J. Agric. Food Chem. 39: 2310-2317.
- Ramoska, W.A. & T. Todd. 1985.** Variation in efficacy and variability of *Beauveria bassiana* in the chinch bug (Hemiptera: Lygaeidae) as a result of feeding activity on selected host plants. Environ. Entomol. 14: 146-148.
- Read, D.P., P.P. Fenny & R.B. Root. 1970.** Habit selection by the aphid parasite, *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: Braconidae) and hyperparasite *Charips brassicae* (Hymenoptera: Cynipidae). Can. Entomol. 102: 1567-1578.
- Reynolds, G.W., C.M. Smith & K.M. Kester. 1984.** Reductions in consumption, utilization, and growth rate of soybean looper (Lepidoptera: Noctuidae) larvae fed foliage of soybean genotype PI 227687. J. Econ. Entomol. 77: 1371-1375.
- Rowell-Rahier, M. & Pasteels, J.M. 1992.** Third trophic level influence of plant allelochemicals, p. 243-277. In G.A. Rosenthal & M.R. Berenbaum (eds.), Herbivores: their interaction with secondary plant metabolites. San Diego, Academic Press, 452p.
- Sabelis, M.W. & H.E. Van De Baan. 1983.** Localization of distant spider mite colonies by phytoseiid predators: demonstration of specific kairomones emitted by *Tetranychus urticae* and *Panonychus ulmi*. Entomol. Exp. Appl. 33: 303-314.

- Sharma, H.C. & D.M. Norris. 1991.** Chemical basis of resistance in soya bean to cabbage looper, *Trichoplusia ni*. J. Sci. Food Agric. 55: 353-364.
- Silva, M.T.B. 2000.** Manejo de insetos nas culturas de milho e soja, p. 169-200. In J.M. Guedes, I.D. Costa & E. Castiglioni (eds.), Bases e técnicas do manejo integrado de pragas. Santa Maria, UFSM/ CCR/ DFS, Pallotti, 234p.
- Simmonds, M.S.J. 2001.** Importance of flavonoids in insect-plant interactions: feeding and oviposition. Phytoch. 56: 245-252.
- Smith, C.M. & D.F. Gilman. 1981.** Comparative resistance of multiple insect-resistant genotypes to soybean looper. J. Econ. Entomol. 74: 400-403.
- SINDAG. 2004.** <http://www.sindag.com.br/news/noticias>, acesso em 16/02/2004.
- Sosa-Gomez, D.R., D.L. Gazzoni, B. Correia-Ferreira & F. Moscardi. 1993.** Pragas da soja e seu controle, p 299-331. In N.E. Arantes & P.I.M. Souza (eds.), Cultura da soja nos Cerrados. Piracicaba, Potafós, 535p.
- Srivastava, R., Y.N. Shukla & S. Kumar. 1999.** Recent advances in the chemistry of insect antifeedants. J. Med. Arom. Plant Sci. 21: 59-76.
- Stamp N.E. & C.M. Skrobola. 1993.** Failure to avoid rutin diets results in altered food utilization and reduced growth rate of *Manduca sexta* larvae. Entomol. Exp. Appl. 68 127-142.
- Stamp, N.E., T. Erskine & C.J. Paradise. 1991.** Effects of rutin-fed caterpillars on an invertebrate predator depend on temperature. Oecologia 88: 289-295.
- TECNOLOGIAS de Produção de Soja - Região Central do Brasil 2004. 2003.** Londrina, Embrapa Soja: Embrapa Agropecuária Oeste: Embrapa Cerrados: EPAMIG: Fundação Triângulo (Embrapa Soja. Sistemas de Produção, 4), 237p.
- Turlings, T.C.J, J.H. Tumlinson & W.J. Lewis. 1990.** Exploitation of herbivore-induced plant odors by host-seeking parasitic wasps. Science 250: 1251-1252.
- Vendramim, J.D. & E. Castiglioni. 2000.** Aleloquímicos, resistência de plantas e plantas inseticidas, p. 113-128. In J.C. Guedes, I.D. Costa & E. Castiglioni (eds), Bases e técnicas do manejo integrado de insetos. Santa Maria, UFSM/CCR/DFS, Pallotti, 248p.
- Vinson, S.B. & P. Barbosa. 1987.** Interrelationship of nutritional ecology of parasitoids, p. 673-695. In F. Slanski, & J.G. Rodriguez (eds), Nutritional ecology of insects, mites, and spiders and related invertebrates. New York, John Wiley & Sons, 880p.

- Weiser, L.A. & N.E. Stamp. 1998.** Combined effects of allelochemicals, prey availability, and supplemental plant material on growth of a generalist predator. *Entomol. Exp. Appl.* 87: 181-189.
- Whitman, D.W. 1988.** Allelochemical interactions among plants, herbivores, and their predators, p. 11-64. In P. Barbosa, & D.K. Letourneau (eds), *Novel aspects of insect-plant interactions*. New York, John Willey & Sons, 362p.

CAPÍTULO 2

Aspectos biológicos e fisiológicos de *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) em diversos genótipos de soja resistentes a insetos

2.1. Introdução

A lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), é considerada um dos insetos pragas mais importantes da cultura de soja [*Glycine max* (L.) Merrill] (Fabaceae) no Brasil, provocando sérios desfolhamentos, e conseqüentemente, perdas significativas no rendimento dessa cultura. A resistência de plantas é uma técnica alternativa de controle de insetos que apresenta vantagens sobre as demais, uma vez que não requer tecnologia sofisticada por parte dos agricultores. Além disso, não apresenta custos adicionais, pois esse fator já está embutido nas sementes, e não causa poluição ambiental. Assim, esforços têm sido empregados em várias culturas para se obter linhagens e cultivares com, no mínimo, moderado nível de resistência a pragas.

A resistência a insetos é devida, principalmente, a substâncias químicas presentes nas plantas hospedeiras (Kubo & Hanke 1986), compostos estes que podem causar uma série de efeitos antibióticos e/ou antinutricionais em diversos insetos-pragas. De acordo com a natureza dos compostos envolvidos, as defesas das plantas podem ser constitutivas (independente de estresse) ou induzidas (dependente de estresse). Os dois mecanismos são de difícil separação, principalmente porque as respostas das plantas podem ser elicitadas por fatores ambientais. A identificação dessas substâncias, e o papel que desempenham nas interações dos insetos com as plantas, podem orientar os geneticistas no sentido de mantê-las nas gerações descendentes, uma vez que constituem parte do arsenal de defesa das plantas contra herbívoros.

Estudos realizados com os genótipos PI 171451, 227658 e 229358 revelaram sua característica como fontes de resistência para insetos desfolhadores, tais como *Epilachna varivestis* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) (Van Duyn *et al.* 1971, 1972) *Cerotoma trifurcata* (Foster) e *Heliothis (Helicoverpa) zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) (Clark *et al.* 1972). Posteriormente, foi demonstrado que essas PIs apresentavam resistência a outras pragas, como *Heliothis virescens* (F.) (Lepidoptera:

Noctuidae) (Hatchett *et al.* 1976; Hoffmann-Campo 1995), *Trichoplusia ni* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) (Luedders & Dickerson 1977; Hoffmann-Campo *et al.* 2001), *Pseudoplusia includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) (Killen *et al.* 1977), *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae) e *Colaspis* sp. (F.) (Coleoptera: Chrysomelidae) (Rezende & Miranda 1980), *A. gemmatalis* (Lambert & Killen 1984) e *Spodoptera* sp. (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) (Beach & Todd 1987). Essas PIs também demonstraram ser moderadamente resistentes a insetos sugadores como *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae) (Piubelli *et al.* 2003a e 2003b; Jones & Sullivan 1979), *Acrosternum hilare* (Say) (Hemiptera: Pentatomidae) e *Euschistus* spp. (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) (Jones & Sullivan 1979).

Essas PIs não apresentam características agronômicas adequadas para a pronta utilização, porém, por meio de trabalhos realizados por melhoristas, já foram obtidas e desenvolvidas linhagens, delas descendentes, que foram utilizadas como fontes de resistência (Hatchett *et al.* 1979; Hartwig *et al.* 1984; Killen 1990), para finalmente dar origem, nos EUA, a cultivares como Lamar (Hartwig *et al.* 1990) e Crockett (Bowers 1990). Esses cultivares apresentam moderados níveis de resistência a insetos desfolhadores e características agronômicas adequadas.

Em testes em campo, materiais genéticos que possuem a PI 272454 como ascendente, apresentaram menor desfolhamento quando comparadas a testemunhas suscetíveis (Rezende *et al.* 1980). A cultivar IAC-100, que possui os genótipos IAC 78-2318 e IAC-12 como parentais, além dos genótipos PI 274454 e PI 229358 em sua genealogia, foi lançada pelo programa de melhoramento do Instituto Agronômico de Campinas (IAC), por apresentar a característica de resistência a percevejos fitófagos e desfolhadores da soja, possuindo, também, boas características agronômicas (Rossetto *et al.* 1990; Rossetto *et al.* 1995; Veiga *et al.* 1999).

Testes de dupla escolha foram desenvolvidos no Centro Nacional de Pesquisa de Soja (Embrapa Soja), para avaliar a preferência alimentar de *A. gemmatalis* (Hoffmann-Campo *et al.* 1994), sendo os genótipos BR82-12547, IAC74-2832, PI 227687, PI 229358, PI 274454 rejeitados pelas lagartas. Além disso, Oliveira *et al.* (1993) testaram o efeito de genótipos de soja na biologia, no consumo e na utilização dos alimentos. Nesse teste, as lagartas alimentadas com folhas de 'IAC-100' apresentaram desenvolvimento larval prolongado e menor peso em relação aos demais genótipos testados.

Muitas tentativas têm sido feitas para investigar não somente a base química da soja, mas também as correlações de substâncias químicas e a resistência a pragas e doenças. Smith *et al.* (1979) observaram que fêmeas do besouro mexicano (*E. varivestis*) comeram mais discos de papel-filtro contendo extrato aquoso de folhas de soja (cv Forrest) do que os discos tratados com sucrose ou extratos obtidos a partir de clorofórmio/metanol. Binder & Waiss (1984), ao testar vários extratos da PI 229358, misturados em dieta artificial, observaram que o extrato contendo substâncias solúveis em água alongou o período de desenvolvimento de larvas de *H. zea*. O consumo de dieta artificial, a qual foi incorporado extrato de folhas da PI227687, obtido em dicloro metano (CH₂Cl₂), reduziu o peso e aumentou a mortalidade das larvas de *P. includens* (Smith & Fisher 1983).

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes extratos de genótipos de soja, sobre alguns aspectos biológicos e fisiológicos do estágio larval da lagarta-da-soja, *A. gemmatalis*.

2.2. Material e Métodos

2.2.1. Genótipos de soja

Os genótipos 'BR-16', PI 229358, PI 227687, PI 274454, e 'IAC-100' foram utilizados nos experimentos. Sua genealogia ou origem é apresentada na Tabela 1.

Tabela 1. Genealogia ou origem dos genótipos de soja utilizados nos testes de resistência de *Anticarsia gemmatalis*

Genótipo	Origem
'BR-16'	D 69-1310-M58 (D 49-772 x D 49-2491) x 'Davis'
PI 229358	Tóquio, Japão
PI 227687	Okinawa, Japão
PI 274454	Okinawa, Japão
'IAC-100'	IAC 78-2318 x IAC-12

Fonte: Valle & Lourenção (2002)

Os genótipos foram semeados em casa de vegetação da Embrapa Soja, em vasos com capacidade de cinco litros, na quantidade de 10 sementes por vaso, deixando-se após desbaste, apenas quatro plantas. As folhas foram colhidas quando estavam no estágio V6 (Fehr & Caviness 1977), sendo conduzidas para o Laboratório e secas em estufa por 72h a 60°C.

2.2.2. Preparo dos extratos

Para o preparo dos extratos, foram utilizados 50 g de folhas secas dos diferentes genótipos, sendo esse valor, o equivalente ao peso do total da matéria seca dos ingredientes utilizados para 250 ml de dieta (Greene *et al.* 1976, modificada por Hoffmann-Campo *et al.* 1985), necessários ao experimento. As folhas secas foram acondicionadas em copos de Becker com capacidade de 4.000 ml, onde foram adicionados 1.200 ml de etanol (EtOH) a 40%. Posteriormente, o recipiente foi levado a um agitador a 100 r.p.m. por aproximadamente 18h, e o extrato filtrado em funil de Buckner com papel de filtração rápida quantitativa Framex.

O extrato foi reduzido a um volume final de aproximadamente 20 ml em evaporador rotatório (60 r.p.m.) com banho maria (40°C) e eluído em coluna cromatográfica aberta, de vidro, com área de 3,0 x 25,0 cm. Como adsorvente foi utilizado Amberlite estabilizado com água pH 2,0 (acidificada com HCl 1,0 N). As fases móveis da coluna foram 250 ml de água pH 2,0; 500 ml de água pH 7,0 e 2.000 ml de metanol (MeOH) a 80%. Os extratos resultantes da eluição em água pH 2,0 e pH 7,0 foram descartados. Já o eluído com MeOH a 80% foi concentrado em evaporador rotatório. O extrato concentrado foi conservado em freezer (-17°C) até sua utilização, quando foi adicionado em dieta artificial de *A. gemmatalis*. Como testemunha utilizou-se a dieta padrão (sem adição de extratos).

2.2.3. Condução do experimento

Lagartas (*A. gemmatalis*) de 2^o para 3^o ínstar, provenientes do laboratório de criação massal da Embrapa Soja, criadas desde a eclosão em suas respectivas dietas, foram individualizadas para a realização dos bioensaios, em copos de acrílico pequenos com tampas de papelão esterilizadas, facilitando assim a visualização da lagarta. Os copos foram colocados em bandejas com tampa para evitar a perda de umidade (Figura 1). Os tratamentos foram mantidos em câmara de criação tipo B.O.D., sob condições controladas de temperatura, umidade e fotofase de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ UR e 12h, respectivamente. As lagartas foram avaliadas diariamente, observando-se a mortalidade e o tempo de desenvolvimento de cada estágio. Por ocasião da individualização, foi avaliado o peso inicial (fresco e seco). Além disso, avaliou-se

também, peso de pupa (fresco e seco), o peso seco do alimento não consumido e das fezes produzidas pelo inseto.

Para a obtenção do peso seco inicial das lagartas, foram retiradas 5 lagartas por tratamento que, após serem pesadas, foram mortas e secas em estufa por 72h (60°C) e novamente pesadas. O fator de correção médio, calculado pela divisão entre o peso seco e fresco das lagartas, foi multiplicado pelo peso fresco de cada lagarta do experimento, obtendo-se, assim, o seu peso seco inicial. O mesmo procedimento foi adotado para o cálculo do peso seco da dieta oferecida aos insetos; após a pesagem, as dietas contidas em 5 copos por tratamento foram secas (72h, 60°C) e novamente pesadas para obtenção do fator de correção peso fresco/peso seco. Após ser oferecida às lagartas, a dieta remanescente no copo foi separada das fezes, sendo ambas secas em estufa, nas condições descritas acima e pesadas. A obtenção da quantidade de dieta consumida pelas lagartas foi feita subtraindo-se do peso seco da dieta colocada em cada copo, a quantidade de dieta restante nos copos.

As pré-pupas foram individualizadas em copos com vermiculita e mantidas sob condições controladas de temperatura, luz e umidade, conforme descrito anteriormente. Após 48h da transformação em pupa, realizou-se a sua pesagem (peso fresco). Para se obter os pesos secos, as pupas foram mantidas em estufa por 72h a 60°C e, em seguida, realizou-se a pesagem.

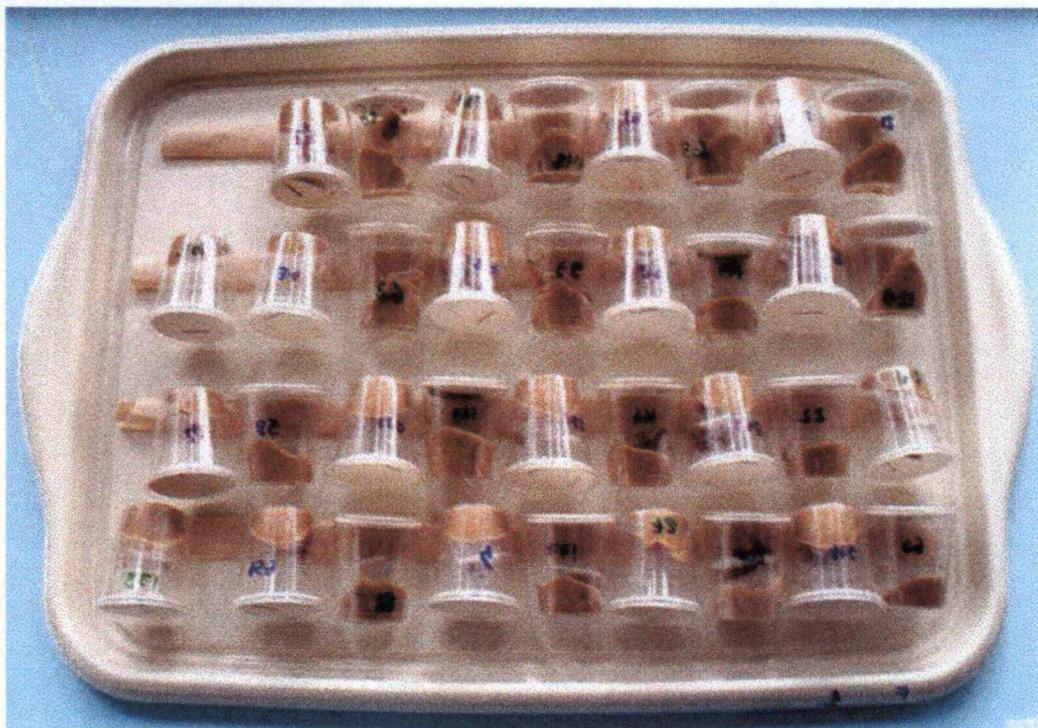


Figura 1. Bandejas com copos contendo dieta para *Anticarsia gemmatalis* para a realização de bioensaios de resistência de genótipos de soja

2.2.4. Análise estatística

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, com seis tratamentos (testemunha, 'BR-16', PI 229358, PI 227687, PI 274454 e 'IAC-100') e 30 repetições, em cada experimento. A avaliação de parâmetros biológicos foi realizada três vezes em um período de um ano. A análise dos dados dos quadrados médios possibilitou a junção dos experimentos. As variáveis respostas consideradas neste trabalho foram: mortalidade de lagartas, peso inicial de lagartas (mg) (fresco e seco), peso de pupa (mg) (fresco e seco), tempo de desenvolvimento em cinco ínstaes (dias), tempo de desenvolvimento total (dias), dieta consumida (mg) e peso de fezes (mg).

A mortalidade foi analisada pelo teste de qui-quadrado (χ^2), conforme Banzatto & Kronka (1992), ao nível de 5% de probabilidade. As demais variáveis foram analisadas considerando-se três etapas. Na primeira, realizaram-se os testes estatísticos que verificaram se todos os pressupostos requeridos pela análise de variância (ANOVA) foram atendidos. Em seguida, foram feitas as análises de variância com testes de médias de Tukey para tratamentos, ao nível de 5% de probabilidade e, na última etapa, foram realizadas as análises de covariância (ANCOVA), para os casos das variáveis respostas mensuradas estarem interferindo no efeito de outra variável. Para as análises estatísticas deste trabalho foi utilizado o pacote estatístico SAS-Statistical Analysis System (SAS Institute 1996).

A análise de covariância (ANCOVA), proposta por Raubenheimer & Simpson (1992), foi utilizada para estimar o crescimento, consumo alimentar, eficiência na assimilação e conversão dos alimentos ingeridos e digeridos em biomassa, além do ganho do peso. Todas as análises de covariância foram realizadas utilizando-se os pesos secos das variáveis.

O crescimento e o consumo para os diferentes tratamentos foram obtidos pelo ajuste, respectivamente, do peso de pupa e quantidade de dieta consumida pela covariável tempo de desenvolvimento. O ganho de peso foi estimado através do ajuste de peso de pupa pela covariável peso inicial. O peso de pupa, nos diferentes tratamentos, foi ajustado pela quantidade de dieta consumida e digerida (quantidade de dieta consumida menos a quantidade de fezes produzida pelas lagartas) com o objetivo de determinar a eficiência de conversão dos alimentos ingeridos e digeridos, respectivamente, em biomassa. A assimilação dos alimentos foi obtida através da

correção da quantidade de fezes produzida pela covariável quantidade de dieta consumida.

Após a realização da ANCOVA, considerou-se o efeito dos tratamentos ajustados pela covariável, quando a interação entre a covariável e o tratamento foi significativa. Entretanto, se a interação (covariável x tratamento) não foi significativa, utilizou-se o modelo de linhas paralelas, considerando-se somente o efeito dos tratamentos. Neste caso as médias foram comparadas através das médias da ANCOVA, ou médias dos quadrados médios. A ANCOVA constitui-se numa alternativa para os índices nutricionais propostos por Waldbauer (1968), pois este método padrão tem mostrado problemas metodológicos (Schmidt & Reese 1986; Van Loon 1991) e estatísticos (Raubenheimer 1995; Raubenheimer & Simpson 1992).

2.3. Resultados e Discussão

2.3.1. Mortalidade, tempo de desenvolvimento, peso inicial, peso de pupa, dieta consumida e peso de fezes de *Anticarsia gemmatalis*

Quando as lagartas se alimentaram das dietas contendo extratos dos genótipos PI 274454 e 'IAC-100', a mortalidade total foi maior (33,4%), seguida pelas lagartas alimentadas em dieta contendo extrato da PI 227687 (26,7%). Sendo essas diferenças comparadas com o valor de $\chi^2_{(5; 0,05)} = 58,61$ (Tabela 2). As maiores porcentagens de mortalidade ocorreram nos 3º e 4º ínstars, quando as lagartas foram alimentadas com dietas contendo extratos de PI 274454 e 'IAC-100', e no 6º ínstar, quando os insetos se alimentaram com dieta contendo extrato da PI 227687.

Tabela 2. Porcentagem de mortalidade de *Anticarsia gemmatalis* alimentadas em dieta artificial contendo diferentes extratos de genótipos de soja. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Tratamento	Ínstar larval					Total
	2º /3º	3º	4º	5º	6º	
Testemunha	0,0	1,1	0,0	1,1	0,0	2,2
'BR-16'	0,0	1,7	0,0	0,0	0,0	1,7
PI 229358	0,0	1,7	0,0	1,7	1,7	5,1
PI 227687	0,0	1,7	8,3	6,7	10,0	26,7
PI 274454	1,7	11,7	11,7	5,0	3,3	33,4
'IAC-100'	1,7	11,7	13,3	3,3	3,3	33,4
χ^2	4,45 ^{ns}	20,05 ^{***}	29,64 ^{***}	8,86 ^{ns}	18,18 ^{***}	58,61 ^{***}

ns- não significativo, *** $P < 0,001 - \chi^2_{(5; 0,05)}$

Hoffmann-Campo (1995), estudando a biologia de *H. virescens* em extratos de genótipos de soja, verificou porcentagem de mortalidade de 45,0% na PI 227687 e apenas 10,0% na PI 229358. Essa autora discute ainda os dados obtidos por Hatchett *et al.* (1976) que observaram 86,7% e 100,0% de mortalidade nesses dois genótipos, respectivamente. Entretanto, enquanto a primeira autora estudou o efeito dos extratos puros dos genótipos adicionados em dieta artificial, os segundos autores estudaram os efeitos diretos da alimentação dos insetos nas folhas dos genótipos resistentes. Provavelmente a contribuição do genótipo PI 229358 venha de algum fator morfológico (Soo Hoo & Fraenkel 1966), que também no presente experimento foi eliminado após a extração, pois lagartas que se alimentaram de dieta contendo extratos desse genótipo, apresentaram apenas 5,1% de mortalidade.

O tempo de desenvolvimento de *A. gemmatalis* (total e em cada ínstar) foi afetado pelos diferentes alimentos oferecidos às lagartas (Tabela 3). Esse foi maior quando as lagartas se alimentaram em dietas contendo extratos desses genótipos; 14,0 dias (PI 274454), 13,7 dias (PI 227687) e 13,0 dias ('IAC-100'), em comparação com 7,3 dias em dieta sem extrato (testemunha). Em todos os ínstars, os extratos dos genótipos PI 274454, PI 227687 e 'IAC-100' foram responsáveis pelo prolongamento da fase larval do inseto. Segundo Scriber & Slanski Jr. (1981), o aumento no período de desenvolvimento dos insetos ocorre devido ao alimento com baixa qualidade

nutricional, ou pela presença de toxinas. Esse fenômeno também foi observado no terceiro, quarto e quinto ínstar de *Manduca sexta* (L.) quando as lagartas se alimentaram de genótipos com características de resistência (Horwath & Stamp 1993; Stamp 1990; Stamp & Horwath 1992). Esses prolongamentos ocorreram, principalmente, por ocasião das mudanças de ínstar (Stamp 1986, citado por Stamp & Horwath 1992).

Tabela 3. Tempo de desenvolvimento larval (dias) (Média \pm EP) de *Anticarsia gemmatalis* alimentadas em dieta artificial contendo diferentes extratos de genótipos de soja. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Tratamento	Número de dias/ ínstar				Total (dias)
	3 ^o	4 ^o	5 ^o	6 ^o	
Testemunha	1,4 \pm 0,05 c	2,1 \pm 0,04 d	1,6 \pm 0,06 c	1,2 \pm 0,05 d	7,3 \pm 0,06 c
'BR-16'	2,0 \pm 0,08 b	2,6 \pm 0,12 cd	1,7 \pm 0,11c	2,2 \pm 0,13 bc	9,9 \pm 0,28 b
PI 229358	2,1 \pm 0,08 b	3,0 \pm 0,17 bc	2,1 \pm 0,13 bc	2,0 \pm 0,17 c	10,7 \pm 0,30 b
PI 227687	2,6 \pm 0,12 a	3,8 \pm 0,23 a	2,5 \pm 0,23 ab	3,3 \pm 0,28 a	13,7 \pm 0,42 a
PI 274454	2,8 \pm 0,19 a	4,0 \pm 0,25 a	2,8 \pm 0,21 a	2,8 \pm 0,34 ab	14,0 \pm 0,60 a
'IAC-100'	3,0 \pm 0,20 a	3,5 \pm 0,26 ab	2,6 \pm 0,25 ab	2,0 \pm 0,14 c	13,0 \pm 0,57 a
Valor de F	35,86***	23,28***	11,54***	20,14***	75,46***

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

*** $P < 0,001$

Nas variáveis peso seco inicial das lagartas (2^o /3^o ínstar), peso seco de pupas, quantidade de dieta consumida e peso de fezes houve interferência significativa pelos diferentes tratamentos (Tabela 4). O peso inicial das lagartas foi influenciado negativamente pelos genótipos PI 227687 e 'IAC-100' (Tabela 4). Lagartas que se alimentaram de dieta sem adição de extratos apresentaram peso seco inicial de 0,56 mg, enquanto lagartas alimentadas com PI 227687 e 'IAC-100' apresentaram pesos secos, respectivamente, de 0,29 e 0,26 mg. O genótipo PI 227687 proporcionou, também, o menor peso seco de pupa (64,4 mg); entretanto, esse valor não foi diferente dos pesos de pupa de insetos que se alimentaram de dietas contendo extratos dos genótipos PI 274454 (68,3 mg), 'IAC-100' (74,6 mg) e 'BR-16' (86,0 mg). Insetos que se alimentaram de dieta com extrato da PI 229358 e testemunha apresentaram os maiores pesos secos de pupa (96,6 e 87,9 mg, respectivamente) (Tabela 4). Segundo

Bernays & Chapman (1987), menor performance em uma dieta particular pode ser devido à redução na alimentação causada pela presença de deterrentes ou ausência de fagoestimulantes.

Lagartas alimentadas com dieta contendo extratos de 'IAC-100' (289,7 mg), 'BR-16' (281,5 mg) e testemunha (279,1 mg) consumiram mais do que as alimentadas nas demais dietas. As lagartas consumiram menos, quando o extrato da PI 274454 foi adicionado à dieta (235,3 mg) (Tabela 4). A maior e menor quantidade de fezes produzida pelas lagartas, foram observadas, respectivamente, quando extratos de 'BR-16' e PI 274454 foram adicionados à dieta dos insetos (Tabela 4).

Tabela 4. Peso seco inicial de lagartas de 2^o/3^o ínstar (mg), peso seco de pupa (mg), dieta consumida (mg), peso de fezes (mg) (Média ± EP) de *Anticarsia gemmatalis* alimentadas em dieta artificial contendo diferentes extratos de genótipos de soja. Temperatura de 25 ± 2°C, UR de 70 ± 10% e fotofase de 12h.

Tratamento	Peso seco inicial de lagartas (mg)	Peso seco de pupa (mg)	Dieta consumida (mg)	Peso de fezes (mg)
Testemunha	0,56 ± 0,01 a	87,9 ± 3,52 ab	279,1 ± 4,80 a	144,4 ± 3,29 ab
'BR-16'	0,31 ± 0,01 bc	86,0 ± 5,58 abc	281,5 ± 8,06 a	161,1 ± 4,81 a
PI 229358	0,41 ± 0,005 b	96,6 ± 5,73 a	258,4 ± 8,08 ab	145,1 ± 5,24 ab
PI 227687	0,29 ± 0,009 d	64,4 ± 4,41 c	259,5 ± 8,41 ab	144,9 ± 5,15 ab
PI 274454	0,36 ± 0,01 bc	68,3 ± 5,98 bc	235,3 ± 7,49 b	132,7 ± 5,37 b
'IAC-100'	0,26 ± 0,009 d	74,6 ± 6,44 abc	289,7 ± 10,00 a	147,4 ± 6,33 ab
Valor de F	59,14***	5,22***	5,55***	3,13***

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

*** P < 0,001

A resistência de plantas a insetos pode afetar a fisiologia (antibiose) ou o comportamento dos insetos (antixenose). Como os fatores morfológicos (tricomas, espinhos etc) foram descartados após a extração, a resistência foi provavelmente em decorrência dos fatores químicos (Soo Hoo & Fraenkel 1966). No caso específico da soja, o mais provável é que a resistência seja devida à presença de flavonóides, uma vez que os três genótipos que apresentaram maior bioatividade (PI 274454, PI 227687 e 'IAC-100') possuem vários flavonóides em sua composição, entre eles a rutina (Hoffmann-Campo 1995). Essa substância tem sido relatada causando efeito antibiótico

e/ou antinutricional em insetos mastigadores que atacam a soja (Hoffmann-Campo *et al.* 2001). As lagartas que se alimentaram do genótipo 'IAC-100' consumiram maior quantidade de dieta, mas mostraram elevada mortalidade, provavelmente devido à ingestão de compostos tóxicos, pois não se observou a deterrência alimentar. Segundo Lara (1991), uma mesma planta pode possuir até os três tipos de resistência e, quando isso acontece, eles são governados por diferentes genes. Portanto, seu conhecimento é necessário, pois sendo condicionados por fatores genéticos distintos, estes poderão ser acumulados numa mesma planta para aumentar o seu grau de resistência.

2.3.2. Crescimento, consumo alimentar, eficiência na assimilação e conversão dos alimentos ingeridos e digeridos em biomassa e ganho do peso de *Anticarsia gemmatalis*

A covariável tempo de desenvolvimento e as diferentes dietas oferecidas interferiram no peso de pupa dos insetos, ou seja, o crescimento do inseto foi dependente de uma interação entre o tempo de desenvolvimento e a dieta (Tabela 5). Conseqüentemente, essa relação não pode ser representada pelo modelo de linhas paralelas. Observou-se tendência negativa no crescimento dos insetos que se alimentaram dos genótipos 'BR-16', PI 229358, PI 274454 e 'IAC-100' (Figura 2). Mesmo aqueles insetos que se alimentaram por um período mais prolongado, não apresentaram aumento proporcional no peso de pupa.

Tabela 5. Análise de Covariância (ANCOVA) para verificar os efeitos dos diferentes extratos dos genótipos de soja no ajuste de peso de pupa de *Anticarsia gemmatalis* e quantidade de dieta consumida pela covariável tempo de desenvolvimento.

Variação	GL	Valor de F	
		Peso de pupa	Dieta consumida
Tempo de desenvolvimento (Covariável)	1	34,01***	19,10***
Tratamento	5	3,15**	0,99 ^{ns}
Tempo de desenvolvimento x Tratamento	5	3,00*	0,58 ^{ns}
Resíduo	290	-	-
Tratamento	5	-	4,28**
Tempo de desenvolvimento	1	-	19,23***
Resíduo	295	-	-

* P < 0,05, ** P < 0,01, *** P < 0,001, ns- não significativo

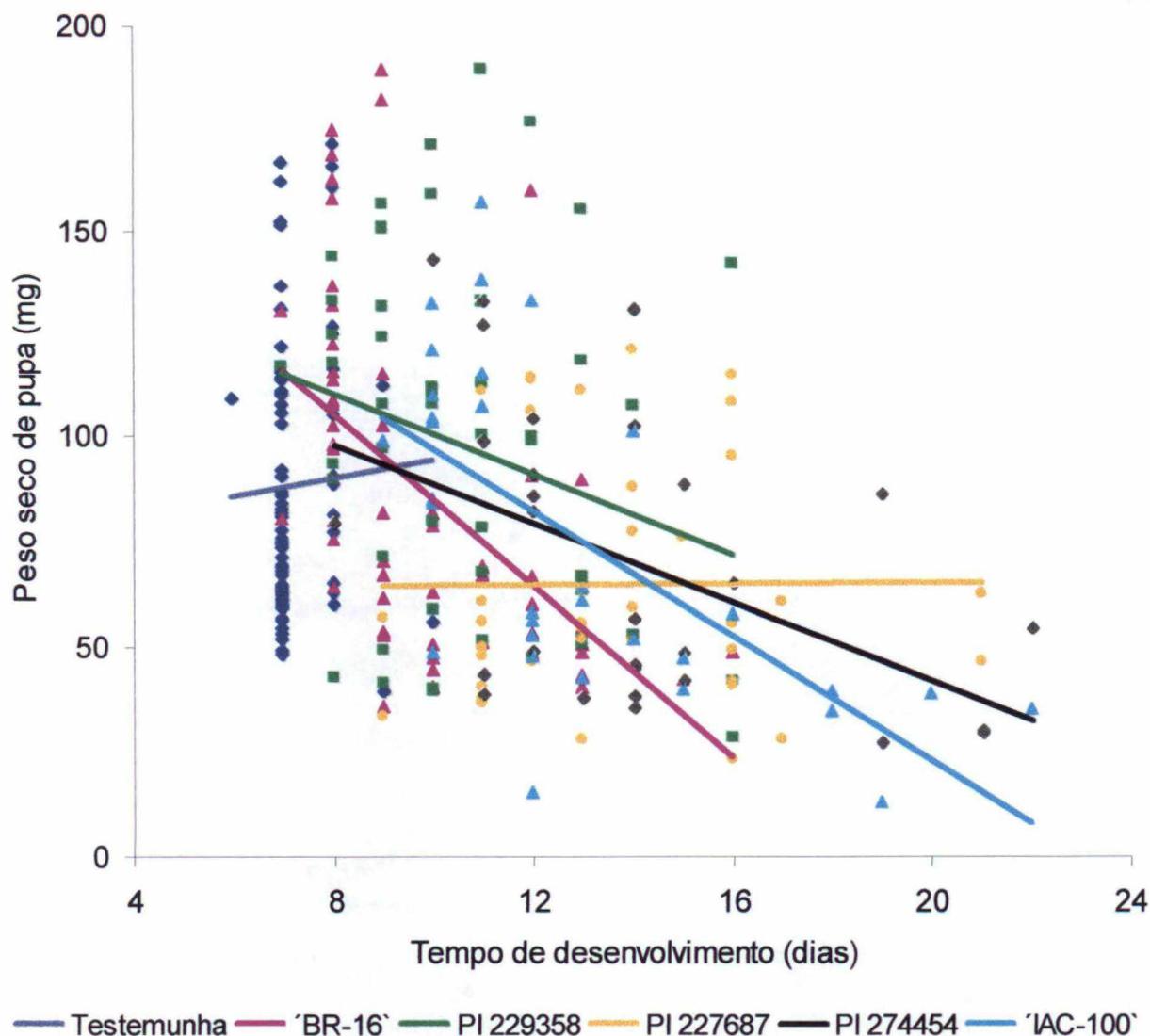


Figura 2. Relação entre peso seco de pupa (mg) e tempo de desenvolvimento (dias) de *Anticarsia gemmatalis* alimentada em dieta artificial contendo diferentes extratos de genótipos de soja. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Não foi observada interação significativa entre o tempo de desenvolvimento (covariável) e a quantidade de dieta consumida (Tabela 5). Conseqüentemente, essa relação pode ser representada pelo modelo de linhas paralelas (Figura 3). O efeito principal do tratamento e do tempo de desenvolvimento foi significativo, mostrando que o consumo pelo inseto pode depender de ambos os fatores, mas não de forma independente. A Figura 3 mostra uma tendência negativa dos dados obtidos, ou seja, o prolongamento no ciclo do inseto não representou aumento proporcional na dieta consumida pelas lagartas nos diferentes tratamentos. O gráfico de barras inserido na Figura 3 mostra as médias resultantes da ANCOVA; lagartas alimentadas em dieta com o extrato do genótipo 'IAC-100' ingeriram maior quantidade de dieta, em comparação com os outros tratamentos, que não diferiram entre si.

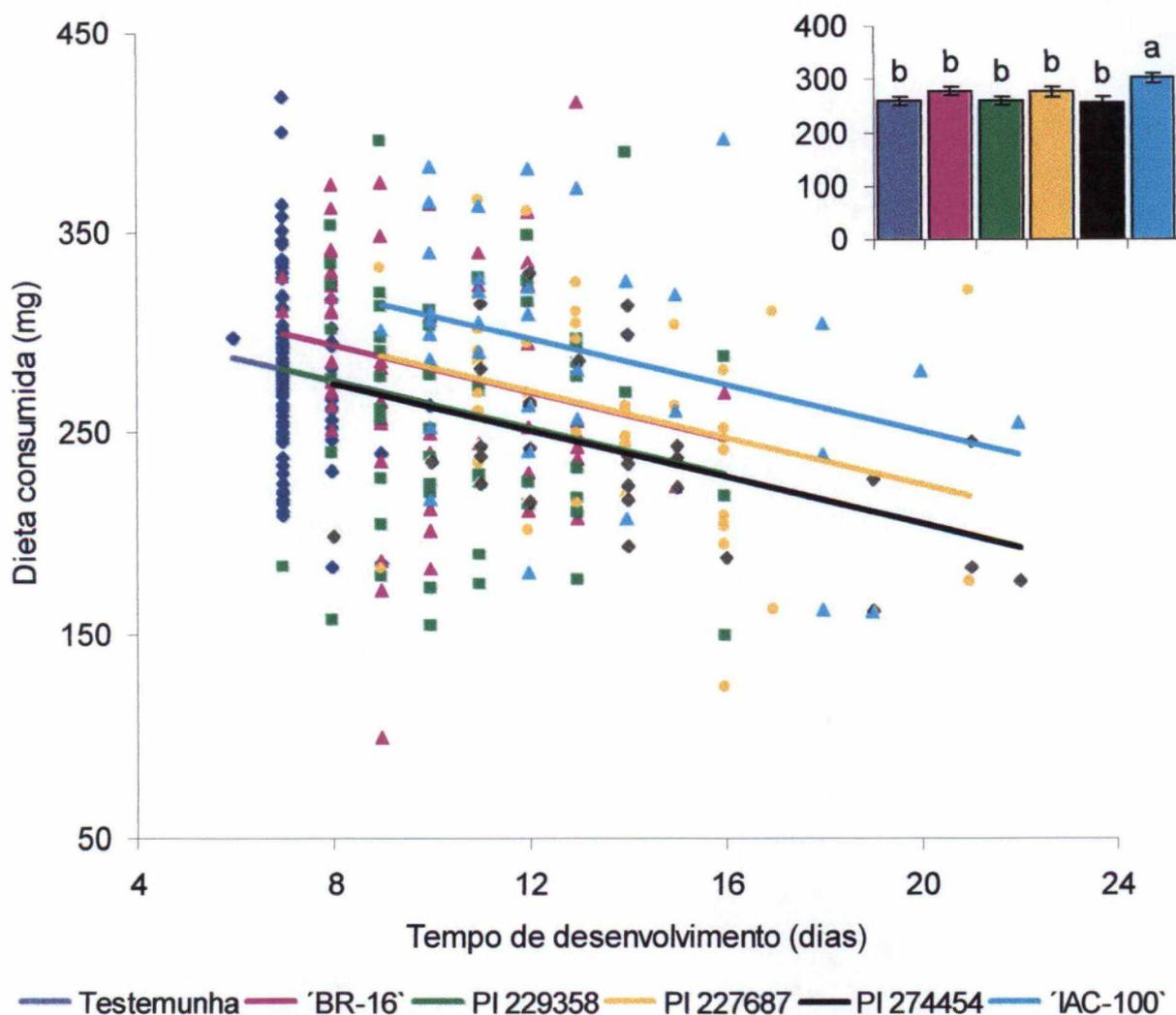


Figura 3. Relação entre dieta consumida (mg) e tempo de desenvolvimento (dias) de *Anticarsia gemmatalis* alimentada em dieta artificial contendo diferentes extratos de genótipos de soja. Gráfico de barras mostra a quantidade de dieta consumida, pelas médias resultantes da ANCOVA. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

A análise de covariância para ganho de peso dos insetos, estimado através do ajuste do peso de pupa pela covariável peso inicial das lagartas, mostrou uma interação significativa entre a covariável e os tratamentos (Tabela 6a). Na Figura 4 algumas particularidades podem ser observadas quando os tratamentos são colocados em um gráfico de dispersão bicoordenado. Para as lagartas alimentadas em dieta sem a adição de extrato (testemunha) ou com a adição do extrato da 'BR-16' observaram-se os maiores pesos iniciais, mas estes não refletiram posteriormente em maiores pesos de pupa.

Tabela 6. Análise de Covariância (ANCOVA) para verificar os efeitos dos diferentes extratos dos genótipos de soja, no ajuste de peso de pupa de *Anticarsia gemmatalis*, pelas covariáveis peso inicial (a) e quantidade de alimento digerido (b).

Variação	GL	Valor de F
		Peso seco de pupa
(a) Peso inicial (covariável)	1	10,56**
Tratamento	5	3,59**
Peso inicial x Tratamento	5	2,96*
Resíduo	286	-
<hr/>		
(b) Alimento digerido (covariável)	1	27,20***
Tratamento	5	1,76 ^{ns}
Alimento digerido x Tratamento	5	2,98*
Resíduo	278	-

* P < 0,05, **P < 0,01, *** P < 0,001, ns- não significativo

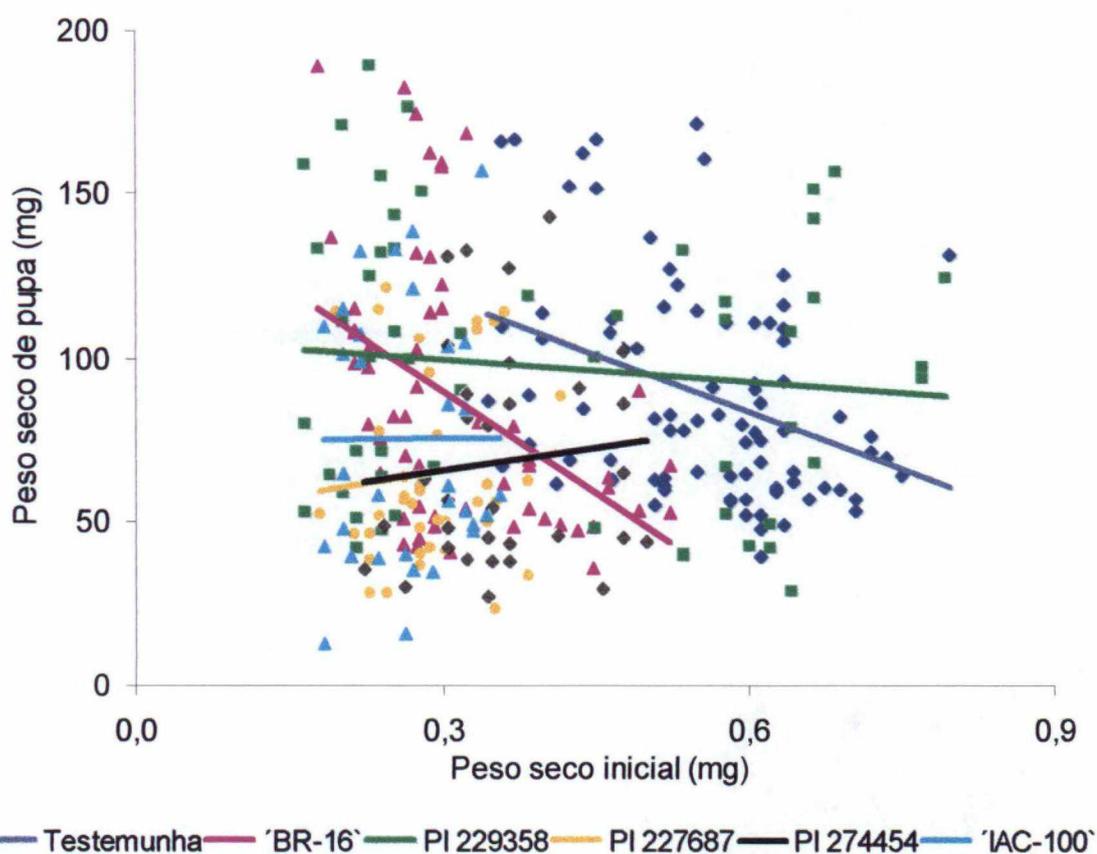


Figura 4. Relação entre peso de pupa (mg) e peso seco inicial de lagartas (mg) de *Anticarsia gemmatalis* alimentada em dieta artificial contendo diferentes extratos de genótipos de soja. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

A quantidade de alimento digerido (covariável) e os diferentes tratamentos influenciaram significativamente o peso de pupa dos insetos (Tabela 6b). Portanto, o crescimento do inseto mostrou-se dependente do efeito interativo entre o alimento digerido e os diferentes tratamentos. Uma relação positiva entre os fatores pode ser observada na Figura 5 em todos os tratamentos, entretanto, lagartas que consumiram dieta contendo extrato do genótipo 'IAC-100', mesmo apresentando a maior quantidade de alimento consumido (Figura 2), foram as menos eficientes na conversão do alimento digerido em biomassa.

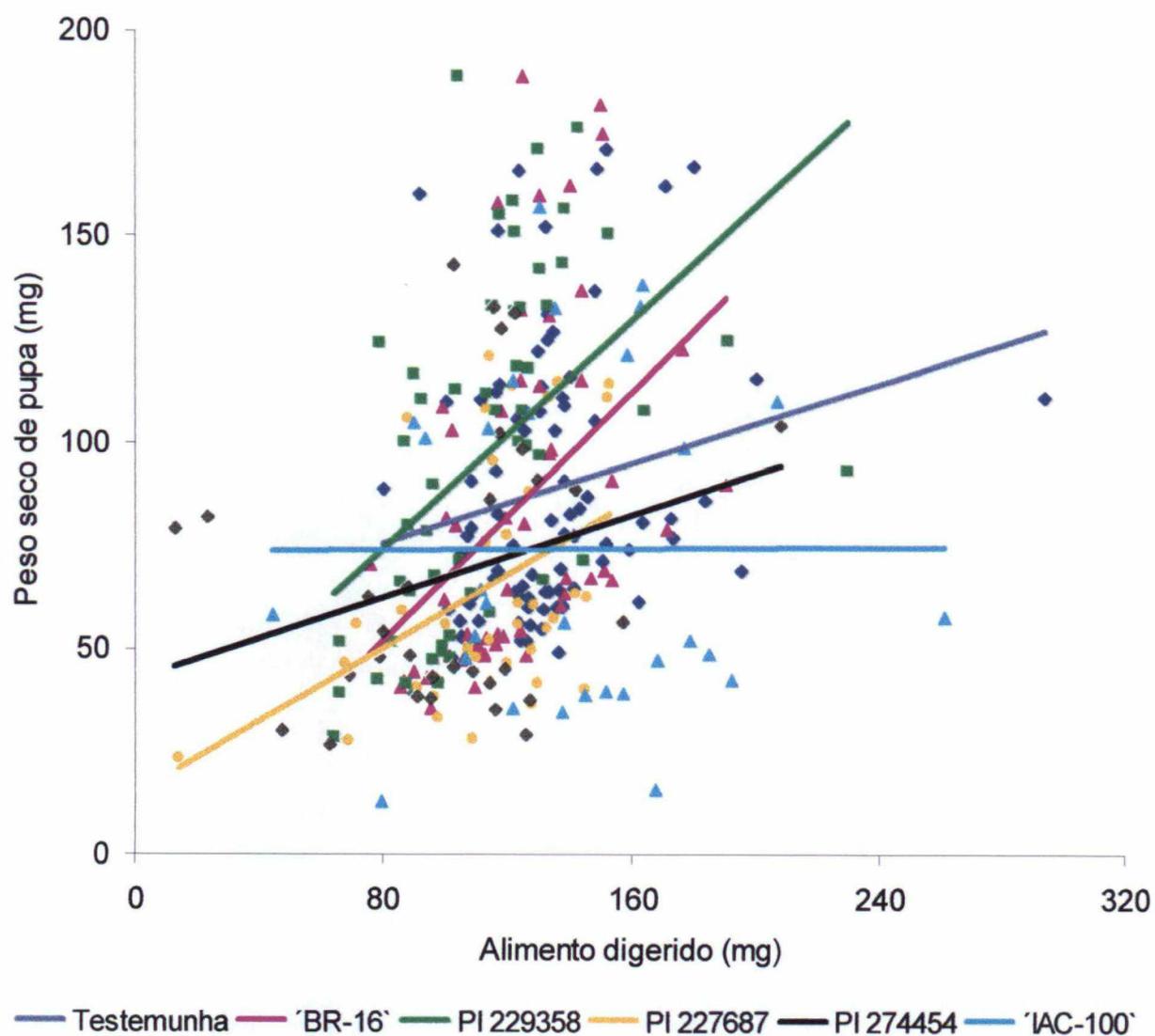


Figura 5. Relação entre peso seco de pupa (mg) e quantidade de alimento digerido (mg) de *Anticarsia gemmatalis* alimentada em dieta artificial contendo diferentes extratos de genótipos de soja. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

A quantidade de dieta consumida (covariável) e os diferentes tratamentos não apresentaram interação significativa no peso de pupa dos insetos (Tabela 7), porém, o efeito principal dos tratamentos e da quantidade de dieta consumida, quando analisados separadamente, influenciaram o peso de pupa dos insetos; isso mostra que o crescimento dos insetos é dependente de ambos os fatores, mas não do efeito interativo entre eles. Na Figura 6, pode-se observar que houve um relacionamento positivo entre a quantidade de alimento consumido e pesos de pupa dos insetos. Pelas médias resultantes da ANCOVA, verifica-se que o genótipo PI 229358 resultou em melhor aproveitamento do alimento pelos insetos, apresentando uma melhor conversão do alimento ingerido em biomassa. As menores eficiências foram observadas quando lagartas se alimentaram de dieta contendo extratos dos genótipos 'IAC-100' e PI 227687.

Tabela 7. Análise de Covariância (ANCOVA) para verificar os efeitos dos diferentes extratos dos genótipos de soja no ajuste do peso de pupa e peso de fezes de *Anticarsia gemmatalis*, pela covariável quantidade de dieta consumida.

Variação	GL	Valor de F	
		Peso de pupa	Peso de fezes
Dieta consumida (covariável)	1	82,43 ^{***}	593,35 ^{***}
Tratamento	5	0,73 ^{ns}	1,52 ^{ns}
Dieta consumida x Tratamento	5	1,67 ^{ns}	1,64 ^{ns}
Resíduo	284	-	-
Tratamento	5	6,24 ^{***}	6,39 ^{***}
Dieta consumida	1	81,49 ^{***}	586,91 ^{***}
Resíduo	289	-	-

*** P < 0,001, ns- não significativo

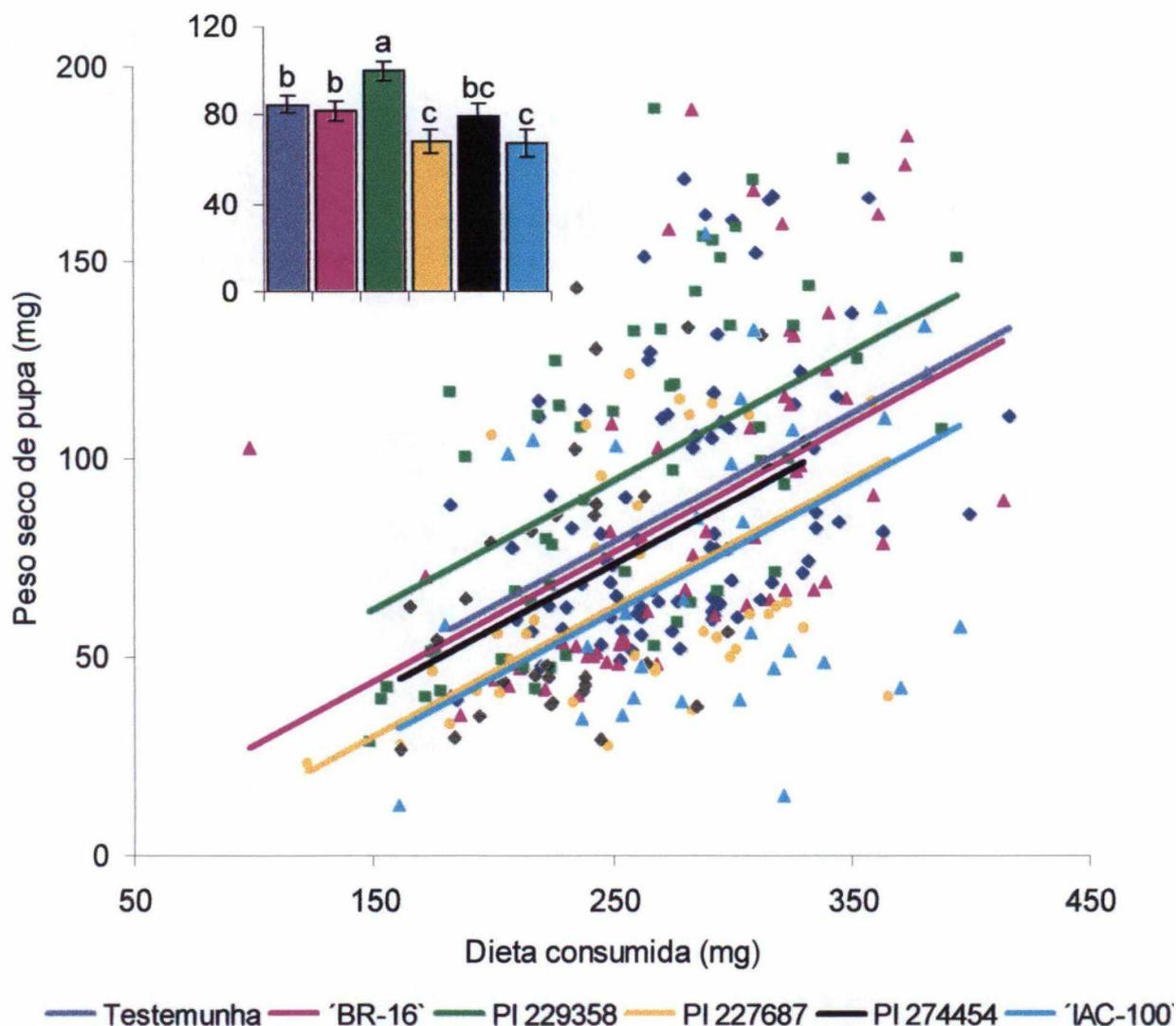


Figura 6. Relação entre a quantidade de dieta consumida (mg) e peso seco de pupa (mg) de *Anticarsia gemmatalis* alimentada em dieta artificial contendo diferentes extratos de genótipos de soja. Gráfico de barras mostra o peso de pupa pelas médias resultantes da ANCOVA. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

A quantidade de fezes produzida pelos insetos não foi dependente de uma interação entre os diferentes tratamentos e a quantidade de dieta consumida (Tabela 7). Todavia, quando os fatores foram analisados separadamente, esses influenciaram significativamente o peso de fezes dos insetos. No gráfico de dispersão bicoordenado (Figura 7) pode ser observada, novamente, uma relação positiva entre os fatores. Entretanto, no gráfico de barras inserido na Figura 7, onde são mostradas as médias do peso de fezes resultantes da ANCOVA, é possível verificar que a dieta testemunha e a dieta com a adição de extrato da 'IAC-100' foram as responsáveis pelos menores

pesos, sendo, entretanto, mais eficientes quanto à assimilação dos alimentos pelos insetos. Esses dados concordam com o obtidos por Hoffmann-Campo *et al.* (2001), que estudaram o efeito de frações do extrato de soja do genótipo PI 227687 na fisiologia e o comportamento de *T. ni*, e verificaram que lagartas que consumiram dieta sem a adição de extratos (testemunha) produziram menor quantidade de fezes, após a remoção do efeito da quantidade de dieta consumida pelas médias da ANCOVA.

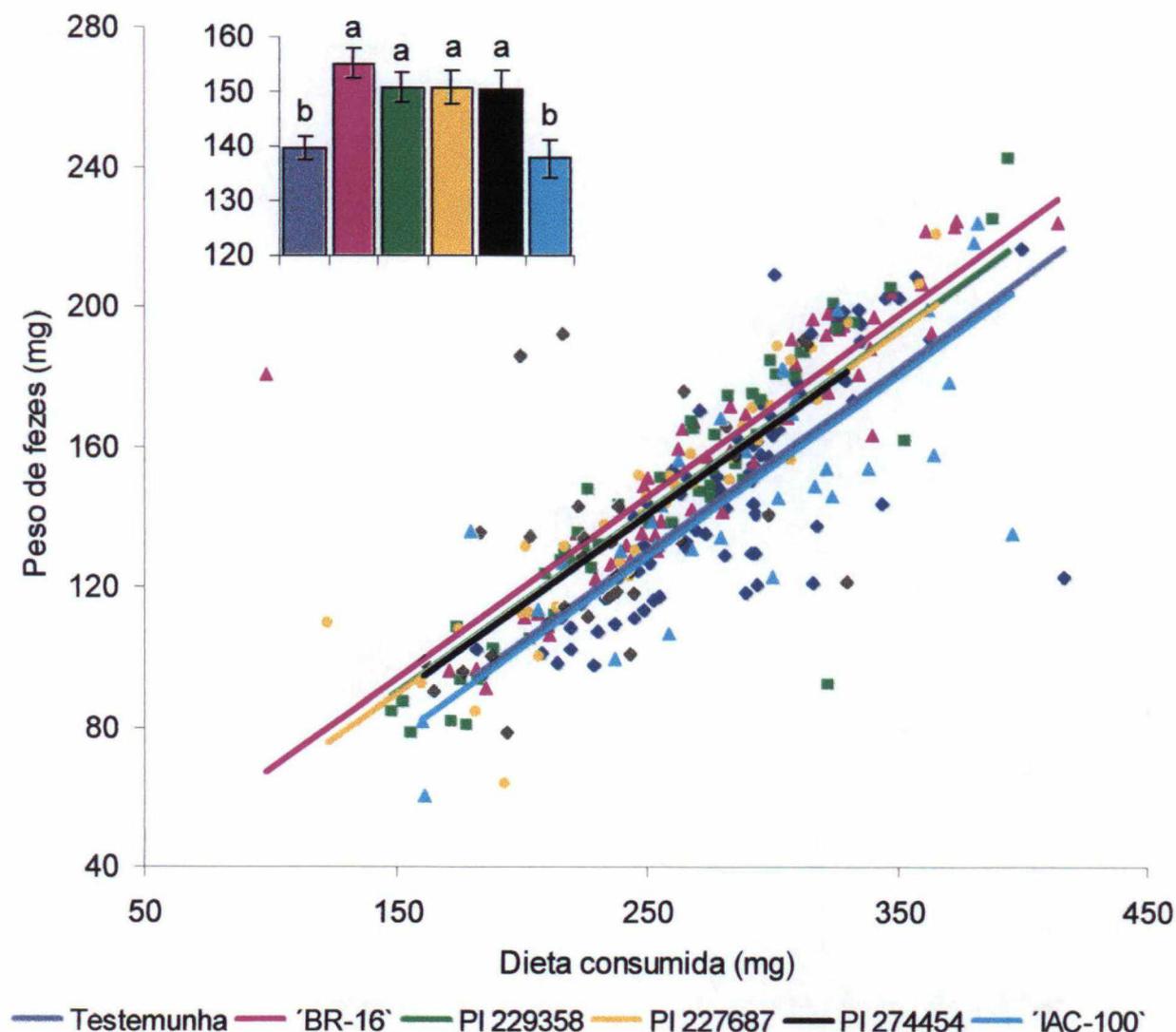


Figura 7. Relação entre a quantidade de dieta consumida (mg) e peso seco de fezes (mg) de *Anticarsia gemmatalis* alimentada em dieta artificial contendo diferentes extratos de genótipos de soja. Gráfico de barras mostra o peso de fezes pelas médias resultantes da ANCOVA. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Uma taxa de crescimento adequada, segundo Soo Hoo & Fraenkel (1966), é obtido por insetos que apresentem tempo de desenvolvimento curto, pesos de lagarta e/ou pupa altos e também baixos índices de mortalidade. Portanto, lagartas que se alimentaram dos genótipos PI 227687, PI 274454 e 'IAC-100' não apresentaram taxas de crescimento adequadas. Como não houve redução na quantidade de alimento consumido pelas lagartas sobreviventes nos tratamento com 'IAC-100', é provável a presença de um ou mais substâncias tóxicas na sua composição (Duffey & Isman 1981; Higgins & Pedigo 1979). Portanto, esses genótipos apresentaram, claramente, características de antibiose, sem descartar também a possibilidade de estar ocorrendo a não-preferência, pois nem sempre é fácil a distinção entre antibiose e não-preferência (Blau *et al.* 1978).

Possivelmente, os insetos alimentaram-se mais do genótipo 'IAC-100' para poder sobreviver, pois é sabido que, muitas vezes, o inseto tende a se alimentar mais num substrato que não lhe é adequado, ou a concentração de nutrientes (Slansky Jr. & Wheeler 1992) ou de aleloquímicos (Paradise & Stamp 1990) é baixa, fazendo com que ele ingira maior quantidade do mesmo para poder sobreviver (Lara 1991; Gazzoni & Tutida 1996). Segundo Rossetto *et al.* (1995), a 'IAC-100' possui resistência múltipla a insetos, mostrando resistência moderada também a besouros desfolhadores, como *D. speciosa* e *Cerotoma arcuata* (Olivier), entre outros. Oliveira *et al.* (1993), estudando aspectos biológicos e nutricionais de *A. gemmatalis* em diversos genótipos de soja, observaram que o genótipo 'IAC-100' foi o menos adequado para essa praga.

As lagartas criadas em dieta com extrato da cultivar IAC-100 apresentaram menor peso larval, menor aproveitamento do alimento, além de um alongamento da fase larval. Apesar de terem consumido maior quantidade de dieta, foram menos eficientes na conversão do alimento ingerido e digerido em biomassa, além de apresentarem maiores índices de mortalidade. Provavelmente, um efeito pós-ingestivo ocorreu neste tratamento (Glendinning 2002), após as lagartas terem falhado em detectar substâncias tóxicas no alimento oferecido. As conseqüências de um alimento não adequado ou com baixas características nutricionais foram somente observadas por um menor desempenho biológico e fisiológico nos insetos.

2.4. Literatura Citada

- Banzatto, D.A. & S.N. Kronka. 1992.** Experimentação Agrícola. Jaboticabal, Funep. 247p.
- Beach, R.M. & J.W. Todd. 1987.** Resistance of the soybean breeding lines GATIR 81-296 to foliar feeding by three *Spodoptera* sp. J. Agric. Entomol. 4: 193-199.
- Bernays, E.A. & R.F. Chapman. 1987.** The evolution of deterrent responses in plant-feeding insects, p. 159-173. In E.A. Bernays & J.G. Stoffolano Jr. (eds.), Perspectives in chemoreception and behavior. New York, Spring-Verlag, 207p.
- Binder, R.G. & A.C. Waiss Jr. 1984.** Effects of soybean leaf extracts on the growth and the mortality of bollworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. J. Econ. Entomol. 77: 1585-1588.
- Blau, P.A., P. Feeny & L. Contardo. 1978.** Allylglucosinolate and herbivorous caterpillars: a contrast in toxicity and tolerance. Science 200: 1296-298.
- Bowers Jr., G.R. 1990.** Registration of 'Crocket' soybean. Crop Sci. 30: 427.
- Clark, W.J., F.A. Harris, F.G. Maxwell & E.E. Hartwig. 1972.** Resistance of certain soybean cultivars to the bean leaf beetle, and bollworm. J. Econ. Entomol. 65: 1669-1671.
- Duffey S.S. & M.B. Isman. 1981.** Inhibition of insect larval growth by phenolics in glandular trichomes of tomato leaves. Experientia 37: 574-576.
- Fehr, W.R. & C.E. Caviness. 1977.** Stages of soybean development. Special Report 80. Ames, Iowa State University of Science and Technology, 11p.
- Gazzoni, D.L. & F. Tutida. 1996.** Efeito de genótipos resistentes e suscetíveis sobre a biologia da lagarta da soja (*Anticarsia gemmatalis* Hübner). Pesq. Agropec. Bras. 31: 709-714.
- Glendinning, J.I. 2002.** How do herbivorous insects cope with noxious secondary plant compounds in their diet ? Entomol. Exp. Applic. 104: 15-25.
- Greene, G.L., N.C. Leppla & W.A. Dickerson. 1976.** Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. J. Econ. Entomol. 69: 487-488.
- Hartwig, E.E., S.G. Turnipseed & T.C. Killen. 1984.** Registration of soybean germoplasm line D75-10169. Crop Sci. 24: 214-215.
- Hartwig, E.E., L. Lambert & T.C. Killen. 1990.** Registration of 'Lamar' soybean. Crop Sci. 30: 231.

- Hatchett, J.H., G.L. Beland & E.E. Hartwig. 1976.** Leaf-feeding resistance to bollworm and tobacco budworm in three soybean plant introductions. *Crop Sci.* 16: 277-280.
- Hatchett, J.H., G.L. Beland & T.C. Killen. 1979.** Identification of multiple insect resistant soybean lines. *Crop Sci.* 19: 557-559.
- Higgins, R.A. & L.P.A. Pedigo. 1979.** Laboratory antifeedant simulation bioassay for phytophagous insects. *J. Econ. Entomol.* 72: 238-244.
- Hoffmann-Campo, C.B. 1995.** Role of the flavonoids in the natural resistance of soybean to *Heliothis virescens* (F.) and *Trichoplusia ni* (Hübner). Ph.D. Dissertation, The University of Reading, Reading, 165p.
- Hoffmann-Campo, C.B., E.B. Oliveira & F. Moscardi. 1985.** Criação massal da lagarta da soja *Anticarsia gemmatalis*. EMBRAPA-CNPSo, Documentos 10, 23p.
- Hoffmann-Campo, C.B., J.B. Harbone & A.R. Mcaffery. 2001.** Pre-ingestive and post-ingestive effects of soya bean extracts and rutin on *Trichoplusia ni* growth. *Entomol. Exp. Applic.* 98: 181-194.
- Horwath K.L. & N.E. Stamp. 1993.** Use of dietary rutin to study molt initiation in *Manduca sexta* larvae. *J. Insect Physiol.* 39: 987-1000.
- Jones Jr., W.A. & M.L. Sullivan. 1979.** Soybean resistance to Southern green stink bug *Nezara viridula*. *J. Econ. Entomol.* 72: 628-632.
- Killen, T.C. 1990.** Multiple insect resistance in soybean germoplasm line. *Soybean Genetic Newsl.* 17: 103-105.
- Killen, T.C., J.H. Hatchett & E.E. Hartwig. 1977.** Evaluation of early generation soybeans for resistance to soybean looper. *Crop Sci.* 17: 397-398.
- Kubo, I. & F.G. Hanke. 1986.** Chemical methods for isolating and identifying phytochemicals biologically active in insects, p. 225-249. In J.R. Miller & T.A. Miller (eds), *Insect-plant interactions*. New York, Springer-Verlag, 374p.
- Lambert, L. & T.C. Killen. 1984.** Multiple insect resistance in several soybean genotypes. *Crop Sci.* 24: 887-890.
- Lara, F.M. 1991.** Princípios de resistência de plantas a insetos. São Paulo, Ícone, 336p.
- Luedders, V.D. & W.A. Dickerson. 1977.** Resistance of selected soybean genotypes and segregating population to cabbage looper feeding. *Crop Sci.* 17: 395-396.
- Oliveira, L.J., C.B. Hoffmann-Campo & R.M. Mazzarin. 1993.** Aspectos biológicos e nutricionais de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae) em diversos genótipos de soja. *An. Soc. Entomol. Brasil* 22: 547-552.

- Paradise, C.J. & N.E. Stamp. 1990.** Variable quantities of toxic diet cause different degrees of compensatory and inhibitory responses by juvenile praying mantids. *Entomol. Exp. Appl.* 55: 213-222.
- Piubelli, G.C., C.B. Hoffmann-Campo, I.C. Arruda & F.M. Lara. 2003a.** Nymphal development, lipid content, growth and weight gain of *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae) fed on soybean genotypes. *Neotrop. Entomol.* 32: 127-132.
- Piubelli, G.C., C.B. Hoffmann-Campo, I.C. Arruda, J.C. Franchini & F.M. Lara. 2003b.** Flavonoid increase in soybean as a response to *Nezara viridula* injury and its effect on insect feeding preference. *J. Chem. Ecol.* 29: 1223-1233.
- Raubenheimer, D. 1995.** Problems with ratio analysis in nutritional studies. *Funct. Ecol.* 9: 21-29.
- Raubenheimer, D. & S.J. Simpson. 1992.** Analysis of covariance: an alternative to nutritional indices. *Entomol. Exp. Appl.* 62: 221-231.
- Rezende, J.A.M. & M.A.C. Miranda de. 1980.** Performance of F₁ generation of soybean in relation to *Colaspis* sp and *Diabrotica speciosa*. *Soybean Genet. Newsl.* 7: 21-22.
- Rezende, J.A.M., M.A.C. Miranda de & H.A.A. Mascarenhas. 1980.** Comportamento de cultivares de soja em relação à área foliar comida por lagartas das folhas. *Bragantia* 39: 161-165.
- Rossetto, C.J., O. Tisselli Filho, J. Cione, P.B. Gallo, L.F. Razera, J.P.F. Teixeira & N. Bertoletto. 1990.** Cultivar de soja 'IAC-100'. Campinas, IAC, (folder).
- Rossetto, C.J., P.B. Gallo, L.F. Razera, N. Bertoletto, T. Igue, P.F. Medina, O. Tisselli Filho, V. Aguilera, R.F.A. Veiga & J.B. Pinheiro. 1995.** Mechanisms of resistance to stink bug complex in the soybean cultivar 'IAC-100'. *An. Soc. Entomol. Brasil* 24: 517-522.
- SAS Institute. 1996.** SAS Propriety Software Release 6.12. SAS-STAT User's guide. Vol II. SAS Institute, Cary, N.C., 1686p.
- Schmidt, D.J. & J.C. Reese. 1986.** Sources of errors in nutritional index studies of insects on artificial diet. *J. Insect. Physiol.* 32: 193-198.
- Scriber, J.M. & F. Slansky Jr. 1981.** The nutritional ecology of immature insects. *Ann. Rev. Entomol.* 26: 183-211.
- Slansky, F. Jr, & G.S. Wheeler. 1992.** Feeding and growth responses of laboratory and field strains of velvetbean caterpillars (Lepidoptera: Noctuidae) to food nutrient level and allelochemicals. *J. Econ. Entomol.* 85: 1717-1730.

- Smith, C.M. & N.H. Fischer. 1983.** Chemical factors of insect resistant soybean genotype affecting growth and survival of the soybean looper. *Entomol. Exp. Appl.* 33: 343-345.
- Smith, C.M., R.F. Wilson & C.A. Brim. 1979.** Feeding behaviour of Mexican bean beetle on leaf extracts of resistant and susceptible soybean genotypes. *J. Econ. Entomol.* 72: 374-377.
- Soo Hoo, C.F. & G. Fraenkel. 1966.** The selection of food plants in a polyphagous insect, *Prodenia eridania* (Cramer). *J. Insect. Physiol.* 12: 693-709.
- Stamp, N.E. 1990.** Growth, versus molting time of caterpillars as a function of temperature, nutrient, concentration and the phenolic rutin. *Oecologia* 82: 107-113.
- Stamp, N.E. & K.L. Horwath. 1992.** Interactive effects of temperature and concentration of the flavonol rutin on growth, molt and food utilization of *Manduca sexta* caterpillars. *Entomol. Exp. Appl.* 64: 135-150.
- Valle, G.E. & A.L. Lourenção. 2002.** Resistência de genótipos de soja a *Bemisia tabaci* (genn.) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae). *Neotrop. Entomol.* 31: 297-303.
- Van Duyn, J.W., S.G. Turnipseed & J.D. Maxwell. 1971.** Resistance in soybean to the Mexican bean beetle. *Crop Sci.* 11: 572-573.
- Van Duyn, J.W., S.G. Turnipseed & J.D. Maxwell. 1972.** Resistance in soybean to the Mexican bean beetle: II Reactions of the beetle to resistant plants. *Crop Sci.* 12: 561-562.
- Van Loon, J.J.A. 1991.** Measuring food utilization in plant feeding insects - towards a metabolic and dynamic approach, p. 79-124. In E.A. Bernays (ed.), *Insect-plant Interactions*, Vol. III, CRC Press, 258p.
- Veiga, R.F.A., C.J. Rossetto, L.F. Razera, P.B. Gallo, N. Bertoletto, P.F. Medina, O. Tisselli Filho & J. Cione. 1999.** Caracterização morfológica e agrônômica do cultivar de soja 'IAC-100'. Campinas, Instituto Agrônômico, Boletim Técnico 177, 23p.
- Waldbauer, G.P. 1968.** The consumption and utilization of food by insects. *Adv. Insect Physiol.* 5: 229-288.

CAPÍTULO 3

Efeito de rutina em parâmetros biológicos e fisiológicos de populações de *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) suscetível e resistente ao seu vírus da poliedrose nuclear (VPNMAg)

3.1. Introdução

O uso indiscriminado de inseticidas para o controle da lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) aumenta as agressões ao ambiente, ano a ano, podendo comprometer a sustentabilidade das cadeias produtivas. O uso de plantas resistentes apresenta muitas vantagens, entre elas, menor custo de produção comparado aos inseticidas sintéticos e menor dependência de condições climáticas. Além disso, cultivares com resistência a insetos são essenciais na agricultura orgânica, onde não é permitido o uso de insumos sintéticos.

De modo geral, os mecanismos de defesa da planta incluem uma série de características morfológicas e também um complexo de substâncias químicas (aleloquímicos) que podem tornar a planta repelente, tóxica ou, de algum modo, inadequada para os insetos-praga. Os genótipos resistentes afetam negativamente os insetos, causando alterações no metabolismo que se refletem na duração do ciclo, fecundidade e sobrevivência. As características morfológicas e químicas da planta podem afetar o comportamento da praga, principalmente na seleção do hospedeiro para alimentação e oviposição (Vendramim & Castiglioni 2000). Portanto, a utilização de cultivares com moderada resistência pode reduzir a incidência de pragas, resultando em menor perda na produção.

Os aleloquímicos são definidos como substâncias não nutritivas, produzidas por uma espécie, e que afetam a sobrevivência, crescimento, comportamento, fecundidade ou fertilidade de indivíduos de outra espécie (Kogan 1986). A soja, *Glycine max* (L.) Merrill (Fabaceae), não possui substâncias químicas com evidente potencial aleloquímico, porém, muitos flavonóides foram identificados, principalmente nas folhas desta leguminosa (Kogan 1986; Hoffmann-Campo 1995). A rutina (quercitina 3-O-rutinosídeo) foi um dos flavonóides encontrados na PI 227687 (Hoffmann-Campo 1995; Hoffmann-Campo *et al.* 2001), genótipo amplamente utilizado pelos programas de melhoramento como fonte de resistência a insetos desfolhadores. Esse composto

químico tem mostrado efeito antibiótico e/ou antinutricional em diversos insetos mastigadores (Stamp & Skrobola 1993). Entretanto, algumas pesquisas relatam que a rotina pode também interferir no desempenho do vírus da poliedrose nuclear (VPN) (Felton *et al.* 1987; Felton & Duffey 1990; Peng *et al.* 1997).

O vírus da poliedrose nuclear da lagarta-da-soja (VPNMAg) (*Baculoviridae*) vem sendo utilizado como inseticida microbiano no Brasil desde a década de 80, sendo considerado o maior programa de uso de um vírus para o controle de insetos (Moscardi 1999). Nos últimos anos, esse produto foi utilizado em, aproximadamente, 2,0 milhões de ha de soja no país, sendo 40% desse uso concentrado no estado do Paraná (Hoffmann-Campo *et al.* 2003; Moscardi & Souza 2002). Esses inseticidas biológicos à base de baculovírus têm sido apontados como os de maior potencial para o desenvolvimento de bioinseticidas, devido à especificidade, à alta virulência ao hospedeiro e à maior segurança proporcionada a vertebrados (Valicente & Cruz 1991).

Segundo Moscardi & Sosa-Gomez (1992), os estudos da evolução dos níveis de susceptibilidade das populações da lagarta são cada vez mais importantes, especialmente nos lugares com maior freqüência de aplicação deste vírus. Embora a resistência de lagartas ao VPNMAg não tenha sido detectada em campo, estudos realizados simultaneamente pela Embrapa Soja e pela Universidade da Louisiana, nos EUA, comprovaram que, em laboratório, sob condições de pressão de seleção elevada (exposição constante a CL₈₀), é possível obter populações de *A. gemmatalis* resistentes a VPNMAg em três a quatro gerações (Abot *et al.* 1996; Sosa-Gomez & Moscardi 2001). Sendo assim, medidas para evitar o desenvolvimento de resistência a esse entomopatógeno são imprescindíveis num programa de manejo integrado de pragas.

A associação entre variedades resistentes com o controle biológico é altamente desejável dentro de um programa de manejo integrado de pragas, sendo que, nos últimos anos tem aumentado a conscientização da importância desses estudos e de suas aplicações práticas. Esse trabalho teve como objetivo determinar o efeito de duas quantidades de rotina em duas populações de *A. gemmatalis*, ou seja, população suscetível (S) e resistente (R) ao vírus da poliedrose nuclear de *A. gemmatalis* (VPNMAg).

3.2. Material e Métodos

Os tratamentos consistiram de dieta normal (DN) (sem adição de rutina), dieta com a adição de 0,65% de rutina e dieta com 1,30% de rutina. As dietas artificiais (Greene *et al.* 1976, modificada por Hoffmann-Campo *et al.* 1985) foram oferecidas as duas populações da lagarta (S e R), ambas provenientes do laboratório de criação de insetos da Embrapa Soja. A rutina utilizada nos experimentos foi da marca Sigma e a quantidade utilizada nos experimentos foi baseada nos dados obtidos por Hoffmann-Campo (1995). A autora encontrou no extrato foliar da PI 227687 a quantidade de 0,641% (peso seco).

3.2.1. Condução do experimento

Lagartas de 2^o para 3^o ínstar, das populações S e R, criadas desde a eclosão em suas respectivas dietas, foram individualizadas para a realização dos bioensaios, em copos de acrílico pequenos com tampas de papelão esterilizadas. Os copos foram colocados em bandejas com tampa para evitar a perda de umidade. Os tratamentos foram mantidos em B.O.D. sob condições controladas de temperatura, umidade e fotofase de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, $70 \pm 10\%$ UR e 12h, respectivamente. As lagartas foram avaliadas diariamente, observando-se a mortalidade e o tempo de desenvolvimento de cada estágio. Na ocasião da individualização, foi avaliado o peso inicial (fresco e seco). Além disso, avaliou-se, também, peso de pupa (fresco e seco), o peso seco do alimento não consumido e das fezes produzidas pelo inseto.

Para a obtenção do peso seco inicial das lagartas, foram retiradas cinco lagartas por tratamento que, após serem pesadas, foram mortas e secas em estufa por 72h (60°C) e novamente pesadas. O fator de correção médio, calculado pela divisão entre o peso seco e fresco das lagartas, foi multiplicado pelo peso fresco de cada lagarta do experimento, obtendo-se, assim, o seu peso seco inicial. O mesmo procedimento foi adotado para o cálculo do peso seco da dieta oferecida aos insetos; após a pesagem, as dietas contidas em cinco copos por tratamento foram secas (72h, 60°C), e novamente pesadas para a obtenção do fator de correção peso fresco/peso seco. Após o consumo das lagartas, a dieta remanescente no copo foi separada das fezes, sendo ambas secas em estufa, nas condições descritas anteriormente e pesadas. A obtenção

da quantidade de dieta consumida pelas lagartas foi feita subtraindo-se do peso seco da dieta colocada em cada copo, a quantidade de dieta restante nos copos.

As pré-pupas foram individualizadas em copos com vermiculita e mantidas sob condições controladas de temperatura, luz e umidade, conforme descritas anteriormente. Após 48h da transformação em pupa, realizou-se a sua pesagem (peso fresco). Para se obter os pesos secos, as pupas foram mantidas em estufa por 72h a 60°C e, em seguida, realizou-se a pesagem e a análise do conteúdo de lipídios.

Para a análise de lipídios, pupas secas foram acondicionadas em pequenos envelopes feitos de papel manteiga (4,0 x 3,0 cm) e mantidos em aparelho de Soxlet, por quatro horas contadas a partir do primeiro ciclo, em tubos de extração. O hexano (250 ml), utilizado como agente extrator, foi colocado em um balão volumétrico e levado ao extrator de Soxlet juntamente com a água de circulação, sendo os tubos aquecidos a aproximadamente 120°C. Após a extração, as pupas foram novamente levadas à estufa (60°C), por 48h, para eliminar os resíduos de hexano, e pesadas. O total de lipídios extraído foi determinado pela diferença entre os pesos secos de pupa, antes e depois da extração.

3.2.2. Obtenção de população de *Anticarsia gemmatalis* resistente ao VPNMAg

A população de lagartas resistentes ao VPNMAg foi obtida no laboratório de criação massal de *A. gemmatalis* da Embrapa Soja, onde são realizados biotestes para o controle da resistência da população. Nesse controle, 3.000 lagartas são inoculadas mensalmente, para se obter uma concentração letal de aproximadamente 80% (CL₈₀) (Abot *et al.* 1996). Em outubro de 2003, devido ao alto grau de resistência das lagartas (105ª geração), a concentração utilizada na pressão da resistência era de 8.000.000 corpos de oclusão/ml de dieta, sendo realizada apenas com o objetivo de manter a população, já que a sobrevivência estava em torno de 35-40% (Moscardi-Comunicação Pessoal). Para os testes foram utilizadas as lagartas sobreviventes da 100ª e 101ª.

3.2.3. Análise estatística

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, com seis tratamentos (DN + S, DN + R, 0,65% + S, 0,65% + R, 1,30% + S e 1,30% + R) e 30

repetições, em cada experimento. A avaliação de parâmetros biológicos foi realizada duas vezes em um período de três meses. A análise dos dados dos quadrados médios, possibilitou a junção dos experimentos. As variáveis respostas consideradas neste trabalho foram: mortalidade de lagartas em cinco ínstaes, mortalidade total de lagartas, peso inicial de lagartas (mg) (fresco e seco), peso de pupa (mg) (fresco e seco), tempo de desenvolvimento em cinco ínstaes (dias), tempo de desenvolvimento total (dias), dieta consumida (mg), peso de fezes (mg) e porcentagem de lipídios (%).

A mortalidade foi analisada pelo teste de qui-quadrado (χ^2), conforme Banzatto & Kronka (1992), ao nível de 5% de probabilidade. As demais variáveis foram analisadas considerando-se três etapas. Na primeira, realizaram-se os testes estatísticos que verificaram se todos os pressupostos requeridos pela análise de variância (ANOVA) foram atendidos. Em seguida, realizaram-se as análises de variâncias com testes de médias de Tukey para tratamentos, ao nível de 5% de probabilidade e, na última etapa, foram realizadas as análises de covariância (ANCOVA), para os casos das variáveis respostas mensuradas estarem interferindo no efeito de outra variável. Para as análises estatísticas deste trabalho foi utilizado o pacote estatístico SAS- Statistical Analysis System (SAS Institute 1996).

A análise de covariância (ANCOVA), proposta por Raubenheimer & Simpson (1992) foi utilizada para estimar o crescimento, consumo alimentar, eficiência na assimilação e conversão dos alimentos ingeridos e digeridos em biomassa, além do ganho do peso e conteúdo de lipídios. Todas as análises de covariância foram realizadas utilizando-se os pesos secos das variáveis.

O crescimento e o consumo para os diferentes tratamentos foram obtidos pelo ajuste, respectivamente, do peso de pupa e quantidade de dieta consumida pela covariável tempo de desenvolvimento. O ganho de peso foi estimado através do ajuste de peso de pupa pela covariável peso inicial, sendo o conteúdo de lipídios ajustado pela covariável peso seco de pupa. O peso de pupa, nos diferentes tratamentos, foi ajustado pela quantidade de dieta consumida e digerida (quantidade de dieta consumida menos a quantidade de fezes produzida pelas lagartas) com objetivo de determinar a eficiência de conversão dos alimentos ingeridos e digeridos, respectivamente, em biomassa. A assimilação dos alimentos foi obtida através da correção da quantidade de fezes produzida pela covariável quantidade de dieta consumida.

Após a realização da ANCOVA, considerou-se o efeito dos tratamentos ajustados pela covariável, quando a interação entre a covariável e o tratamento era significativo. Entretanto, se a interação (covariável x tratamento) não foi significativa, utilizou-se o modelo de linhas paralelas, considerando-se somente o efeito dos tratamentos. Neste caso, as médias foram comparadas através das médias da ANCOVA, ou médias dos quadrados médios. A ANCOVA constitui-se numa alternativa para os índices nutricionais propostos por Waldbauer (1968), pois esse método padrão tem mostrado problemas metodológicos (Schmidt & Reese 1986; Van Loon 1991) e estatísticos (Raubenheimer 1995; Raubenheimer & Simpson 1992).

3.3. Resultados e Discussão

3.3.1. Mortalidade, tempo de desenvolvimento, peso inicial, peso de pupa, dieta consumida, peso de fezes e porcentagem de lipídios de populações de *Anticarsia gemmatalis* suscetível (S) e resistente (R) ao VPNMAg

Foram observadas diferenças na porcentagem de mortalidade das duas populações de *A. gemmatalis*, em função da dieta oferecida, sendo estas diferenças comparadas com o valor de $\chi^2_{(5; 0,05)}=97,94$ (Tabela 1). As maiores porcentagens de mortalidade ocorreram no início do desenvolvimento das lagartas, principalmente no 3º ínstar, quando ambas as duas populações foram alimentadas com dietas contendo rutina. A maior mortalidade total ocorreu na população resistente, quando lagartas se alimentaram da dieta contendo 1,30% de rutina (98,0%), comparada às mortalidades verificadas nas testemunhas (DN), S (0,0%) e R (3,4%). Lagartas dos tratamentos 0,65% + R e 1,30% + S apresentaram igual porcentagem de mortalidade total (74,7%).

Lagartas da população resistente ao VPNMAg foram mais afetadas negativamente pela rutina, em comparação com lagartas da população suscetível, mesmo quando 0,65% de rutina foi adicionada à dieta. Possivelmente este fato está relacionado ao custo metabólico que os insetos da população resistente possuem para manter o mecanismo de resistência frente ao seu VPN. Portanto, quando em contato com a rutina, essa população (R) mostrou-se mais vulnerável em comparação à população suscetível. Segundo Abot (1997), quando uma população é mantida em laboratório para ser submetida à pressão de seleção de seu VPN, essa sofre uma série

de reações que segundo a espécie e condições, pode afetar ou não seus parâmetros biológicos.

Insetos provenientes da população resistente ao VPNMAg que se alimentaram de dieta contendo 1,30% de rutina foram desconsideradas das análises estatísticas por possuírem número muito reduzido de repetições, devido à alta mortalidade apresentada. Entretanto, o teor fisiológico de rutina encontrado nas folhas dos genótipos resistentes a insetos está abaixo desta concentração. Enquanto a cultivar IAC-100 possui 0,67% de rutina, a PI 227687 apresenta teores intermediários, com 0,37% desse flavonóide (vide Capítulo 4).

Tabela 1. Porcentagem de mortalidade de populações de *Anticarsia gemmatalis* suscetível (S) e resistente (R) ao VPNMAg, alimentadas em dieta contendo rutina (0,65% e 1,30%) ou não (DN). Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Tratamentos	Ínstar					Total
	2 ^o /3 ^o	3 ^o	4 ^o	5 ^o	6 ^o	
DN + S	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
DN + R	0,0	0,0	1,7	0,0	1,7	3,4
0,65% + S	5,0	13,3	8,3	1,7	0,0	28,3
0,65% + R	6,7	53,1	5,0	6,6	3,3	74,7
1,30% + S	11,6	54,8	6,6	1,7	0,0	74,7
1,30% + R	28,2	64,7	1,7	3,4	0,0	98,0
χ^2	33,15***	81,22***	14,59*	33,38***	12,18*	83,83***

* $P < 0,05$, *** $P < 0,001$ - $\chi^2_{(5; 0,05)}$

O tempo de desenvolvimento total e em cada ínstar dos insetos foi significativamente afetado pelos diferentes tratamentos (Tabela 2). Os tratamentos com dieta normal proporcionaram um período total de desenvolvimento mais rápido às lagartas, sendo de 7,6 dias para a população suscetível e de 8,9 dias para a população resistente ao VPNMAg. Os tratamentos que continham rutina em sua dieta causaram um prolongamento no período larval do inseto. Dietas com 0,65% de rutina proporcionaram um período médio de 12,2 dias à população suscetível e de 17,1 dias à população resistente. Já o tratamento com 1,30% de rutina prolongou o desenvolvimento larval da população suscetível para 17,0 dias.

O prolongamento da fase larval dos insetos que se alimentaram de dieta contendo rutina, indica que os mesmos, provavelmente, para compensar a baixa qualidade nutricional e custos metabólicos a que são submetidos (população R), desenvolveram mecanismos para alongar o seu ciclo, e assim atingir o peso ideal para a fase de pupa e posterior reprodução, o que os torna mais predispostos a fatores naturais de mortalidade, como a predação. Segundo Soo Hoo & Fraenkel (1966), uma taxa ideal de crescimento é obtida por insetos que apresentem tempo de desenvolvimento curto, pesos de lagarta e/ou pupa altos e também baixos índices de mortalidade.

Efeito significativo dos tratamentos, verificado pela ANOVA, foi observado no peso inicial, peso de pupas, na quantidade de dieta consumida, no peso de fezes e na porcentagem de lipídios dos insetos (Tabela 3). Essas variáveis foram negativamente afetadas pela rutina, principalmente nas lagartas oriundas da população resistente ao VPNMAg (Figura 1).

Os maiores pesos secos iniciais de lagartas (2^o para 3^o ínstar) e de pupas foram observados quando insetos da população suscetível alimentaram-se de dieta normal (0,69 e 61,5 mg, respectivamente); contudo, o peso seco de pupa não se diferenciou dos insetos da população resistente que se alimentaram também de dieta normal (54,7 mg). Os menores pesos foram observados em insetos da população resistente que se alimentaram de dieta acrescida de 0,65% de rutina (0,25 e 40,9 mg, respectivamente); esse último não diferiu do peso de pupa obtido dos insetos da população suscetível que se alimentaram de dieta com 1,30% de rutina (45,9 mg) (Tabela 3).

Os pesos obtidos por lagartas de ambas as populações que se alimentaram de dieta normal não concordam com os obtidos por Abot (1997), que estudando populações de *A. gemmatalis* suscetíveis e resistentes ao VPNMAg por três gerações consecutivas em dieta artificial, verificou que o peso das pupas da população resistente foi significativamente menor que da suscetível. No presente experimento, a diferença entre os pesos, nas duas populações, somente foi evidenciada quando da adição de rutina à dieta, confirmando que a população R foi mais vulnerável ao flavonóide. Segundo Milks (1997), a resistência de insetos a patógenos ou a produtos químicos, freqüentemente, envolve custo metabólico no desempenho dos insetos.

Lagartas provenientes da população suscetível, alimentadas em dieta normal, consumiram maiores quantidades de dieta (297,8 mg) (Tabela 3), diferindo significativamente das lagartas da população resistente, que se alimentaram em dieta

normal, e com 0,65% de rutina (246,5 e 241,0 mg, respectivamente) e da população suscetível que recebeu dieta com 1,30% de rutina (226,0 mg). Lagartas da população resistente alimentada com dieta com 0,65% de rutina produziram menor quantidade de fezes (111,4 mg), quando comparadas àquelas provenientes dos outros tratamentos (Tabela 3).

A porcentagem de lipídios acumulada nas pupas foi maior quando insetos da população suscetível se alimentaram de dieta normal (19,6%), quando comparada àqueles que se alimentaram de dieta contendo 1,30% + S (14,7%) e 0,65% + R (12,9%) (Tabela 3). Uma maior concentração de lipídios no corpo do inseto indica maior conservação de energia, sugerindo um investimento em processos tais como reprodução e dispersão (Brought & Dixon 1989; Mason *et al.* 1989). Portanto, no presente trabalho, a menor quantidade de lipídios em pupas provenientes de lagartas que se alimentaram de dieta contendo rutina, principalmente na população R, indica que essa substância afetou o acúmulo de lipídios nas pupas, provavelmente, comprometendo o desempenho reprodutivo do inseto.

Uma das questões importantes em populações que desenvolvem resistência a vírus entomopatogênicos é o quanto os parâmetros biológicos dessas populações resistentes podem ser afetadas, quando comparados com populações suscetíveis. Pietrowski (2000), avaliando os mecanismos genéticos da resistência de *A. gemmatalis* ao seu VPN, verificou que o fator resistência não afetou significativamente os parâmetros biológicos do inseto. Entretanto, diferenças genéticas entre as populações suscetível e resistente ao VPNMAg foram observadas, sendo essas diferenças resultantes do desenvolvimento da resistência.

Tabela 2. Tempo de desenvolvimento larval (dias) (Média \pm EP) de populações de *Anticarsia gemmatalis*¹ suscetível (S) e resistente (R) ao VPNMAG, alimentadas em dieta contendo rutina (0,65% e 1,30%) ou não (DN). Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Tratamento	Número de dias/ ínstar larval						Total (dias)
	2º /3º	3º	4º	5º	6º		
DN + S	1,0 \pm 0,00 c	1,7 \pm 0,07 c	2,0 \pm 0,05 c	1,6 \pm 0,07 b	1,4 \pm 0,07 c	7,6 \pm 0,10 c	
DN + R	1,0 \pm 0,00 c	2,3 \pm 0,10 c	2,2 \pm 0,09 c	1,7 \pm 0,09 b	1,7 \pm 0,11 bc	8,9 \pm 0,24 c	
0,65% + S	1,1 \pm 0,05 c	3,5 \pm 0,16 b	3,0 \pm 0,14 b	2,2 \pm 0,14 ab	2,5 \pm 0,15 b	12,2 \pm 0,33 b	
0,65% + R	2,1 \pm 0,28 a	4,4 \pm 0,36 a	3,9 \pm 0,36 a	2,1 \pm 0,27 ab	4,5 \pm 0,55 a	17,1 \pm 0,89 a	
1,30% + S	1,5 \pm 0,14 b	4,9 \pm 0,35 a	3,8 \pm 0,50 a	2,8 \pm 0,39 a	3,9 \pm 0,62 a	17,0 \pm 1,05 a	
Valor de F	36,83***	64,05***	27,61***	8,66***	34,01***	113,68***	

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. (P<0,05).
*** P<0,001

1. Insetos provenientes do tratamento 1,30% + R foram desconsideradas das análises estatísticas pelo número reduzido de repetições.

Tabela 3. Peso seco inicial de lagartas de 2^o/3^o instar (mg), peso seco de pupa (mg), dieta consumida (mg), dieta consumida (mg), peso de fezes (mg) e % de lipídios (Média ± EP) de populações de *Anticarsia gemmatalis*¹ suscetível (S) e resistente (R) ao VPMMAG, alimentadas em dieta contendo rutina (0,65% e 1,30%) ou não (DN). Temperatura de 25 ± 2°C, UR de 70 ± 10% e fotofase de 12h.

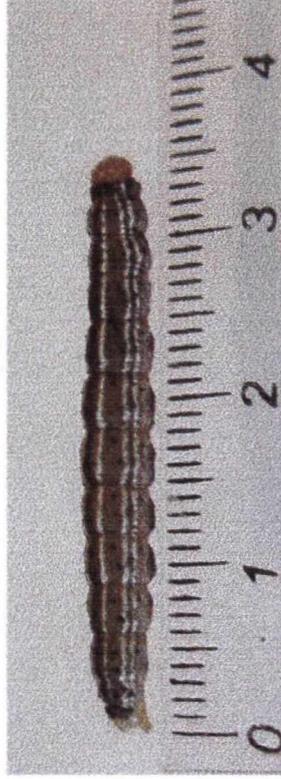
Tratamento	Peso seco inicial de lagartas (mg)	Peso seco de pupa (mg)	Dieta consumida (mg)	Peso de fezes (mg)	Lipídios (%)
DN + S	0,69 ± 0,01 a	61,5 ± 1,51 a	297,8 ± 7,12 a	161,0 ± 4,07 a	19,6 ± 0,75 a
DN + R	0,52 ± 0,01 b	54,7 ± 1,29 ab	246,5 ± 5,36 b	138,0 ± 3,06 a	19,0 ± 0,85 ab
0,65% + S	0,45 ± 0,01 o	52,2 ± 1,87 bc	262,6 ± 9,00 ab	146,4 ± 5,82 a	17,7 ± 1,16 ab
0,65% + R	0,25 ± 0,01 e	40,9 ± 2,77 d	241,0 ± 17,79 b	111,4 ± 7,00 b	12,9 ± 1,00 c
1,30% + S	0,33 ± 0,06 d	45,9 ± 3,19 cd	226,0 ± 11,98 b	143,3 ± 7,83 a	14,7 ± 1,42 bo
Valor de F	134,64***	13,84***	10,13***	9,52***	4,87**

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas, nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, (P<0,05).

** P<0,01, *** P<0,001

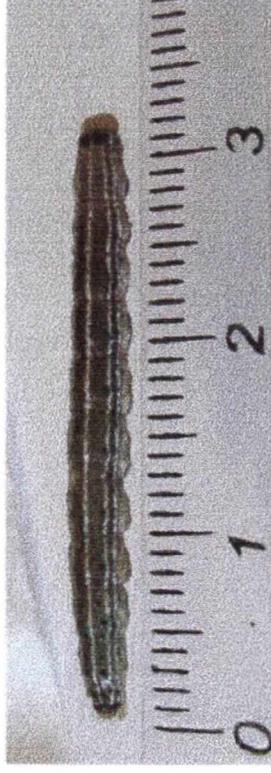
1. Insetos provenientes do tratamento 1,30% + R foram desconsideradas das análises estatísticas pelo número reduzido de repetições.

Lagartas suscetíveis ao VPNMAG (S)

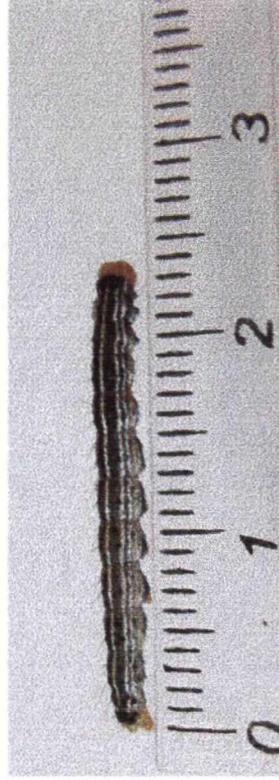


DN

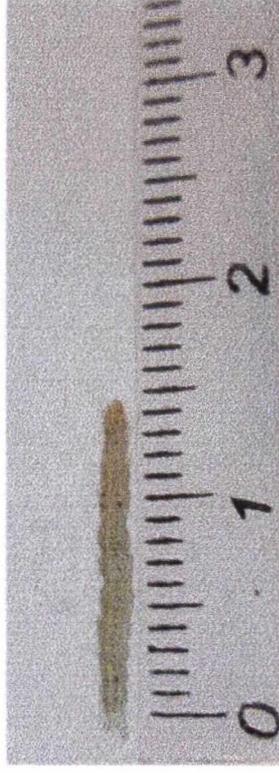
Lagartas resistentes ao VPNMAG (R)



DN



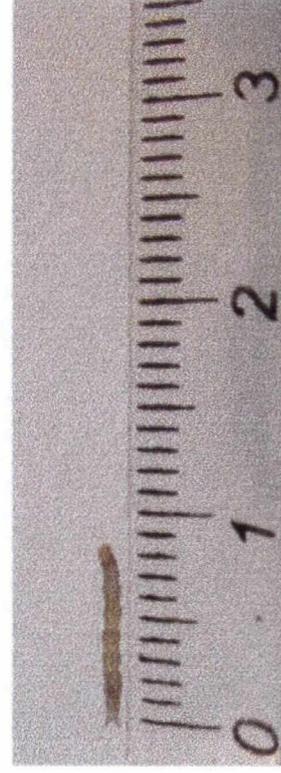
0,65% rutina



0,65% rutina



1,30% rutina



1,30% rutina

Figura 1. *Anticarsia gemmatalis* suscetível (S) e resistente (R) ao VPNMAG, com 9 dias após a eclosão, alimentadas em dieta contendo rutina (0,65% e 1,30%) ou não (DN). Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

3.3.2. Crescimento, consumo alimentar, eficiência na assimilação e conversão dos alimentos ingeridos e digeridos em biomassa, ganho do peso e conteúdo de lipídios de populações de *Anticarsia gemmatalis* suscetível (S) e resistente (R) ao VPNMAg

A análise de covariância (ANCOVA) não indicou efeito interativo entre a covariável tempo de desenvolvimento e o peso de pupa e a quantidade de dieta consumida pelos insetos nos diferentes tratamentos (Tabela 4). Conseqüentemente, essas relações podem ser representadas pelo modelo de linhas paralelas. O efeito principal do tratamento foi significativo apenas para a quantidade de dieta consumida, mostrando que, mesmo após a remoção do efeito do tempo de desenvolvimento, a quantidade de dieta consumida continuou afetada pelos diferentes tratamentos.

Tabela 4. Análise de Covariância (ANCOVA) para verificar os efeitos dos diferentes tratamentos no ajuste de peso de pupa e quantidade de dieta consumida de *Anticarsia gemmatalis*, pela covariável tempo de desenvolvimento.

Variação	GL	Valor de F	
		Peso de pupa	Dieta consumida
Tempo de desenvolvimento (Covariável)	1	0,88 ^{ns}	1,17 ^{ns}
Tratamento	4	10,85 ^{ns}	1,00 ^{ns}
Tempo de desenvolvimento x Tratamento	4	0,87 ^{ns}	0,78 ^{ns}
Resíduo	161	-	-

Tratamento	4	1,91 ^{ns}	6,13 ^{***}
Tempo de desenvolvimento	1	10,89 ^{**}	1,00 ^{ns}
Resíduo	165	-	-

P<0,01, * P< 0,001, ns- não significativo

O crescimento dos insetos e a quantidade de dieta consumida (Figuras 2 e 3) estão negativamente relacionados com o tempo de desenvolvimento, ou seja, aqueles insetos que se alimentaram por um período maior (0,65% + R e 1,30% + S) não mostraram aumento proporcional no peso de pupa e na quantidade de alimento consumido. A média resultante da ANCOVA (gráfico de barras inserido na Figura 3)

indica que insetos provenientes da população suscetível, que se alimentaram de dieta normal, desenvolveram-se mais rapidamente e alimentaram-se de maiores quantidades de dieta, não se diferenciando, entretanto, de insetos provenientes dos tratamentos com 0,65% de rutina, nas populações suscetível e resistente ao VPNMAg. Isso evidencia o fato de que insetos que consumiram dietas contendo rutina (população S e R) ou não (população R), tentaram compensar a baixa qualidade nutricional e custos metabólicos que sofreram (população R), para tentar atingir o peso ideal para posterior fase de pupa e um melhor desempenho reprodutivo.

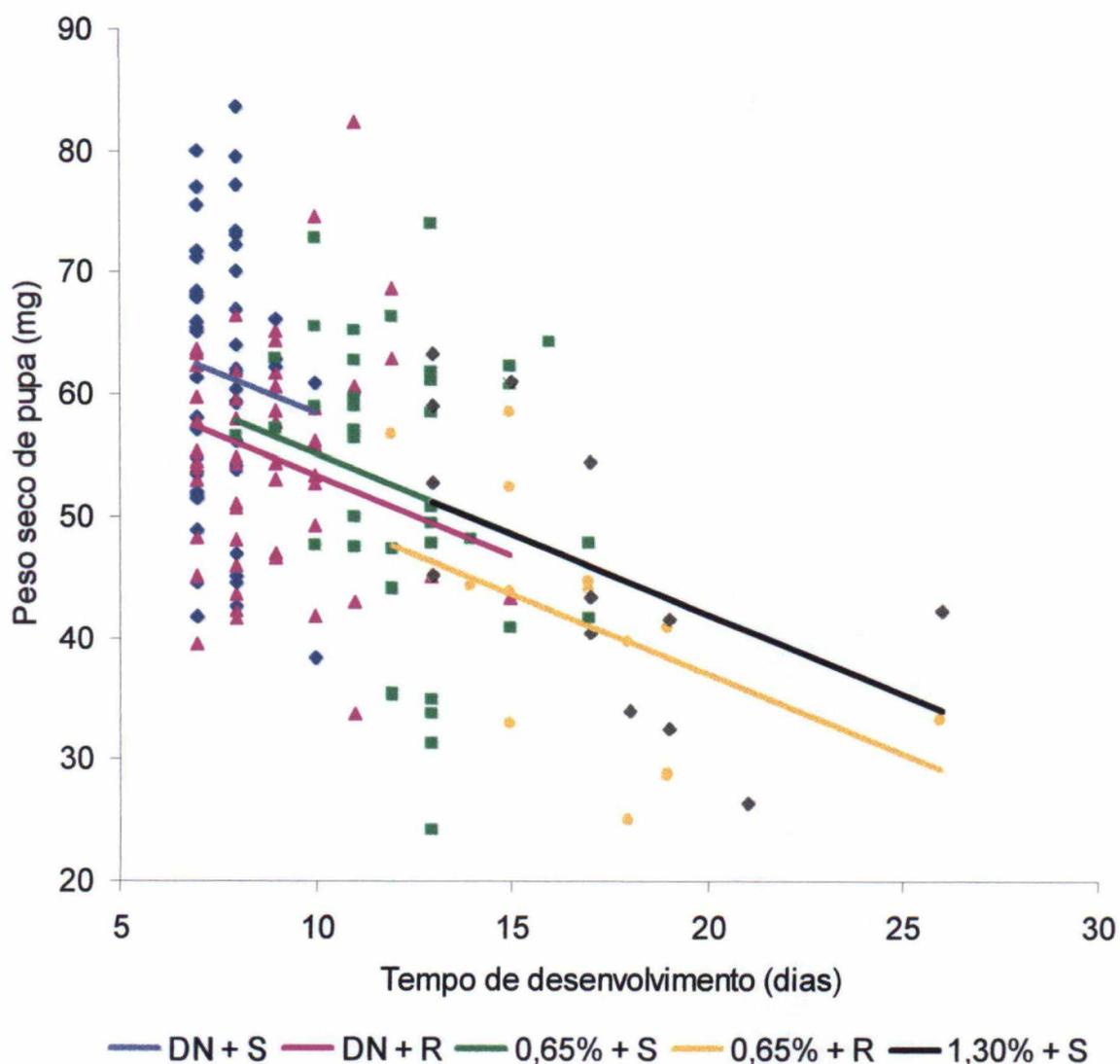


Figura 2. Relação entre peso seco de pupa (mg) e tempo de desenvolvimento (dias) de duas populações de *Anticarsia gemmatalis* (S e R), alimentadas em dieta contendo rutina (0,65% e 1,30%) ou não (DN). Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

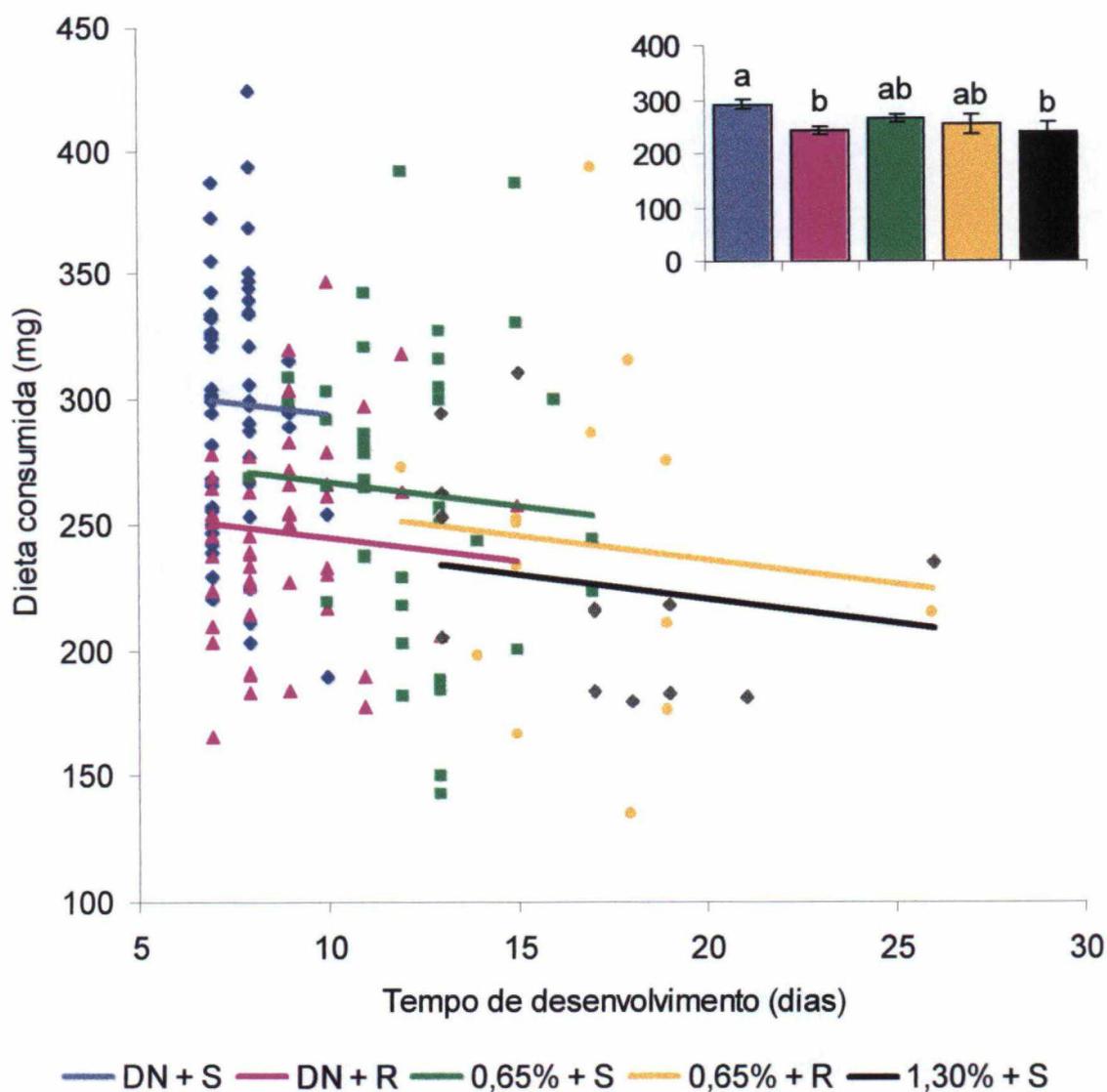


Figura 3. Relação entre a quantidade de dieta consumida (mg) e tempo de desenvolvimento (dias) de duas populações de *Anticarsia gemmatalis* (S e R), alimentadas em dieta contendo rutina (0,65% e 1,30%) ou não (DN). Gráfico de barras mostra a quantidade de dieta consumida pelas médias resultantes da ANCOVA. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

A análise de covariância para ganho de peso dos insetos não indicou interação significativa entre o peso inicial das lagartas e os tratamentos (Tabela 5a, Figura 4). O efeito principal dos tratamentos não foi significativo, mostrando que após a remoção do efeito do peso inicial das lagartas, o ganho de peso proporcional dos insetos não foi influenciado pelos diferentes tratamentos. A quantidade de alimento digerido (covariável) e os diferentes tratamentos influenciaram significativamente o peso de

pupa dos insetos (Tabela 5b); o crescimento do inseto se mostrou dependente de um efeito interativo entre o alimento digerido e os diferentes tratamentos. Uma relação positiva entre os fatores pode ser observada na Figura 5, indicando que o peso de pupa aumentou com o aumento no consumo para todos os tratamentos. Algumas particularidades, entretanto, podem ser observadas quando os tratamentos são colocados em um gráfico de dispersão bicoordenado. Lagartas do tratamento 0,65% + R, tenderam a um menor aumento de seu peso, mesmo quando o alimento digerido aumentou, evidenciando o custo metabólico a que são submetidas. Essa análise foi proposta por Raubenheimer & Simpson (1992) como alternativa à eficiência na conversão do alimento digerido em biomassa.

Tabela 5. Análise de Covariância (ANCOVA) para verificar os efeitos dos diferentes tratamentos no ajuste de peso de pupa de *Anticarsia gemmatalis*, pelas covariáveis peso inicial (a) e alimento digerido (b).

Variação	GL	Valor de F
		Peso de pupa
(a) Peso inicial (Covariável)	1	1,02 ^{ns}
Tratamento	4	1,89 ^{ns}
Peso inicial x Tratamento	4	0,79 ^{ns}
Resíduo	161	-
Tratamento	4	1,62 ^{ns}
Peso Inicial	1	1,90 ^{ns}
Resíduo	165	-

(b) Alimento digerido (Covariável)	1	3,35*
Tratamento	4	75,66***
Alimento digerido x Tratamento	4	7,19***
Resíduo	161	-

* P < 0,05, *** P < 0,001, ns- não significativo

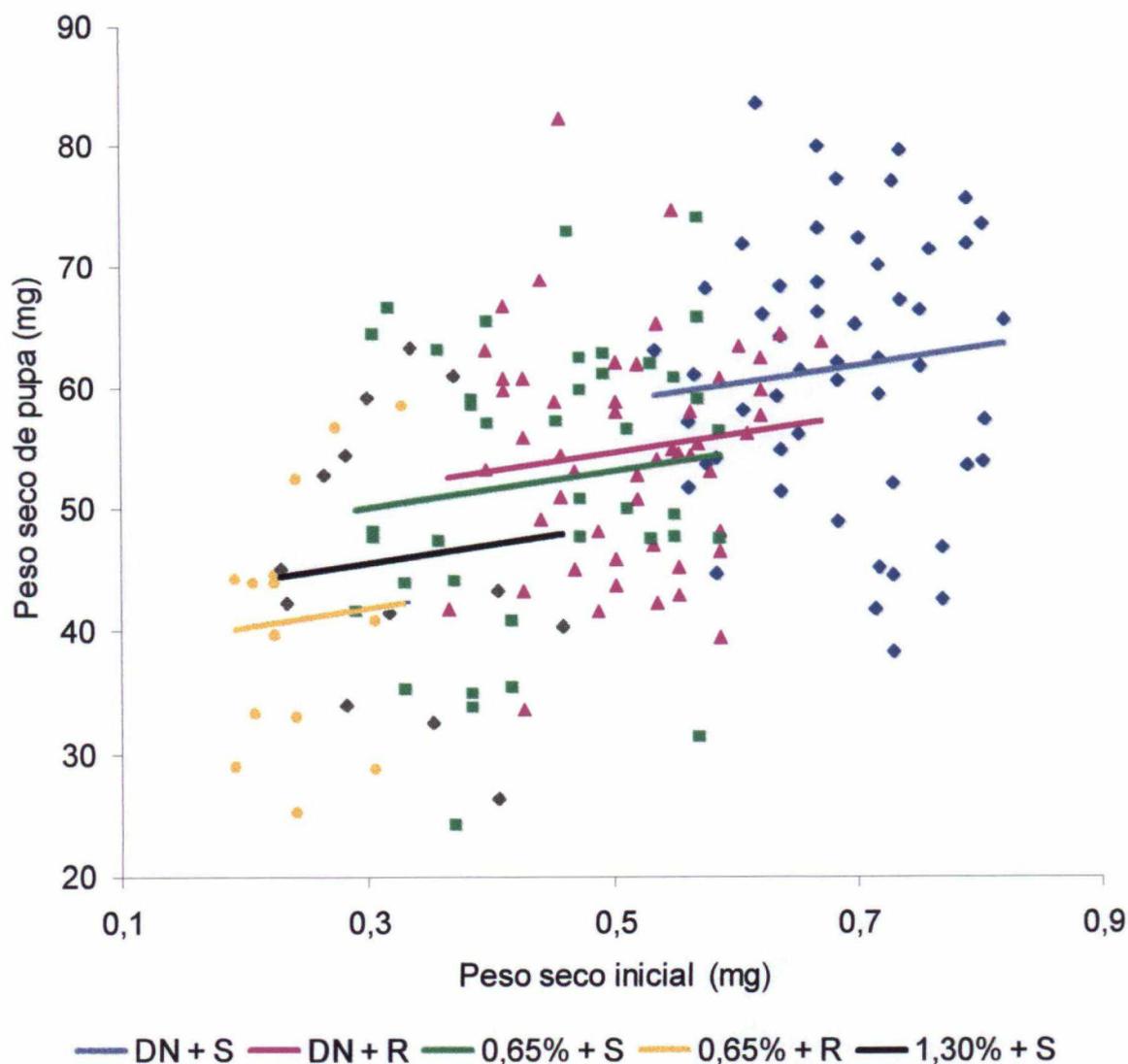


Figura 4. Relação entre peso seco de pupa (mg) e peso seco inicial de lagartas (mg) de duas populações de *Anticarsia gemmatalis* (S e R), alimentadas em dieta contendo rutina (0,65% e 1,30%) ou não (DN). Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Segundo Raubenheimer & Simpson (1994), gráficos de dispersão bicoordenados podem ajudar a distinguir quando um alimento afetou o inseto quantitativamente, ou qualitativamente. As diferenças na eficiência de utilização de um determinado nutriente por um inseto, alterando a ingestão, pode afetá-lo de forma quantitativa. No entanto, quando o efeito é o resultado de um outro fator, como a presença de toxinas no alimento, a influência no inseto é causada por um fator qualitativo. As Figuras 5, 6, 7 e 8 mostram claramente a existência de um fator

qualitativo afetando o desempenho das lagartas da população resistente que se alimentaram de dieta contendo rutina (0,65%); fato esse evidenciado pelas menores inflexões da reta nesse tratamento.

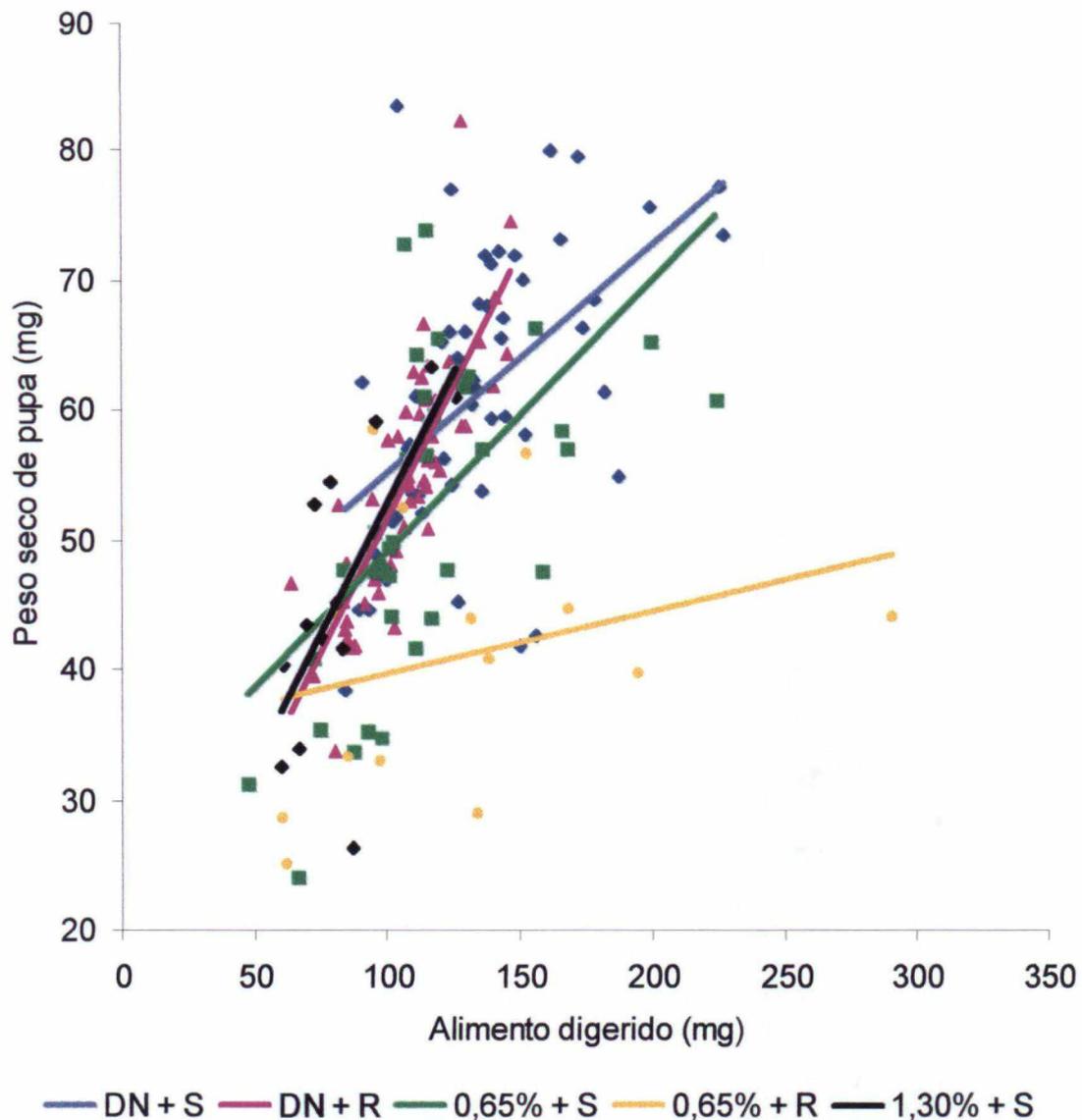


Figura 5. Relação entre peso de pupa (mg) e quantidade de alimento digerido (mg) de duas populações de *Anticarsia gemmatalis* (S e R), alimentadas em dieta contendo rutina (0,65% e 1,30%) ou não (DN). Temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

A quantidade de dieta consumida (covariável) e os diferentes tratamentos afetaram significativamente o peso de pupa e o peso de fezes (Tabela 6). O crescimento e a quantidade de fezes produzidas pelos insetos foram dependentes de um efeito interativo entre a covariável e os tratamentos. Nos gráficos de dispersão

bicoordenados (Figura 6 e 7) pode ser observado, novamente, uma relação positiva entre os fatores. Entretanto, lagartas do tratamento 0,65% + R apresentaram, novamente, a menor inclinação da reta. Isto indica menor eficiência na conversão do alimento ingerido em biomassa (Figura 6), uma vez que mesmo aumentando o consumo, as lagartas não ganharam mais peso. Insetos provenientes do tratamento 0,65% + R consumiram menos, mas provavelmente para compensar a baixa qualidade nutricional do alimento produziram menos fezes.

Tabela 6. Análise de Covariância (ANCOVA) para verificar os efeitos dos diferentes tratamentos no ajuste do peso de pupa e peso de fezes de *Anticarsia gemmatalis*, pela covariável quantidade de dieta consumida.

Variação	GL	Valor de F	
		Peso de pupa	Peso de fezes
Dieta consumida (Covariável)	1	2,41 ^{ns}	3,30*
Tratamento	4	229,23***	343,55***
Dieta consumida x Tratamento	4	3,86**	6,74***
Resíduo	161	-	-

* P<0,05, **P<0,01, *** P< 0,001, ns- não significativo

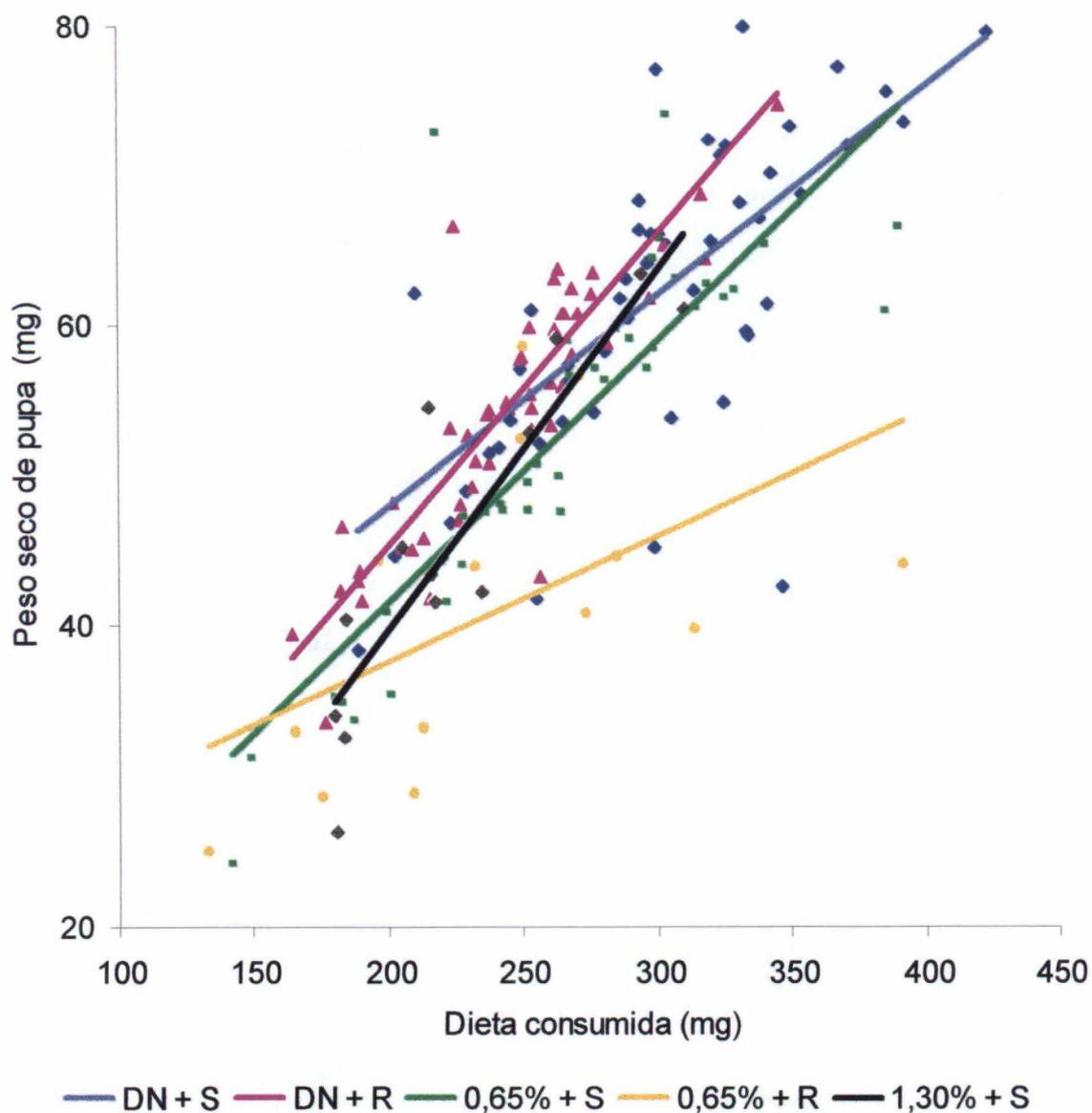


Figura 6. Relação entre quantidade de dieta consumida (mg) e peso seco de pupa (mg) de duas populações de *Anticarsia gemmatalis* (S e R), alimentadas em dieta contendo rutina (0,65% e 1,30%) ou não (DN). Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

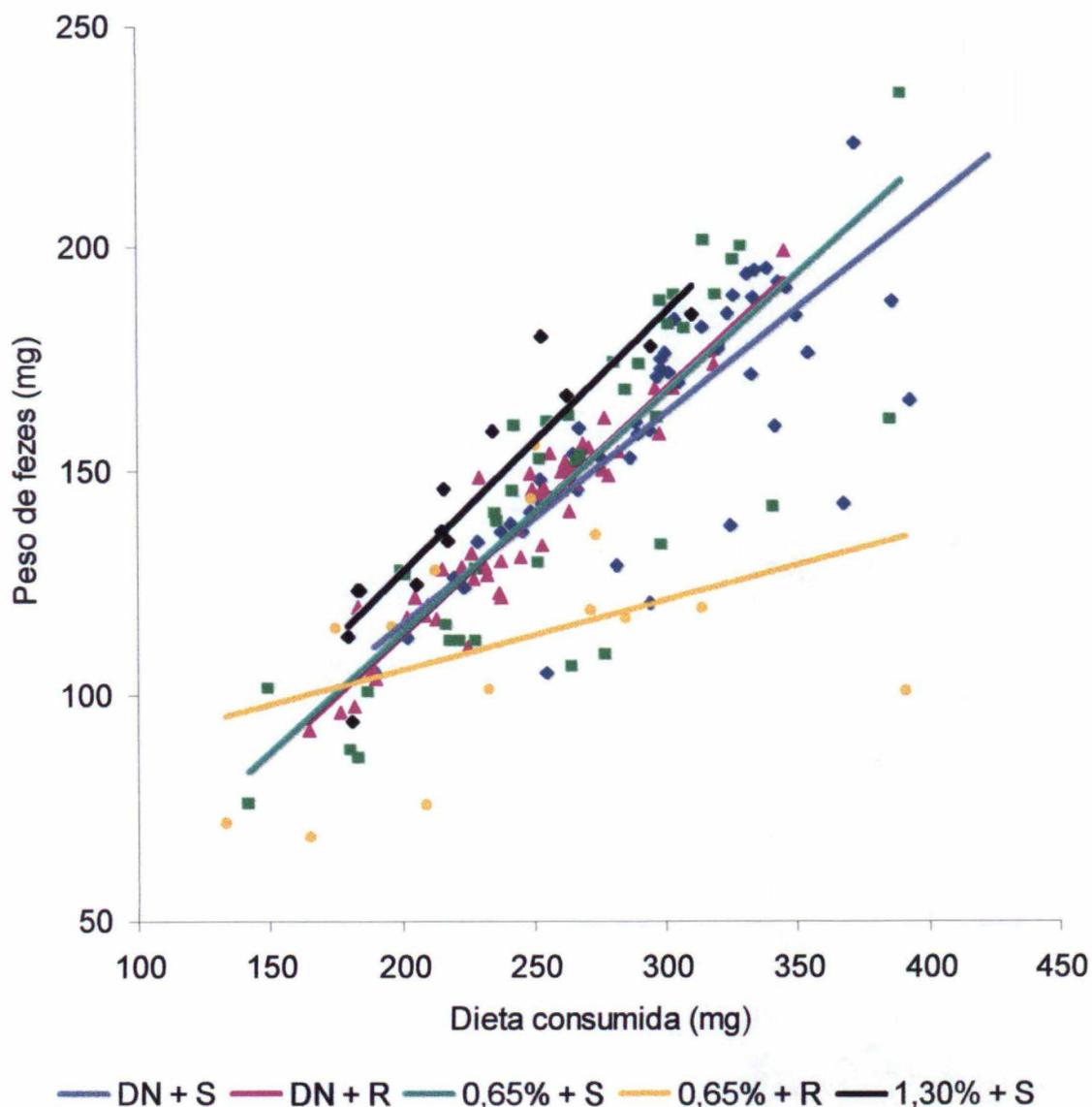


Figura 7. Relação entre quantidade de dieta consumida (mg) e peso seco de fezes (mg) de duas populações de *Anticarsia gemmatalis* (S e R), alimentadas em dieta contendo rutina (0,65% e 1,30%) ou não (DN). Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Efeito interativo foi observado entre a covariável peso de pupa e os diferentes tratamentos em relação ao acúmulo de lipídios nos insetos (Tabela 7). Na Figura 8, pode ser observada uma relação positiva entre os fatores nos diferentes tratamentos, ou seja, quanto maior o peso de pupa, maior o acúmulo de lipídios nos insetos alimentados nos diferentes tratamentos. Entretanto, a inclinação da reta dos dados obtidos com os insetos do tratamento 0,65% + R indicam menor eficiência no acúmulo de lipídios, em comparação com insetos provenientes dos outros tratamentos.

Tabela 7. Análise de Covariância (ANCOVA) para verificar os efeitos dos diferentes tratamentos no ajuste da quantidade de lipídios acumulada por *Anticarsia gemmatalis*, pela covariável peso de pupa.

Variação	GL	Valor de F
		Lipídios
Peso de pupa (Covariável)	1	3,92**
Tratamento	4	361,68***
Peso de pupa x Tratamento	4	3,92**
Resíduo	161	-

P<0,01, * P< 0,001

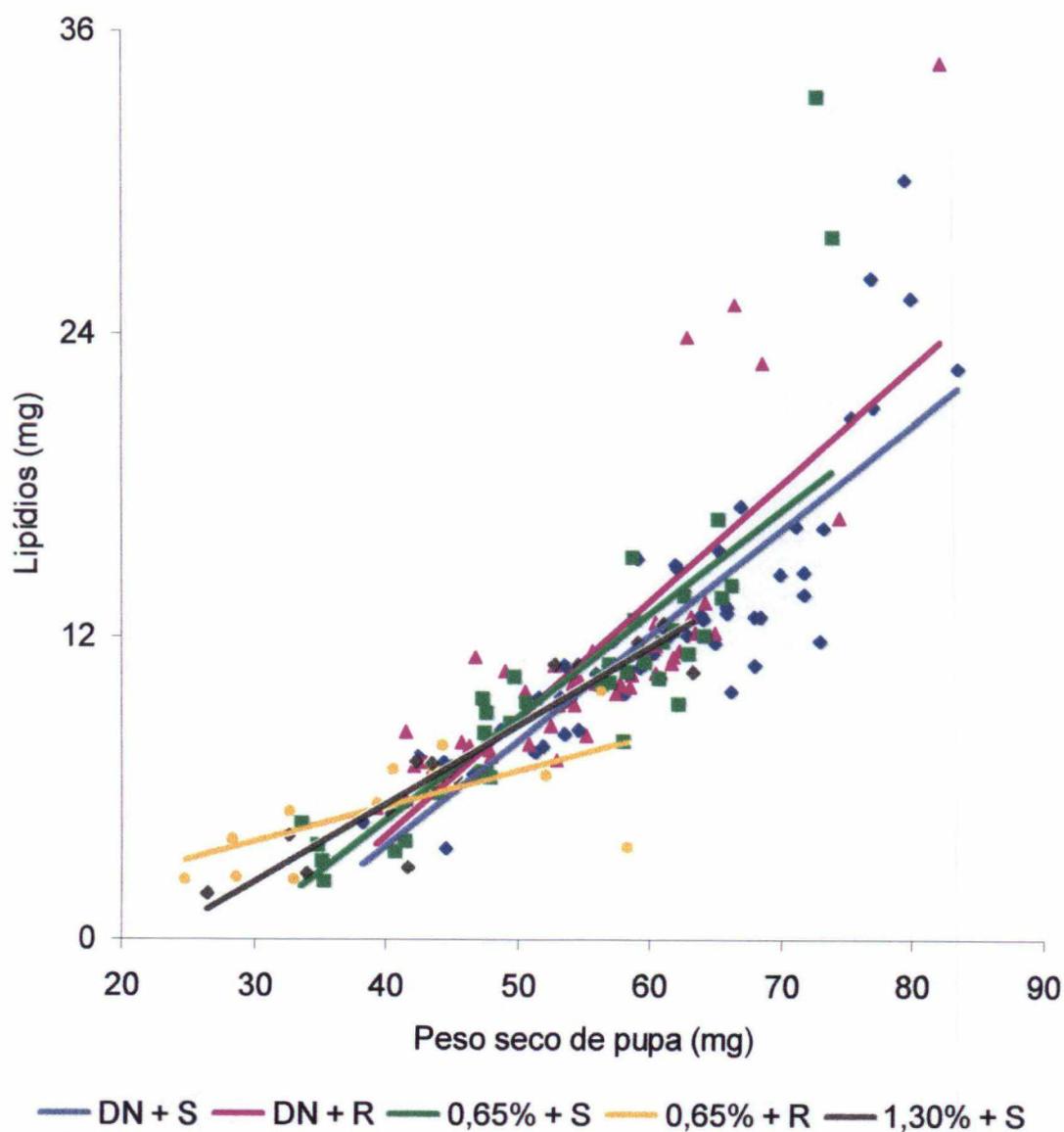


Figura 8. Relação entre peso de pupa (mg) e quantidade de lipídios acumulada (mg) por duas populações de *Anticarsia gemmatalis* (S e R), alimentadas em dietas contendo rutina (0,65% e 1,30%) ou não (DN). Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Os dados referentes à população suscetível ao vírus concordam com os obtidos por Hoffmann-Campo *et al.* (1998). Esses autores observaram maior porcentagem de mortalidade, prolongamento do tempo de desenvolvimento, menor peso de pupa, redução no consumo, no crescimento, na assimilação e na eficiência na conversão do alimento ingerido e digerido, além de menor acúmulo de lipídios em lagartas de *A. gemmatalis* alimentadas com rutina (0,65% e 1,30%).

Embora a diminuição no consumo alimentar tenha sido a variável mais afetada pela adição de rutina, efeito pós-ingestivo (Glendinning 2002) também foi observado em lagartas de ambas populações quando a rutina foi adicionada à dieta artificial. Assim como, lagartas de *Manduca sexta* (L.) (Lepidoptera: Sphingidae) (Stamp & Skrobola 1993) e *Trichoplusia ni* (Hub.) (Lepidoptera: Noctuidae) (Hoffmann-Campo *et al.* 2001) alimentando-se de dieta artificial contendo rutina, apresentaram menores pesos de pupas, menor conversão do alimento em biomassa e menor digestibilidade, entretanto, falharam em detectar a rutina na dieta, pois o consumo não foi afetado pelo flavonóide.

Lagartas da população resistente ao VPNMAg, notavelmente foram mais afetadas pela rutina, em comparação com lagartas da população suscetível, mesmo quando 0,65% de rutina foi adicionado à dieta; este fato está provavelmente, relacionado ao custo metabólico que a resistência ao VPN causa a essa população. Os resultados indicam que a rutina, agindo como deterrente alimentar e reduzindo o consumo, aparentemente pode contribuir para a diminuição da resistência de *A. gemmatalis* ao VPNMAg. Esses resultados podem contribuir para o desenvolvimento de futuras pesquisas no manejo da resistência ao VPNMAg, caso essa venha a se manifestar em condições de campo. Entretanto, mais estudos se fazem necessários, principalmente no que diz respeito ao estudo do efeito da rutina no desempenho reprodutivo e em gerações posteriores dessa população.

3.4. Literatura Citada

- Abot, A.R. 1997.** Parâmetros para produção de vírus de poliedrose nuclear *Baculovirus anticarsia*, visando o controle de *Anticarsia gemmatalis*, Hubner 1818 (Lepidoptera: Noctuidae). Tese de doutorado. Universidade Federal do Paraná, UFPR, Curitiba, 94p.
- Abot, A.R., F. Moscardi, J.R. Fuxa, D.R. Sosa-Gomez & A.R. Richter. 1996.** Development of resistance by *Anticarsia gemmatalis* from Brazil and United States to a nuclear polyhedrosis virus under laboratory selection pressure. *Biol. Control* 7: 126-130.
- Banzatto, D.A. & S.N. Kronka. 1992.** Experimentação Agrícola. Jaboticabal, Funep, 247p.
- Brought, C.N. & A.F.G. Dixon. 1989.** Intra-clonal trade-off between reproductive investment and size of fat body in the vetch aphid, *Megoura viciae* Buckton. *Funct. Ecol.* 3: 747-751.
- Felton, G.W., S.S. Duffey, P.V. Vail, H.K. Kaya & J. Manning. 1987.** Interaction of nuclear polyhedrosis virus with catechols: Potential incompatibility for host-plant resistance against noctuid larvae. *J. Chem. Ecol.* 13: 947-957.
- Felton, G.W. & S.S. Duffey. 1990.** Inactivation of baculovirus by quinones formed in insect damaged plant tissues. *J. Chem. Ecol.* 16: 1221-1236.
- Glendinning, J.I. 2002.** How do herbivorous insects cope with noxious secondary plant compounds in their diet ? *Entom. Exp. Applic.* 104: 15-25.
- Greene, G.L., N.C. Leppla & W.A. Dickerson. 1976.** Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. *J. Econ. Entomol.* 69: 487-488.
- Hoffmann-Campo, C.B. 1995.** Role of the flavonoids in the natural resistance of soyabean to *Heliothis virescens* (F.) and *Trichoplusia ni* (Hübner). Ph.D. Dissertation, The University of Reading, Reading, 165p.
- Hoffmann-Campo, C.B., E.B. Oliveira & F. Moscardi. 1985.** Criação massal da lagarta da soja *Anticarsia gemmatalis*. EMBRAPA-CNPSO, Documentos 10, 23p.
- Hoffmann-Campo, C.B., J.A. Ramos Neto, M.C.N. Oliveira & L.J. Oliveira. 1998.** Behavioural and physiological effects of rutin on *A. gemmatalis*. In X International Symposium on Insect-Plant Relationships, Oxford, UK (Abstracts), p.95.

- Hoffmann-Campo, C.B., J.B. Harbone & A.R. McCaffery. 2001.** Pre-ingestive and post-ingestive effects of soya bean extracts and rutin on *Trichoplusia ni* growth. *Entomol. Exp. Applic.* 98: 181-194.
- Hoffmann-Campo, C.B., L.J. Oliveira, F. Moscardi, D.L. Gazzoni, B.S. Corrêa-Ferreira, I.A. Lorini, M. Borges, A.R. Panizzi, D.R. Sosa-Gomez & I. Corso. 2003.** Integrated pest management in Brazil, p. 285-299. In K.M. Maredia, D. Dakouo & D. Mota-Sanches (eds), *Integrated pest management in the global arena*. Trowbridge, UK, CABI Publishing, Cromwell Press, 512p.
- Kogan, M. 1986.** Natural chemical in plant resistance to insects. *Iowa State J. Res.* 60: 501-527.
- Mason, L.J., S.J. Johnson & J.P. Woodring. 1989.** Influence of carbohydrate deprivation and tethered flight on stored lipid, fecundity, and survivorship of the soybean looper (Lepidoptera: Noctuidae). *Environ. Entomol.* 13: 18:24.
- Moscardi, F. 1999.** Assesment of the application of baculovirus for control of lepidoptera. *Annu. Rev. Entomol.* 44: 257-289.
- Moscardi, F. & D.R. Sosa-Gomez. 1992.** Use of viruses against soybean caterpillars in Brazil, p. 98-107. In L.G. Copping, M.B. Green & R.T. Rees (eds.), *Pest Management in Soybean*. Essex, SCI Elsevier Applied Science, 369p.
- Moscardi, F. & M.L. Souza de. 2002.** Baculovirus para o controle de pragas. *Biocologia Ciência & Desenvolvimento* 24: 22-29.
- Milks, M.L. 1997.** Comparative biology and susceptibility of cabbage looper (Lepidoptera: Noctuidae) lines to a nuclear polyhedrosis virus. *Environ. Entomol.* 26: 839-848.
- Peng, F., J.R. Fuxa, S.J. Johnson & A.R. Richter. 1997.** Susceptibility of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae), reared on four host plants, to a nuclear polyhedrosis virus. *Environ. Entomol.* 26: 973-977.
- Pietrowski, V. 2000.** Avaliação dos mecanismos genéticos da resistência de *Anticarsia gemmatalis* Hubner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) ao seu vírus da poliedrose nuclear. Tese de doutorado. Universidade Federal do Paraná, UFPR, Curitiba, 79p.
- Raubenheimer, D. 1995.** Problems with ratio analysis in nutritional studies. *Funct. Ecol.* 9: 21-29.
- Raubenheimer, D. & S.J. Simpson. 1992.** Analysis of covariance: an alternative to nutritional indices. *Entomol. Exp. Appl.* 62: 221-231.

- Raubenheimer, D. & S.J. Simpson. 1994.** The analysis of nutrition budgets. *Funct. Ecol.* 8: 783-791.
- SAS Institute. 1996.** SAS Propriety Software Release 6.12. SAS-STAT User's guide. Vol II. SAS Institute, Cary, N.C., 1686p.
- Schmidt, D.J. & J.C. Reese. 1986.** Sources of errors in nutritional index studies of insects on artificial diet. *J. Insect. Physiol.* 32: 193-198.
- Soo Hoo, C.F. & G. Fraenkel. 1966.** The selection of food plants in a polyphagous insect, *Prodenia eridania* (Cramer). *J. Insect. Physiol.* 12: 693-709.
- Sosa-Gomez, D.R. & F. Moscardi. 2001.** Resistencia de lepidópteros a los nucleopoliedrovirus: el caso de *Anticarsia gemmatalis* – VPNMAg, p 451-478. In P. Caballero, M. López-Ferber & T. Williams. (eds.), *Los Baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el Control biológico de plagas*. Phytoma-España, Universidad Pública de Navarra, 518 p.
- Stamp, N.E. & C.M. Skrobola. 1993.** Failure to avoid rutin diets results in altered food utilization and reduced growth rate of *Manduca sexta* larvae. *Entomol. Exp. Aplic.* 68: 127-142.
- Valicente, F.H. & I. Cruz. 1991.** Controle biológico da lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda*, com o baculovirus. Embrapa, Circular Técnica 15, 23p.
- Van Loon, J.J.A. 1991.** Measuring food utilization in plant feeding insects - towards a metabolic and dynamic approach, p.79-124 In E.A. Bernays (ed.), *Insect-plant Interactions*, Vol. III, CRC Press, 258p.
- Vendramim, J.D. & E. Castiglioni. 2000.** Aleloquímicos, resistência de plantas e plantas inseticidas, p. 113-128. In J.C. Guedes, I.D. Costa & E. Castiglioni (eds), *Bases e técnicas do manejo integrado de insetos*. Santa Maria, UFSM/CCR/DFS, Pallotti, 248p.
- Waldbauer, G.P. 1968.** The consumption and utilization of food by insects. *Adv. Insect. Physiol.* 5: 229-288.

CAPÍTULO 4

Identificação e quantificação de flavonóides em genótipos de soja com resistência a insetos

4.1. Introdução

A maioria das plantas selvagens ou cultivadas possui algum grau de resistência a insetos (Kogan 1986). Quando resultantes de fatores químicos, a resistência é, em geral, devido a metabólitos secundários presentes na planta (Kubo & Hanke 1986). Comparados com plantas de outras famílias (como Brassicaceae e Solanaceae), a soja [*Glycine max* (L.) Merrill] (Fabaceae) e outras leguminosas não apresentam metabólitos secundários com potencial aleloquímico evidente (Kogan 1986), entretanto, muitos flavonóides, constitutivos ou induzidos, foram identificados, em diferentes órgãos da planta (Hoffmann-Campo 1995). Esses compostos fenólicos desempenham importante função na defesa da planta contra microrganismos e insetos pragas (Dixon & Steele 1999). Alguns deles podem ser atraentes, deterrentes, repelentes, ou tóxicos às pragas que atacam a cultura da soja (Neupane & Norris 1990; Sharma & Norris 1991; Hoffmann-Campo *et al.* 2001).

Nas células vivas, os flavonóides ocorrem na forma de glicosídeos, ou seja, os aglicosídeos são ligados a um ou mais açúcares, e armazenados nos vacúolos das células. Provavelmente, a glicosidação (aglicosídeo + açúcar) é o processo responsável por manter o aglicosídeo, que é o material mais tóxico numa forma não ativa na planta (Harborne 1991). Os aglicosídeos são normalmente mais tóxicos e menos polares do que os glicosídeos, e são encontrados na superfície das folhas e frondes (Markham 1989), sendo comum em plantas de regiões áridas ou semi-áridas (Wollenweber 1991).

Diversos flavonóides já foram descritos, sendo estimado que pelo menos 4000 estruturas são conhecidas (Harborne 1988). Embora variem na forma estrutural, são basicamente compostos por 15 átomos de carbono arranjados na configuração C₆-C₃-C₆ ou dois anéis aromáticos ligados por unidades de carbono, podendo ou não constituir um terceiro anel (Markham 1982), dependendo da classe a que pertencem. Todos os flavonóides são relacionados a uma via metabólica biossintética, oriunda da via metabólica do malonato e do chiquimato (Markham 1989).

Em soja, flavonóides foram identificados em diversas partes de genótipos de soja (Hoffmann-Campo 1995). A bioatividade do extrato foliar da PI 227687, resistente a insetos foi testado em *Heliothis (Helicoverpa) zea* (Boddie) (Hoffmann-Campo 1995) e *Trichoplusia ni* (Hubner) (Hoffmann-Campo *et al.* 2001). A fisiologia e o comportamento das lagartas que se alimentaram de dieta artificial contendo esses extratos foram negativamente afetados. Os efeitos persistiram quando, após fracionamento, a fração mais polar, denominada A foi adicionada à dieta oferecida às lagartas (Hoffmann-Campo 1995; Hoffmann-Campo *et al.* 2001). Esta fração é composta, principalmente, de duas quercitinas, quercitina 3-O-galactosídio, rutina (quercitina 3-O-rutinosídio) e genistina (4',5,7-trihydroxyisoflavonoide). A rutina também afeta negativamente o desenvolvimento de *Anticarsia gemmatalis* Hubner, considerada a praga desfolhadora mais importante da cultura da soja no Brasil (Hoffmann-Campo *et al.* 1998).

Cultivares com nível moderado de resistência a insetos, em associação com outros métodos de manejo integrado de pragas, podem diminuir ou até mesmo eliminar o uso de inseticidas, contribuindo assim para a sustentabilidade ecológica de sistemas agrícolas. Rutina e genistina têm sido relatadas como as substâncias mais evidentes associadas à resistência de soja a desfolhadores. Este trabalho teve como objetivo identificar e quantificar teores dos flavonóides rutina e genistina em genótipos de soja utilizados como fonte de resistência a insetos nos programas de melhoramento da Embrapa Soja.

4.2. Material e Métodos

4.2.1. Procedimento experimental

Os genótipos de soja com característica de resistência a insetos (PI 227687, PI 274454, PI 229358 e 'IAC-100') e 'BR-16' (suscetível) foram semeados em casa de vegetação da Embrapa Soja, Londrina. Quando atingiram o estágio V6 (Fehr & Caviness 1977), o 4º trifólio de cada genótipo foi retirado e levado ao laboratório de Fitoquímica. Depois de retirados os pecíolos, cada trifólio foi cortado em pequenos pedaços. Alíquotas de cada amostra (500 mg) foram pesadas e acondicionadas em tubos de vidro, onde foram adicionados 5,0 ml de MeOH a 80%. Os tubos foram levados ao banho maria (90°C) até fervura. Posteriormente, os tubos de vidro com as

amostras permaneceram em agitação constante (150 r.p.m.) por, aproximadamente, 18h, sendo o sobrenadante extraído, após o término desse período, com auxílio de pipeta tipo "Pasteur", transferido para beakers (com capacidade para 50 ml) e armazenado em geladeira até completa secagem (\pm 96h). Após secagem, houve ressolubilização em 1,0 ml de MeOH a 80%. As amostras foram, então, transferidas para tubos de microcentrífuga e armazenadas em freezer (-17°C) para posterior análise em cromatógrafo Shimadzu, Sistema CLAE - Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência, modelo SPD-M10 VP.

4.2.2. Análises cromatográficas e quantificação de rutina e genistina

As análises foram realizadas em coluna de fase reversa CLS-ODS-C18 (M) do grupo octadesyl, com diâmetro interno de 4,6 mm e 250 mm de comprimento. Na eluição dos flavonóides foi utilizado um sistema de gradiente linear, modificado de Hoffmann-Campo (1995). A fase móvel consistiu de ácido acético (HOAc) a 2% (J.T.Baker, grau HPLC) e uma solução composta de metanol (MeOH) (J.T.Baker, grau HPLC), ácido acético e água, na proporção de 18:1:1 (MeOH:HOAc:H₂O). O sistema inicial do gradiente foi composto 75% de HOAc e 25% de MeOH:HOAc:H₂O. Aos 23 minutos o sistema foi composto de 35% de HOAc e 65% de MeOH:HOAc:H₂O e aos 25 minutos, voltou-se a condição inicial de 75% de HOAc e 25% de MeOH:HOAc:H₂O, permanecendo, assim, até os 30 minutos, quando todos os flavonóides já haviam sido separados, eluídos e detectados. O fluxo do solvente foi de 1,0 ml/min e a absorção de UV foi medida a 260 nm.

Os padrões de flavonóides utilizados foram rutina (C₂₇H₃₀O₁₆) (quercitina 3-O-rutinosídeo) e genistina (C₂₁H₂₀O₁₀) (4',5,7-trihydroxyisoflavonoide), ambos da marca Sigma. Para a obtenção das áreas das substâncias padrões, sete concentrações de rutina (0,01, 0,02, 0,04, 0,08, 0,16, 0,32 e 0,64 mg/ml) e quatro de genistina (0,01, 0,02, 0,04 e 0,08 mg/ml) foram injetadas em cromatógrafo, conforme descrito anteriormente. Com os valores das áreas das substâncias padrão e de suas respectivas concentrações, foi construído um gráfico de dispersão e a obtenção de uma equação de regressão linear. Após injeção das amostras, realizou-se uma varredura com o fotodiodo para comparar o espectro dos picos com o mesmo tempo de retenção daquele dos padrões. Calculou-se a área, e então se aplicou na equação dos padrões, obtendo-se a concentração das substâncias (mg/ml) em cada genótipo.

Para a obtenção da porcentagem de rutina e genistina em peso seco dos genótipos, folhas (previamente retirado os pecíolos) dos diversos genótipos (estádio V6, 4º trifólio) foram secas em estufa a 60°C por 72h, e calculada a porcentagem de perda de água, e assim a porcentagem em peso de folha seca.

4.2.3. Análise estatística

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos ('IAC-100', PI 227687, PI 274454 e PI 229358) e cinco repetições. As variáveis respostas consideradas neste trabalho foram: concentração de genistina e rutina (mg/ml) e porcentagem de genistina e rutina (%). Primeiramente, realizaram-se os testes estatísticos para verificar se todos os pressupostos requeridos pela análise de variância (ANOVA) foram atendidos. Em seguida, realizaram-se as análises de variâncias com testes de médias de Tukey para tratamentos, ao nível de 5% de probabilidade. As análises estatísticas deste trabalho foram realizadas através do pacote estatístico SAS- Statistical Analysis System (SAS Institute 1996).

4.3. Resultados e Discussão

Os teores, tempo de retenção e cromatogramas dos flavonóides presentes nos genótipos de soja estudados são mostrados nas Tabelas 1 e 2 e Figura 1. Comparando-se os genótipos, observou-se que a cultivar IAC-100 apresentou a maior concentração e porcentagem de genistina (0,062 mg/ml, 0,068%) e rutina (0,601 mg/ml, 0,674%), em comparação com os outros genótipos. Não houve diferenças estatísticas entre os demais genótipos, em relação a genistina. A PI 227687 apresentou teores intermediários de rutina, com 0,368%, enquanto os genótipos PI 274454 e PI 229358 apresentaram os níveis mais baixos de rutina, com 0,147% e 0,021% respectivamente.

As concentrações de genistina e rutina não foram semelhantes entre a cultivar IAC-100 e os genótipos dos quais descende, PI 229358 e PI 274454 (Panizzi & Kitamura 1995; Veiga *et al.* 1999). Provavelmente, os fatores de resistência da 'IAC-100' tenham vindo de outros genótipos que fizeram parte de sua genealogia, como D66-8666 e IAC 73-231. Panizzi & Kitamura (1995) também observaram esse fato em sementes. Esses autores, avaliando diversos genótipos de soja quanto aos teores de

isoflavonóides, encontraram que a cultivar IAC-100 foi a que apresentou maiores teores de daidzina e genistina, possuindo teores similares ao genótipo PI 227687, enquanto o genótipo PI 229358 apresentou baixo teor dessas substâncias. Da mesma forma, Piubelli *et al.* (2003), que além de estudarem as defesas constitutivas das sementes de soja, verificaram também as defesas induzidas, e comprovaram as diferenças entre a 'IAC-100' e seus ascendentes PI 229358 e PI 274454.

Hoffmann-Campo (1995), quantificando o flavonóide rutina no genótipo PI 227687, verificou uma concentração de 0,641% (peso seco), o que contraria os resultados obtidos no presente experimento, onde apenas metade da concentração (0,368%) constatada pela autora, foi observada. Provavelmente, a autora, ao quantificar a rutina (quercitina 3-O-rutinosídeo), considerou também a segunda quercitina presente na mesma fração estudada, quercitina 3-O-galactosídeo; ambas substâncias são estruturalmente semelhantes, tendo o mesmo núcleo meiótico (aglicona) diferindo apenas na porção glicosídica.

A cultivar suscetível BR-16 apresentou menor número de picos (Figura 1) em comparação com os genótipos considerados resistentes, sendo apenas a substância canferol verificada. Genistina e rutina não foram observadas nessa cultivar, sugerindo que, possivelmente, a resistência dos outros genótipos estudados possa ser devido a um efeito sinérgico ou aditivo de dois ou mais compostos. Esse fato concorda com o observado por Hoffmann-Campo (1995) que, estudando os cultivares suscetíveis Embrapa-1, Embrapa-4, IAS-5 e Davis, também encontrou somente a substância canferol nestes genótipos. Chan *et al.* (1978) verificaram que canferol é menos tóxica a *Heliothis virescens* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae), *H. zea* e *Pectinophora gossypiella* (Saunders) (Lepidoptera: Gelechiidae), em comparação com as quercitinas. Esse fato indica que o melhoramento da soja, realizado na maioria das vezes para se obter características agrônomicas favoráveis, não prioriza a resistência a insetos e, praticamente, elimina as substâncias secundárias de defesa da planta.

Hoffmann-Campo (1995) observou que, constitutivamente, extratos de folhas da PI 227687 são compostos pela isoflavona genistina e sete flavonóis glicosídicos. A adição de doses crescentes de rutina em dieta artificial causou efeitos negativos no comportamento e fisiologia de *H. virescens* e *T. ni* (Lepidoptera: Noctuidae) (Hoffmann-Campo 1995), sendo os primeiros instares mais suscetíveis ao flavonóide. Em *A. gemmatilis*, a adição desse flavonóide à dieta aumentou a mortalidade e o tempo de desenvolvimento, diminuindo drasticamente o crescimento, o consumo, a assimilação e

a eficiência na conversão do alimento ingerido e digerido pelas lagartas (Hoffmann-Campo *et al.* 1998).

A identificação dessas substâncias e o estudo do seu papel nas interações com insetos e/ou microrganismos pode auxiliar os melhoristas no processo de desenvolvimento de cultivares resistentes a pragas. Segundo Panda & Khush (1995), avanços recentes na área de biotecnologia, especialmente na biologia molecular, abrem novas oportunidades para a resistência de plantas a insetos. Portanto, o entendimento de tais fenômenos será de grande utilidade para programas de manejo de pragas.

As informações obtidas no presente trabalho fornecem importantes elementos para futuros estudos da herança genética das substâncias químicas envolvidas com a resistência a insetos desfolhadores. Assim, o conhecimento de que a 'IAC-100' possui elevada concentração de genistina e rutina é de grande importância em programas de melhoramento para obtenção de cultivares com característica de resistência a insetos, tanto através de métodos tradicionais como, também, de biologia molecular.

Tabela 1. Concentração (mg/ml) (Média ± EP) e porcentagem (%) (Média ± EP) de rutina e genistina em diversos genótipos de soja com característica de resistência a insetos

Genótipos	Genistina	
	Concentração (mg/ml)	Porcentagem (%)
'IAC-100'	0,062 ± 0,0066 a	0,068 ± 0,0074 a
PI 227687	0,012 ± 0,0015 b	0,012 ± 0,0015 b
PI 274454	0,024 ± 0,0027 b	0,026 ± 0,0093 b
PI 229358	0,013 ± 0,0005 b	0,014 ± 0,0005 b
Valor de F	38,33***	39,49***
Genótipos	Rutina	
	Concentração (mg/ml)	Porcentagem (%)
'IAC-100'	0,601 ± 0,0620 a	0,674 ± 0,0694 a
PI 227687	0,360 ± 0,0407 b	0,368 ± 0,0417 b
PI 274454	0,137 ± 0,0262 c	0,147 ± 0,0282 c
PI 229358	0,020 ± 0,0018 c	0,021 ± 0,0021 c
Valor de F	44,21***	45,80***

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas, nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

*** P < 0,001

Tabela 2. Tempo de retenção (min.) dos picos dos cromatogramas dos diversos genótipos de soja com característica de resistência a insetos e no genótipo suscetível 'BR-16'

	Canferol	Genistina	Rutina
'IAC-100'	- ¹	14,14	16,44
PI 227687	-	14,34	16,58
PI 274454	-	14,30	16,58
PI 229358	-	14,13	16,26
'BR-16'	13,21	-	-

1- substâncias não encontradas nas amostras dos extratos.

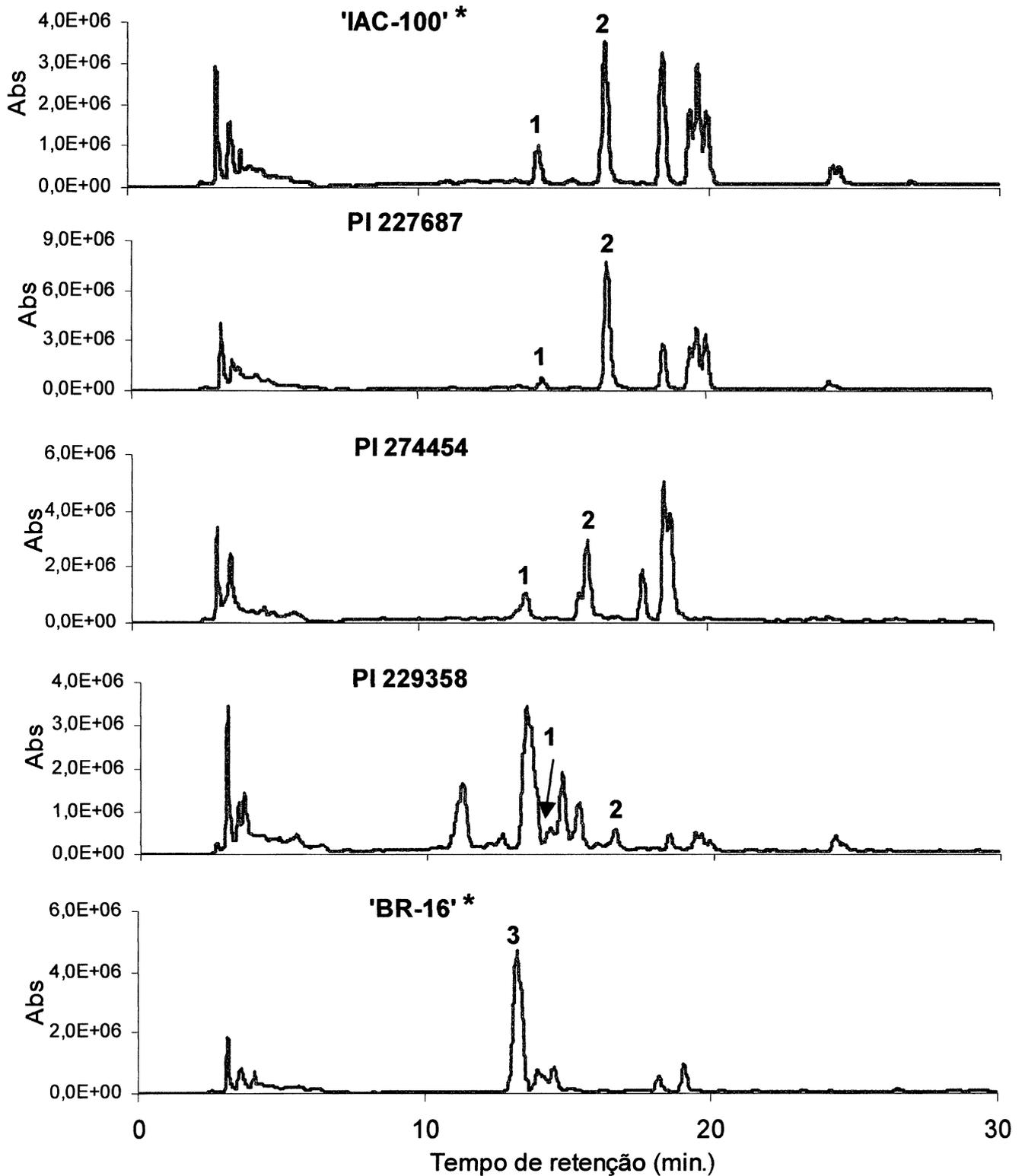


Figura 1. Cromatogramas de diversos genótipos de soja com característica de resistência a insetos e do genótipo suscetível 'BR-16'. 1- Genistina, 2- Rutina, 3- Canferol. * Diluído na proporção 2:1.

4.4. Literatura Citada

- Chan, B.G., A.C. Waiss Jr., R.G. Binder & C.A. Eiliger. 1978.** Inhibition of lepidopterous larval growth by cotton constituents. *Entomol. Exp. Appl.* 24: 94-100.
- Dixon, R.A. & C.L. Steele. 1999.** Flavonoids and isoflavonoids – a gold mine for metabolic engineering. *Trends Plant Sci.* 4: 394-400.
- Fehr, W. R. & C.E. Caviness. 1977.** Stages of soybean development. Special Report 80. Ames, Iowa State University of Science and Technology, 11p.
- Harbone, J.B. 1988.** The flavonoids. Advances in research since 1980. London, Chapman & Hall, 621p.
- Harborne, J.B. 1991.** Flavonoid pigments, p.389-429. In G.A. Rosenthal & M.R. Berenbaum (eds), *Herbivores and their interaction with secondary metabolites*. London, Academic Press, 452p.
- Hoffmann-Campo, C.B. 1995.** Role of the flavonoids in the natural resistance of soyabean to *Heliothis virescens* (F.) and *Trichoplusia ni* (Hübner). Ph.D. Dissertation, The University of Reading, Reading, 165p.
- Hoffmann-Campo, C.B., J.A. Ramos Neto, M.C.N. Oliveira & L.J. Oliveira. 1998.** Behavioural and physiological effects of rutin on *A. gemmatalis*. In X International Symposium on Insect-Plant Relationships, Oxford, UK (Abstracts), p.95.
- Hoffmann-Campo, C.B., J.B. Harbone & A.R. Mccaffery. 2001.** Pre-ingestive and post-ingestive effects of soya bean extracts and rutin on *Trichoplusia ni* growth. *Entomol. Exp. Applic.* 98: 181-194.
- Kogan, M. 1986.** Natural chemical in plant resistance to insects. *Iowa State J. Res.* 60: 501-527.
- Kubo, I. & F.G. Hanke. 1986.** Chemical methods for isolating and identifying phytochemicals biologically active in insects, p.225-249. In J.R. Miller & T.A. Miller (eds.), *Insect-plant interactions*. New York, Springer-Verlag, 374p.
- Markham, K.R. 1982.** Techniques of flavonoid identification. Biological Techniques Series. London, Academic Press, 113p.
- Markham, K.R. 1989.** Flavones, flavonols and their glycosides. p. 197-235. In P.M. Dey & J.B. Harbone (eds.), *Methods in plant biochemistry*. London, Academic Press, 552p.
- Neupane, F. & D.M. Norris. 1990.** Iodoacetic acid alteration of soybean resistance to the cabbage looper (Lepidoptera: Noctuidae). *Environ. Entomol.* 19: 215-221.
- Panda, N. & G.S. Khush. 1995.** Host plant resistance to insects. Wallingford, IIRI - CAB International, 431p.

- Panizzi, M.C.C. & K. Kitamura. 1995.** Isoflavone content in Brazilian soybean cultivars. *Breed. Sci.* 45: 295-300.
- Piubelli, G.C., C.B. Hoffmann-Campo, I.C. Arruda, J.C. Franchini & F.M. Lara. 2003.** Augmentation of flavonoid production in soybean genotypes as response of *Nezara viridula* injury and its role on the insect feeding preference. *J. Chem. Ecol.* 29: 1223-1233.
- SAS Institute. 1996.** SAS Proprierty Software Release 6.12. SAS-STAT User's guide. Vol II. SAS Institute, Cary, N.C., 1686p.
- Sharma, H.C. & D.M. Norris. 1991.** Comparative feeding preference and food intake and utilization by the cabbage looper (Lepidoptera: Noctuidae) on three legume species. *Environ. Entomol.* 20: 1589-594.
- Veiga, R.F.A., C.J. Rossetto, L.F. Razera, P.B. Gallo, N. Bertoletto, P.F. Medina, O. Tisselli Filho & J. Cione. 1999.** Caracterização morfológica e agronômica do cultivar de soja 'IAC-100'. Instituto Agronômico, Campinas, Boletim Técnico nº 177, 23p.
- Wollenweber, E. 1994.** Flavones and flavonols, p.259-335. In J.B. Harborne (ed.), *The flavonoids. Advances in research since 1986.* London, Chapman & Hall, 688p.

CAPÍTULO 5

Interações entre extratos de genótipos de soja com resistência a insetos e rutina com o vírus da poliedrose nuclear de *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) (VPNMAg) em populações de inseto suscetível e resistente ao vírus

5.1. Introdução

O vírus da poliedrose nuclear da lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatalis* Hübner (VPNMAg) é regularmente utilizado no Brasil como inseticida biológico, representando uma importante alternativa aos inseticidas químicos convencionais (Moscardi 1999). Aproximadamente 2,0 milhões de hectares são tratados anualmente, sendo 40% desse uso apenas no estado do Paraná (Hoffmann-Campo *et al.* 2003; Moscardi & Souza 2002). Devido à extensão da área tratada com VPNMAg em soja, *Glycine max* (L.) Merrill (Fabaceae) no Brasil, os estudos da evolução dos níveis de suscetibilidade das populações da lagarta ao VPNMAg são cada vez mais importantes, especialmente nos lugares que possuem maior frequência de aplicação desse vírus (Moscardi & Sosa-Gomez 1992).

Até o momento, não foram verificados casos de resistência ao vírus da poliedrose nuclear pelo uso deste agente no campo como bioinseticida (Sosa-Gomez & Moscardi 2001). Entretanto, estudos realizados simultaneamente pela Embrapa Soja e pela Universidade da Louisiana, nos EUA, comprovaram que em laboratório, sob condições de pressão de seleção elevada (exposição constante a uma CL₈₀), é possível obter populações de *A. gemmatalis* resistentes ao VPNMAg em três a quatro gerações (Abot *et al.* 1996; Sosa-Gomez & Moscardi 2001).

Dentre algumas limitações ao uso de vírus de poliedrose nuclear para o controle de pragas, é que sua eficiência pode ser modificada por substâncias químicas presentes nas plantas hospedeiras (Felton & Duffey 1990; Peng *et al.* 1997), como os metabólitos secundários. A maioria das plantas vivas, selvagem ou cultivada, possui algum grau de defesa a pragas, que em geral é causado por metabólitos secundários produzidos pela própria planta (Kubo & Hanke 1986). Flavonóides, como a rutina (quercitina 3-O-rutinosídeo), foram identificados em soja, e esta é reconhecida como uma substância que desempenha importante papel na defesa da planta (Hoffmann-

Campo *et al.* 2001). Entretanto, esse flavonóide é citado na literatura como inibidor de infecção do VPN (Felton & Duffey 1990). Esforços têm sido realizados para se obter linhagens e cultivares com moderado nível de resistência a insetos. Em experimentos a campo, o genótipo PI 227687 (Luedders & Dickerson 1977) e linhagens com a PI 274454 (Rezende *et al.* 1980) em sua genealogia apresentaram menor desfolhamento do que as cultivares usadas como testemunha suscetível, sendo consideradas fontes adequadas para programas de melhoramento visando resistência a insetos pragas.

Young *et al.* (1995), estudando os efeitos do tanino na infecção do vírus da poliedrose nuclear (VPNH_z) de *Heliothis (Helicoverpa) zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae), verificaram que a mortalidade das lagartas foi menor, além de sofrerem atraso no desenvolvimento larval quando a dieta continha diferentes concentrações desta substância secundária. Esses autores ainda discutem que compostos fenólicos podem ser considerados como barreira a infecções virais em insetos herbívoros. Felton *et al.* (1987) também verificaram que a ingestão de compostos fitoquímicos (rutina e ácido clorogênico) causou prolongamento do tempo de sobrevivência de larvas de *H. zea* infectadas com o VPNH_z. Adicionalmente, verificaram que essa interação significativamente inibiu a infecção do vírus. Por outro lado, efeito sinérgico de cultivares resistentes de milho (contendo tanino) a *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) e o seu vírus de poliedrose nuclear foram observados por Hamm & Wiseman (1986). As lagartas alimentadas em cultivares de milho resistentes foram mais suscetíveis a infecção pelo patógeno, principalmente no início do ciclo da cultura.

O conhecimento das interações entre resistência de plantas e controle biológico permanece relativamente escasso. Informações sobre interações tritróficas para o sistema de controle de *A. gemmatilis* na cultura da soja são essenciais para o desenvolvimento de genótipos resistentes compatíveis com o controle biológico.

5.2. Material e Métodos

Para determinar o efeito da interação entre o VPNM_{Ag} e extratos de genótipos de soja com característica de resistência e rutina, foram utilizadas populações de *A. gemmatilis* suscetíveis e resistentes a esse patógeno, ambas provenientes do laboratório de criação massal da Embrapa Soja. As lagartas foram criadas, desde a fase de ovo até o segundo ínstar (pré-muda) em copos descartáveis com capacidade

para 100 ml, em dieta artificial (Greene *et al.* 1976, modificada por Hoffmann-Campo *et al.* 1985) contendo extratos dos genótipos PI 274454 e/ou PI 227687 (Teste 1) e duas quantidades de rutina, 0,65% e 1,30% (Teste 2). Como testemunha, em ambos os testes, foi utilizada dieta normal, ou seja, sem a adição de extratos e/ou rutina. No final do segundo ínstar (pré-muda), as lagartas foram transferidas para dietas contendo diferentes concentrações do vírus e extratos e/ou rutina, onde foram mantidas até a transformação em pupa, quando foram pesadas.

A quantidade de rutina utilizada nos experimentos foi baseada nos dados obtidos por Hoffmann-Campo (1995). A autora encontrou no extrato foliar da PI 227687 a quantidade de 0,641% (peso seco).

5.2.1. Preparo das concentrações do VPnMAg e execução dos bioensaios

Foram utilizadas amostras do bioinseticida (VPN), formulado em pó molhável, produzido pela Associação dos Empregados da Embrapa Soja, Londrina, PR. Para a realização de cada biosensaio, tomou-se inicialmente 0,5 g do produto comercial (bioinseticida), que foi diluído em 200 ml de água destilada, obtendo-se, assim, uma diluição de 2,5:1.000. Com pipeta tipo "Pasteur", colocou-se uma alíquota dessa suspensão em cada um dos dois campos de câmara de Neubauer e procedeu-se à contagem do número de poliedros em microscópio óptico com 400 vezes de aumento, obtendo-se a concentração de vírus na suspensão. A partir desta, foram preparadas as concentrações do VPN a serem utilizadas nos bioensaios (Tabela 1), que foram diferenciadas de acordo com a população de *A. gemmatalis* (suscetível e/ou resistente ao vírus) e o teste (1 e 2). Quando a dieta atingiu 50°C, 20 ml da suspensão viral foram incorporados com batedeira "mix Wallita", em 180 ml de dieta artificial, previamente misturada ou não (Dieta Normal) com os extratos (teste 1) e/ou com rutina (teste 2). A seguir, colocaram-se aproximadamente 20 ml dessa mistura em cada copo plástico, com capacidade para 50 ml. Após a solidificação da dieta, cada recipiente recebeu 3 lagartas (2^o para 3^o ínstar), utilizando-se 30 lagartas por tratamento em cada experimento. No teste 1, foram realizados dois experimentos para a população resistente e três para a população suscetível; no teste 2, dois experimentos foram realizados, com ambas as populações.

Tabela 1. Concentrações de VPNMAg (corpos de oclusão/ml dieta) utilizadas em experimentos de interação com substâncias da soja que conferem resistência a *Anticarsia gemmatalis* na soja.

Concentração de VPNMAg (corpos de oclusão/ml dieta)	
População suscetível ao VPNMAg	População resistente ao VPNMAg
TESTE 1- Interação extratos de genótipos de soja e VPNMAg	
0	0
60	393.600
180	1.181.000
540	3.543.000
1.600	10.600.000
4.860	31.900.000
TESTE 2- Interação rotina e VPNMAg	
0	0
60	1.181.000
180	3.543.000
540	10.600.000
1.600	31.900.000
4.860	95.700.000

Os bioensaios foram mantidos em B.O.D. sob condições controladas de temperatura, umidade e fotofase de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ e 12h, respectivamente, e avaliados diariamente, a partir do 5º dia do início dos testes, em relação à mortalidade. Ao final dos testes, as pupas, após pesagem, foram individualizadas e mantidas em B.O.D. sob as condições acima descritas, para observação da emergência de adultos. Insetos que não emergiram foram contabilizados na mortalidade total da fase larval. Foram avaliadas as porcentagens de mortalidade, concentração letal média (CL_{50}), tipo de interação ocorrida e peso de pupas.

A CL_{50} para cada tratamento foi calculada através da análise de Probit (Finney 1971), assim como os respectivos intervalos de confiança (95%), inclinação e qui-quadrado (χ^2). No cálculo do tipo de interação ocorrida entre os tratamentos, utilizou-se fórmula proposta por Benz (1971) :

$M_{m+q} = M_m + M_q (1 - M_m/100)$, onde:

M_m : Mortalidade causada pelo microorganismo (VPNMAg)

M_q : Mortalidade devido à dieta (extratos e/ou rotina)

M_{m+q} : Mortalidade esperada da mistura (VPNMAg x extratos e/ou rotina)

De acordo com essa equação, determinou-se como efeito antagônico quando a mortalidade esperada da mistura (M_{m+q}) foi significativamente inferior à observada; como efeito aditivo, quando a mortalidade observada não foi significativamente diferente da mortalidade esperada; e como efeito sinérgico, quando a mortalidade observada foi superior a esperada. A significância entre a mortalidade observada e esperada foi analisada pelo teste de qui-quadrado (χ^2), conforme Banzatto & Kronka (1992), ao nível de 5% de probabilidade.

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial, com três dietas, seis concentrações do VPNMAg e número desbalanceado de repetições. A variável resposta, peso de pupa (mg), foi calculada para os dois testes, nas duas populações. Primeiramente, foram realizados os testes estatísticos que verificaram se todos os pressupostos requeridos pela análise de variância foram atendidos. Em seguida, realizaram-se as análises de variância com testes de médias de Tukey para tratamentos, ao nível de 5% de probabilidade. Caso a interação dieta x VPNMAg fosse significativa, a interação foi desdobrada, e as médias dentro de cada fator foram analisadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para as análises, foi utilizado o pacote estatístico SAS- Statistical Analysis System (SAS Institute 1996).

5.2.2. Preparo dos extratos dos genótipos PI 227687 e PI 274454

Folhas dos genótipos de soja semeados em casa de vegetação, com características de resistência (PI 227687 e PI 274454) foram colhidas quando as plantas estavam no estágio V6 (Fehr & Caviness 1977). Para o preparo dos extratos dos genótipos foram utilizados 100 g de folhas secas de cada genótipo, sendo esse valor o equivalente ao peso do total da matéria seca dos ingredientes utilizados para 500 ml de dieta, necessários ao experimento.

As folhas secas foram acondicionadas em copos de Becker com capacidade de 4.000 ml, onde foram adicionados 1.200 ml de etanol (EtOH) 40%. Posteriormente, o

recipiente foi levado a um agitador a 100 r.p.m. por aproximadamente 18h, e o extrato filtrado em funil de Buckner com papel de filtração rápida quantitativa Framex. O extrato foi reduzido a um volume final de aproximadamente 20 ml em evaporador rotatório (60 r.p.m) com banho maria (40°C) e eluído em coluna cromatográfica aberta, de vidro, com área de 3,0 x 25,0 cm. Como adsorvente foi utilizado Amberlite estabilizado com água pH 2,0 (acidificada com HCl 1,0 N). As fases móveis da coluna foram 250 ml de água pH 2,0; 500 ml de água pH 7,0 e 2.100 ml de metanol (MeOH) a 80%. Os extratos resultantes da eluição em água pH 2,0 e pH 7,0 foram descartados. Já o eluído com MeOH 80% foi concentrado em evaporador rotatório. O extrato concentrado foi conservado em freezer (-17°C) até sua utilização, quando foi adicionado em dieta artificial para experimentos de interação com diferentes concentrações do vírus.

5.2.3. Obtenção de população de *Anticarsia gemmatalis* resistente ao VPNMAg

A população de lagartas resistentes ao VPNMAg foi obtida no laboratório de criação massal de *A. gemmatalis* da Embrapa Soja, onde são realizados biotestes para o controle da resistência da população. Nesse controle, 3.000 lagartas são inoculadas mensalmente, para se obter uma concentração letal de aproximadamente 80% (CL₈₀) (Abot *et al.* 1996). Em outubro de 2003, devido ao alto grau de resistência das lagartas (105^a geração), a concentração utilizada na pressão da resistência era de 8.000.000 corpos de oclusão/ml de dieta, sendo realizada apenas com o objetivo de manter a população, já que a sobrevivência estava em torno de 35-40% (Moscardi-Comunicação Pessoal). As lagartas sobreviventes foram às utilizadas nos biotestes de interação. As gerações utilizadas para o teste 1 foram as 75^a e 78^a, e para o teste 2 foram as 98^a e 99^a da população resistente.

5.3. Resultados e Discussão

5.3.1. Teste 1- Interação entre extratos de genótipos de soja e o VPNMAg

As maiores mortalidades foram observadas quando lagartas se alimentaram em dietas contendo extratos de genótipos de soja com característica de resistência, em comparação com a mortalidade de lagartas que se alimentam de dieta normal (sem adição de extratos) (Figura 1). Foi observada uma correlação positiva entre a mortalidade de lagartas e as diferentes concentrações de VPNMAg, em todas as dietas. Na interação dos extratos PI 227687 e PI 274454 com a maior concentração do vírus, morreram, respectivamente 95,0% e 95,5% das lagartas na população suscetível (4.860 corpos de oclusão/ml de dieta) e 91,9% e 98,3% morreram na população resistente ao VPNMAg (31.900.000 corpos de oclusão/ml de dieta). Somente com a adição da maior concentração do vírus na dieta (sem extratos), 89,5% e 90,2% das lagartas morreram, nas populações suscetível e resistente ao vírus, respectivamente.

Na interação de extratos da PI 274454 com diferentes concentrações do VPNMAg em população de lagartas suscetível ao vírus, observou-se redução de aproximadamente 10 vezes na CL_{50} em comparação com a CL_{50} com o vírus em dieta normal (Tabela 2). Enquanto a CL_{50} da interação VPNMAg + PI 274454 foi de 95,00 corpos de oclusão/ml de dieta, a CL_{50} da interação VPNMAg + dieta normal foi de 989,30 corpos de oclusão/ml de dieta. Apesar de ter sido observada uma tendência na redução da CL_{50} na população suscetível ao vírus, quando o extrato da PI 227687 interagiu com diferentes concentrações do VPNMAg, essa diferença não foi considerada significativa, devido à sobreposição no intervalo de confiança entre os fatores (Tabela 2). Na população resistente ao vírus, a mistura VPNMAg + PI 274454 apresentou tendência à redução na CL_{50} ; já a mistura VPNMAg + PI 227687 foi responsável por uma tendência no aumento da CL_{50} , em comparação a CL_{50} do vírus utilizado em dieta normal. Entretanto, as diferenças entre os tratamentos na população resistente ao vírus não foram significativas, pois observou-se sobreposição nos intervalos de confiança (Tabela 2). Os valores não significativos de qui-quadrado (χ^2) na Tabela 2, indicaram que os valores utilizados para estimar a concentração letal média (CL_{50}) se ajustaram ao modelo da análise de Probit (Finney 1971).

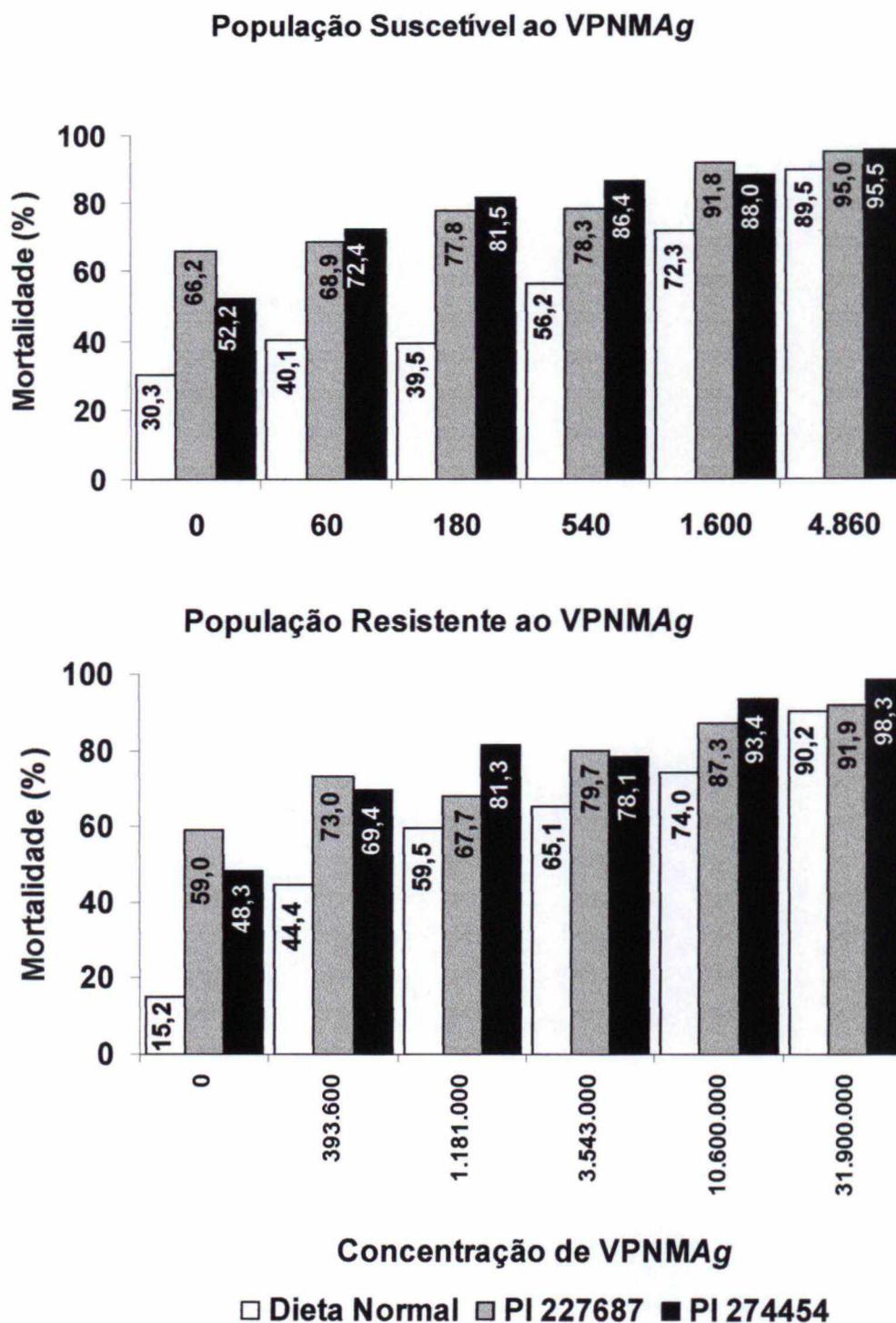


Figura 1. Efeito da interação entre extratos de genótipos de soja com característica de resistência (PI 274454 e PI 227687) e seis concentrações do vírus de poliedrose nuclear de *Anticarsia gemmatalis* (VPNMAg) na mortalidade de populações de *Anticarsia gemmatalis* suscetível e resistente ao VPNMAg. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Tabela 2. Concentração letal média (CL₅₀), intervalo de confiança (95%), inclinação (Média ± EP) e valores de qui-quadrado (χ^2) de populações de *Anticarsia gemmatalis* suscetível e resistente ao VPNMAg, em interação ou não (DN) com extratos de genótipos de soja com característica de resistência (PI 274454 e PI 227687). Temperatura de 25 ± 2°C, UR de 70 ± 10% e fotofase de 12h.

Tratamentos	CL ₅₀ ¹	Intervalo de Confiança (95%)	Inclinação	χ^2
População Suscetível ao VPNMAg				
VPNMAg + DN	989,30	830,87 – 1.179,41	1,47 ± 0,11	0,64 ^{ns}
VPNMAg + PI 274454	95,00	46,18 – 154,18	0,71 ± 0,10	2,70 ^{ns}
VPNMAg + PI 227687	626,56	470,02 – 843,53	1,27 ± 0,13	7,32 ^{ns}
População Resistente ao VPNMAg				
VPNMAg + DN	1.345.784,55	894.723,23 – 1.878.755,98	0,76 ± 0,08	4,88 ^{ns}
VPNMAg + PI 274454	619.637,47	339.498,85 – 965.831,28	1,03 ± 0,14	0,62 ^{ns}
VPNMAg + PI 227687	2.081.008,03	943.360,84 – 3.666.955,27	0,66 ± 0,12	6,47 ^{ns}

1- Concentração letal média (CL₅₀) expressa em corpos de oclusão/ ml de dieta.

Diferentes substâncias têm sido avaliadas procurando aumentar a eficiência dos vírus de insetos. Morales *et al.* (1997), avaliando o efeito de diferentes concentrações de ácido bórico sobre a atividade do vírus da poliedrose nuclear (VPN) em populações da *A. gemmatalis* suscetível ao vírus, verificaram que os valores da CL₅₀ da mistura (ácido bórico + VPNMAg) foram cerca de quatro vezes inferiores aos obtidos com o VPN isoladamente, sugerindo que a adição de ácido bórico ao VPN aumentou a mortalidade das lagartas pelo patógeno. Por outro lado, o extrato de nim, conhecido por possuir propriedades deterrentes e inseticidas para vários grupos de insetos devido ao seu principal composto, a azadiractina, quando associado ao vírus de *Lymantria dispar* L., em diferentes concentrações, não apresentou efeito na atividade biológica do VPNMLd (Shapiro *et al.* 1994).

Um efeito aditivo foi predominante quando lagartas se alimentaram em dietas contendo extratos dos genótipos e VPNMAg, nas populações de lagartas suscetível e resistente (Tabela 3). Esse fato ocorreu devido à não diferença entre a mortalidade observada e esperada, em fórmula proposta por Benz (1971), sendo essas diferenças comparadas com o valor de $\chi^2_{(1; 0,05)}=3,84$. Entretanto, um efeito antagônico foi observado quando o extrato da PI 227687 foi adicionado à dieta e interagiu com a concentração intermediária do vírus (1.181.000 corpos de oclusão/ml de dieta) para a

população resistente. Provavelmente, esse efeito ocorreu devido à menor mortalidade observada nesse tratamento (67,7%), em comparação com a mortalidade observada no tratamento anterior, ou seja, quando a concentração de 393.600 corpos de oclusão/ml de dieta interagiu com o extrato do genótipo PI 227687, obtendo 73,0% de mortalidade.

Tabela 3. Interação¹ entre extratos de genótipos de soja com característica de resistência (PI 274454 e PI 227687) e seis concentrações do vírus de poliedrose nuclear de *Anticarsia gemmatalis* (VPNMAg) em populações suscetível e resistente ao VPNMAg. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Concentração de VPNMAg	Diets			
	PI 274454		PI 227687	
Corpos de occlusão/ ml dieta	Efeito	χ^2	Efeito	χ^2
População Suscetível ao VPNMAg				
60	Aditivo	0,03 ^{ns}	Aditivo	2,11 ^{ns}
180	Aditivo	2,98 ^{ns}	Aditivo	0,05 ^{ns}
540	Aditivo	1,45 ^{ns}	Aditivo	0,89 ^{ns}
1.600	Aditivo	0,05 ^{ns}	Aditivo	0,10 ^{ns}
4.860	Aditivo	0,00 ^{ns}	Aditivo	0,21 ^{ns}
População Resistente ao VPNMAg				
393.600	Aditivo	0,04 ^{ns}	Aditivo	0,39 ^{ns}
1.181.000	Aditivo	0,05 ^{ns}	Antagonismo	4,40*
3.543.000	Aditivo	0,19 ^{ns}	Aditivo	0,88 ^{ns}
10.600.000	Aditivo	1,48 ^{ns}	Aditivo	0,08 ^{ns}
31.900.000	Aditivo	1,03 ^{ns}	Aditivo	1,36 ^{ns}

1- Interações segundo Benz (1971).

ns- não significativo, * $P < 0,05 - \chi^2_{(1; 0,05)}$

O peso de pupa foi negativamente influenciado pela adição de extratos e VPNMAg nas dietas (Tabelas 4 e 5). Na população suscetível, não houve interação significativa entre os fatores, entretanto, quando analisados separadamente, ambos influenciaram o peso de pupa de *A. gemmatalis* (Tabela 4). Quando lagartas se alimentaram de dieta sem a adição de extratos, independente da concentração do VPNMAg, foi observada a maior média do peso de pupa (243,2 mg), enquanto insetos

alimentados em dieta com extratos dos genótipos PI 274454 e PI 227687 apresentaram pesos de pupas de 232,4 e 217,9 mg, respectivamente. Uma correlação negativa foi observada no peso de pupa, quando diferentes concentrações de VPNMAg foram adicionadas à dieta. Quanto maior foi a concentração do vírus adicionada à dieta, menor foi o peso de pupa observado em todas as dietas. Quando insetos se alimentaram em dieta sem a adição do vírus, os maiores pesos de pupa foram observados quando se calculou a média das três dietas (246,7 mg), independente de conter, ou não, extratos dos genótipos de soja. Os menores pesos de pupa foram observados quando 1.600 e 4.860 corpos de oclusão/ml de dieta foram oferecidas às lagartas, com 223,1 e 220,3 mg, respectivamente.

Tabela 4. Efeito da interação entre extratos de genótipos de soja com característica de resistência (PI 274454 e PI 227687) e seis concentrações do vírus de poliedrose nuclear de *Anticarsia gemmatalis* (VPNMAg) no peso de pupa (mg) (Média \pm EP) da população suscetível ao VPNMAg (número de pupas entre parênteses). Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Concentração de VPNMAg ¹	Peso Pupa (mg)			Média-VPNMAg
	Dieta Normal	PI 274454	PI 227687	
0	257,4 \pm 39,2 (113)	241,6 \pm 42,1 (87)	231,6 \pm 40,4 (50)	246,7 a
60	249,4 \pm 34,7 (104)	231,7 \pm 45,9 (66)	224,4 \pm 41,2 (34)	239,7 ab
180	240,2 \pm 38,5 (99)	227,0 \pm 46,1 (54)	202,7 \pm 48,8 (30)	230,1 bc
540	237,6 \pm 39,0 (83)	221,3 \pm 42,9 (37)	210,8 \pm 42,9 (25)	228,7 bc
1.600	223,3 \pm 34,1 (55)	231,2 \pm 46,3 (27)	210,9 \pm 44,0 (20)	223,1 c
4.860	221,5 \pm 40,8 (20)	232,2 \pm 34,7 (12)	196,7 \pm 31,1 (7)	220,3 c
Média - Dieta	243,2 A	232,4 B	217,9 C	
Valor de F - Dietas	25,96***			
Valor de F - VPNMAg	10,02***			
Valor de F - Dietas x VPNMAg	1,08 ^{ns}			

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

ns- não significativo, *** P<0,001

1- Concentração de VPNMAg expressa em corpos de oclusão/ ml de dieta.

Em populações resistentes ao VPNMAg, o maior peso de pupa também foi observado quando lagartas se alimentaram de dieta normal (224,8 mg), enquanto

lagartas que se alimentaram de dietas contendo extratos apresentaram os menores pesos (Tabela 5). A interação entre extratos e diferentes concentrações de VPNMAg na população resistente ao vírus foi significativo. Em dieta normal, o maior peso de pupa foi observado no tratamento sem a adição de VPNMAg à dieta (243,9 mg), que, no entanto, não diferiu do tratamento com a adição de 31.900.000 corpos de oclusão/ml (225,4mg), o qual não diferenciou de pupas provenientes de tratamentos onde concentrações intermediárias do vírus foram adicionadas à dieta. Em relação à dieta com extrato da PI 274454, o maior peso de pupa foi observado quando o vírus na concentração de 3.543.000 corpos de oclusão/ml foi adicionado à dieta (212,5 mg), sendo que o menor peso (173,1 mg) foi observado quando houve a interação com a maior concentração de VPNMAg, ambos entretanto, não se diferenciando dos demais tratamentos. Quando o extrato do genótipo PI 227687 foi adicionado à dieta e interagiu com diferentes concentrações do vírus, não houve diferença entre os tratamentos, em relação ao peso de pupa.

Tabela 5. Efeito da interação entre extratos de genótipos de soja com característica de resistência (PI 274454 e PI 227687) e seis concentrações do vírus de poliedrose nuclear de *Anticarsia gemmatalis* (VPNMAg) no peso de pupa (mg) (Média \pm EP) da população resistente ao VPNMAg (número de pupas entre parênteses). Temperatura de 25 \pm 2°C, UR de 70 \pm 10% e fotofase de 12h.

Concentração de VPNMAg ¹	Peso de Pupa (mg)		
	Dieta Normal	PI 274454	PI 227687
0	243,9 \pm 25,8 a (111)	202,7 \pm 38,5 ab (54)	209,8 \pm 37,4 a (53)
393.600	220,7 \pm 29,8 b (108)	210,1 \pm 35,7 ab (40)	210,7 \pm 45,7 a (43)
1.180.000	218,3 \pm 30,3 b (99)	204,6 \pm 36,7 ab (32)	209,1 \pm 34,3 a (36)
3.543.000	219,3 \pm 29,0 b (78)	212,5 \pm 30,2 a (28)	216,9 \pm 34,0 a (25)
10.600.000	215,0 \pm 31,3 b (57)	200,8 \pm 29,6 ab (12)	217,4 \pm 40,9 a (20)
31.900.000	225,4 \pm 30,1ab (24)	173,1 \pm 21,1 b (6)	228,5 \pm 42,7 a (8)
Média - Dieta	224,8 A	205,7 B	212,5 B
Valor de F - Dietas	19,08***		
Valor de F - VPNMAg	1,29 ^{ns}		
Valor de F - Dietas x VPNMAg	4,15***		

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula na linha, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

ns- não significativo, *** P<0,001

1- Concentração de VPNMAg expressa em corpos de oclusão/ ml de dieta.

Apesar de ter ocorrido uma tendência de a mistura VPNMAg + PI 227687 ter aumentado a CL₅₀ na população resistente ao vírus, altas taxas de mortalidade e baixos pesos de pupa de *A. gemmatalis* foram observados. Este fato indica que esse genótipo não deve ser desconsiderado em estudos sobre interações tritróficas, e sim cuidadosamente analisado. As lagartas alimentadas em dieta artificial contendo os dois extratos dos genótipos de soja, principalmente o extrato da PI 274454, aparentemente foram mais suscetíveis à infecção pelo vírus, sugerindo compatibilidade de fatores.

A bioatividade do extrato foliar da PI 227687 foi testada em *H. zea* (Hoffmann-Campo 1995) e *Trichoplusia ni* (Hübner) (Hoffmann-Campo *et al.* 2001). A fisiologia e o comportamento das lagartas que se alimentaram de dieta artificial contendo esse extrato foram negativamente afetados. Os efeitos persistiram quando, após fracionamento, a fração mais polar, denominada A, composta principalmente de quercitina 3-O-galactosídeo, rutina e genistina, foi adicionada à dieta e oferecida às lagartas. Embora seja bem estabelecido que o tipo de planta hospedeira e as suas substâncias químicas geralmente causam profunda influência no curso e na severidade da infecção por VPN (Felton *et al.* 1987; Young *et al.* 1995), a identificação dos agentes causais e a elucidação dos mecanismos de ação não estão sendo devidamente equacionados (Keating *et al.* 1988 e 1990; Felton & Duffey 1990). Como, provavelmente, os efeitos desta interação estão relacionados com o genótipo utilizado e seu perfil químico, mais estudos, portanto, devem ser considerados levando em conta a análise fitoquímica desses genótipos como fonte de resistência a insetos. O estudo da qualificação e quantificação dos aleloquímicos presentes, bem como o entendimento da influência direta de cada substância presente na planta hospedeira na infecção do vírus, possibilitarão melhor eficiência dos métodos para o controle da lagarta-da-soja, *A. gemmatalis*.

5.3.2. Teste 2- Interação entre rutina e VPNMAg

Uma correlação positiva foi também observada no estudo sobre a interação entre rutina (0,65% e 1,30%) e diferentes concentrações de VPNMAg; à medida que a concentração do vírus aumentou, a mortalidade também foi maior, em ambas as dietas e populações da lagarta. Lagartas que se alimentaram de dieta contendo apenas rutina (sem vírus) atingiram elevadas taxas de mortalidade. Na população suscetível ao VPNMAg, dietas com 0,65% e 1,30% de rutina causaram 46,8% e 78,4% de

mortalidade, respectivamente, enquanto na dieta normal, sem o acréscimo de vírus ou rutina, apenas 17,9% das lagartas morreram (Figura 2). Na população resistente, 14,8% das lagartas morreram quando se alimentaram de dieta sem adição de rutina ou vírus, enquanto 42,6% e 94,7% das lagartas morreram quando 0,65% e 1,30% de rutina foram adicionados à dieta artificial, respectivamente (Figura 2).

Na população suscetível, quando a dieta foi acrescida da maior concentração do vírus (4.860 corpos de oclusão/ml de dieta), porém sem rutina, a mortalidade observada foi de 98,4%, não se diferenciando da mortalidade observada em lagartas que se alimentaram de dieta contendo 0,65% de rutina. Entretanto, a população resistente ao VPNMAg foi profundamente afetada pela rutina em comparação com a população suscetível. Quando 1,30% de rutina foi adicionado a dieta em combinação com as várias concentrações do vírus, houve 100% de mortalidade das lagartas. A mortalidade observada quando lagartas do tratamento com dieta normal (sem rutina) e 0,65% de rutina interagiram com a maior concentração do vírus (95.700.000 corpos de oclusão/ml de dieta), foi de 88,9% e de 98,4%, respectivamente.

Apesar de aparentemente ter ocorrido aumento na CL_{50} do VPNMAg quando rutina foi adicionada à dieta na população suscetível ao vírus, essas diferenças não foram significativas devido à sobreposição nos intervalos de confiança das misturas. (Tabela 6). Enquanto a CL_{50} do vírus isolado, ou seja, em dieta normal, foi de 108,22 corpos de oclusão/ml de dieta, com a adição de rutina foi de 170,82 e 212,93 corpos de oclusão/ml de dieta, respectivamente, para a mistura de VPNMAg com 0,65% e 1,30% de rutina. Na população resistente ao vírus, a adição da menor quantidade de rutina ao VPNMAg reduziu a CL_{50} , aproximadamente, 90 vezes (Tabela 6). Como 100% das lagartas provenientes da população resistente ao vírus morreram nos tratamentos onde houve a interação do VPNMAg com 1,30% de rutina, não foi possível a realização da análise de Probit para essa mistura. Felton *et al.* (1997) verificaram que a rutina, quando em interação com diferentes concentrações do vírus da poliedrose nuclear de *H. zea* (VPNHz), foi a responsável por um aumento significativo na CL_{50} , em comparação a do vírus utilizado isoladamente, sugerindo incompatibilidade de fatores.

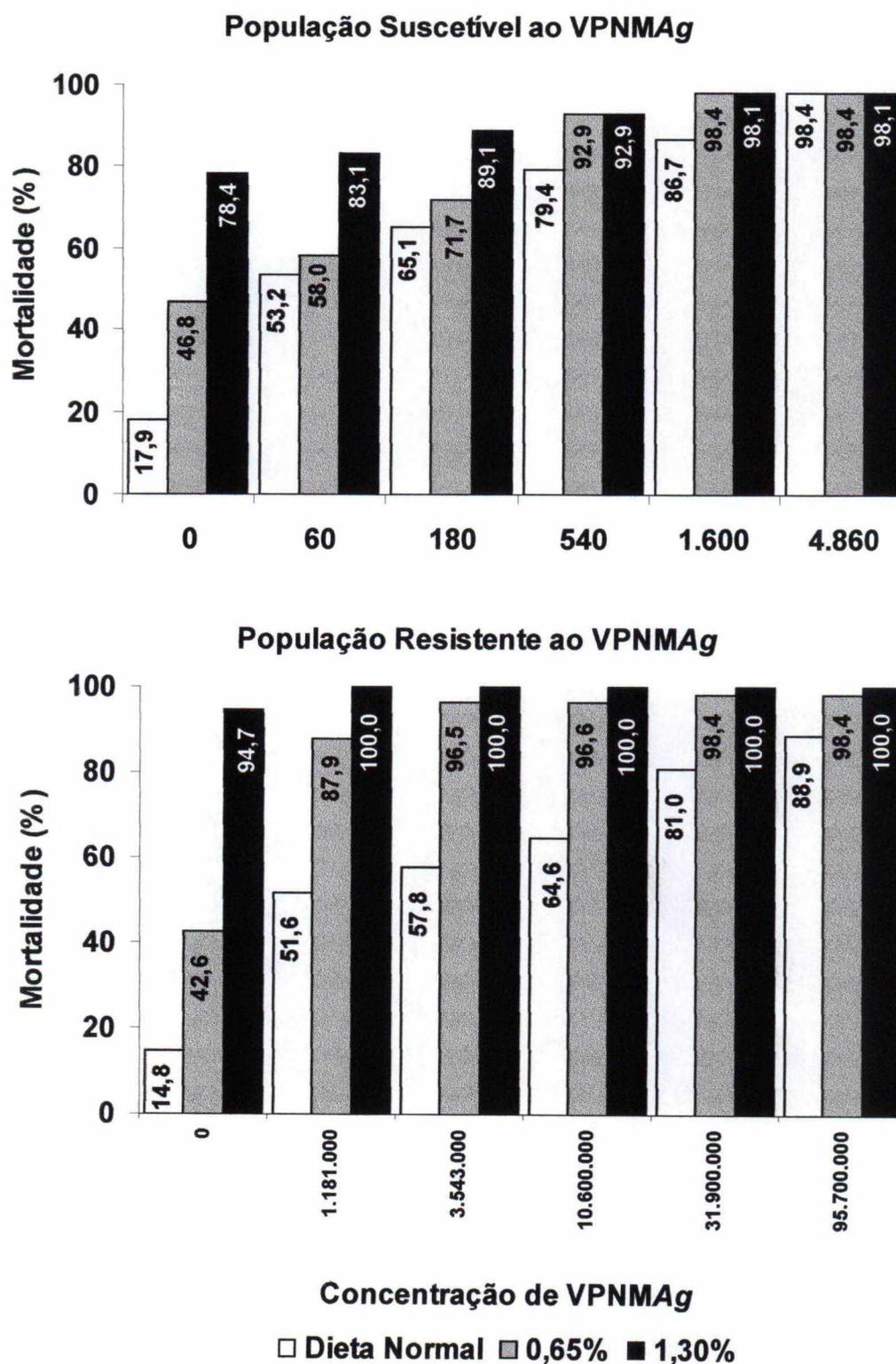


Figura 2. Efeito da interação entre rotina (0,65% e 1,30%) e seis concentrações do vírus de poliedrose nuclear de *Anticarsia gemmatalis* (VPNMAg) na mortalidade de populações de *Anticarsia gemmatalis* suscetível e resistente ao VPNMAg. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Tabela 6. Concentração letal média (CL₅₀), intervalo de confiança (95%), inclinação (Média ± EP) e valores de qui-quadrado (χ^2) de populações de *Anticarsia gemmatalis* suscetível e resistente ao VPNMAg, em interação com rutina (0,65% e 1,30%) ou não (DN). Temperatura de 25 ± 2°C, UR de 70 ± 10% e fotofase de 12h.

Tratamentos	CL ₅₀ ¹	Intervalo de Confiança (95%)	Inclinação	χ^2
População Suscetível ao VPNMAg				
VPNMAg + DN	108,22	63,42 – 161,07	1,07 ± 0,13	3,23 ^{ns}
VPNMAg + 0,65%	170,82	130,06 – 215,65	1,96 ± 0,23	2,86 ^{ns}
VPNMAg + 1,30%	212,93	151,38 – 286,76	1,33 ± 0,15	3,32 ^{ns}
População Resistente ao VPNMAg				
VPNMAg + DN	2.966.621,03	1.342.876,55 – 5.026.076,83	0,69 ± 0,11	1,85 ^{ns}
VPNMAg + 0,65%	33.406,39	0,92 – 270.414,67	0,64 ± 0,22	2,68 ^{ns}
VPNMAg + 1,30%	-	-	-	-

1- Concentração letal média (CL₅₀) expressa em corpos de oclusão/ ml de dieta.

As interações entre rutina (0,65% e 1,30%) e diferentes concentrações do VPNMAg, segundo fórmula de Benz (1971), foram todas aditivas para a população suscetível ao vírus (Tabela 7). Entretanto, na população resistente ao VPNMAg, observou-se sinergismo quando 0,65% de rutina interagiu com as diferentes concentrações do VPNMAg, exceto na interação com a maior concentração do vírus (95.700.000 corpos de oclusão/ml de dieta) (Tabela 7). Esse fato evidencia, portanto, a redução na CL₅₀ que essa mistura (VPNMAg + 0,65% de rutina) proporcionou, em comparação a CL₅₀ do vírus utilizado em dieta normal. Efeito aditivo, na população resistente ao vírus, também foi observado quando houve a mistura de 1,30% de rutina com diferentes concentrações de VPNMAg.

Tabela 7. Interação¹ entre rutina (0,65% e 1,30%) e seis concentrações do vírus de poliedrose nuclear de *Anticarsia gemmatalis* (VPNMAg) em populações suscetível e resistente ao VPNMAg. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Concentração de VPNMAg (Corpos de Oclusão/ ml dieta)	Diets			
	0,65% de rutina		1,30% de rutina	
	Efeito	χ^2	Efeito	χ^2
População Suscetível ao VPNMAg				
60	Aditivo	3,66 ^{ns}	Aditivo	1,16 ^{ns}
180	Aditivo	1,68 ^{ns}	Aditivo	0,44 ^{ns}
540	Aditivo	0,44 ^{ns}	Aditivo	0,15 ^{ns}
1.600	Aditivo	2,80 ^{ns}	Aditivo	0,34 ^{ns}
4.860	Aditivo	0,80 ^{ns}	Aditivo	1,00 ^{ns}
População Resistente ao VPNMAg				
1.181.000	Sinergismo	4,39*	Aditivo	1,00 ^{ns}
3.543.000	Sinergismo	10,47**	Aditivo	1,00 ^{ns}
10.600.000	Sinergismo	8,13**	Aditivo	1,00 ^{ns}
31.900.000	Sinergismo	4,81*	Aditivo	1,00 ^{ns}
95.700.000	Aditivo	1,88 ^{ns}	Aditivo	0,00 ^{ns}

1- Interações segundo Benz (1971).

ns - não significativo, *P < 0,05, ** P < 0,01 - χ^2 (1; 0,05)

O peso de pupa foi, também, negativamente influenciado pela adição de rutina às dietas (Tabelas 8 e 9), embora sem interação significativa entre os fatores, para as duas populações. O maior peso médio de pupa, na população suscetível ao VPNMAg, independente da concentração do vírus, foi observado quando lagartas se alimentaram em dieta normal (258,3 mg), diferindo do peso de lagartas que se alimentaram de dieta contendo 0,65% de rutina (240,4 mg) e 1,30% de rutina (233,3 mg) (Tabela 8). Na população resistente ao VPNMAg (Tabela 9), insetos que se alimentaram em dieta normal, com ou sem a interação com diferentes concentrações do vírus, apresentaram o maior peso de pupas (229,7 mg), do que aqueles que se alimentaram em dieta com 0,65% de rutina (206,0 mg). No tratamento com 1,30% rutina, o número de sobreviventes foi nulo. O peso de pupa, levando-se em consideração as diferentes

concentrações do VPNNMg adicionados à dieta, não diferiu quanto às diferentes concentrações do vírus.

Tabela 8. Efeito da interação entre rutina (0,65% e 1,30%) e seis concentrações do vírus de poliedrose nuclear de *Anticarsia gemmatalis* (VPNNMg) no peso de pupa (mg) (Média \pm EP) da população suscetível ao VPNNMg (número de pupas entre parênteses). Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Concentração de VPNNMg ¹	Peso de Pupa (mg)		
	Dieta Normal	0,65% de Rutina	1,30% de Rutina
0	271,9 \pm 31,6 (55)	236,7 \pm 39,3 (33)	237,4 \pm 40,6 (19)
60	251,7 \pm 36,1(38)	233,7 \pm 43,1 (30)	225,5 \pm 41,9 (13)
180	248,0 \pm 31,5 (33)	226,5 \pm 45,8 (24)	229,4 \pm 31,8 (9)
540	254,2 \pm 36,9 (19)	226,5 \pm 40,9 (13)	258,4 \pm 28,2 (5)
1.600	257,5 \pm 36,4 (11)	200,7 \pm 30,7 (3)	-
4.860	234,5 \pm 12,5 (3)	-	-
Média - Dieta	258,3 A	240,3 B	231,1 B
Valor de F - Dietas	12,45***		
Valor de F - VPNNMg	1,09 ^{ns}		
Valor de F - Dietas x VPNNMg	1,11 ^{ns}		

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

ns- não significativo, *** P<0,001.

1- Concentração de VPNNMg expressa em corpos de oclusão/ ml de dieta.

Comparando-se as populações suscetível e resistente ao VPNNMg, observou-se, novamente, que lagartas da população suscetível apresentaram maiores pesos de pupa, em comparação com lagartas da população resistente, principalmente quando foi adicionada rutina à dieta, independentemente da concentração do vírus. Como a população suscetível ao VPNNMg não é submetida a gasto metabólico extra, provavelmente, suportam mais a presença do flavonóide na dieta e conseguem atingir peso de pupa mais elevado que o obtido com a população resistente.

Tabela 9. Efeito da interação entre rutina (0,65% e 1,30%) e seis concentrações do vírus de poliedrose nuclear de *Anticarsia gemmatalis* (VPNMAg) no peso de pupa (mg) (Média \pm EP) da população resistente ao VPNMAg (número de pupas entre parênteses). Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Concentração de VPNMAg ¹	Peso Pupa (mg)			Média-VPNMAg
	Dieta Normal	0,65% de Rutina	1,30% de Rutina	
0	246,8 \pm 30,54 (60)	211,3 \pm 35,4 (41)	-	236,2 a
1.181.000	216,7 \pm 30,3 (40)	186,4 \pm 53,4 (9)	-	232,4 a
3.543.000	216,3 \pm 25,6 (44)	180,7 \pm 50,1 (3)	-	228,8 a
10.600.000	229,7 \pm 27,4 (34)	218,0 \pm 10,2 (3)	-	224,5 a
31.900.000	236,2 \pm 29,2 (20)	-	-	214,0 a
95.700.000	224,5 \pm 24,0 (8)	-	-	211,2 a
Média - Dieta	229,7 A	206,0 B	-	
Valor de F – Dietas	14,84***			
Valor de F - VPNMAg	5,10**			
Valor de F - Dietas x VPNMAg	0,51 ^{ns}			

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha, e minúscula na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

ns- não significativo, ** P<0,01, *** P<0,001

1- Concentração de VPNMAg expressa em corpos de oclusão/ ml de dieta.

Uma das questões importantes em populações que desenvolvem resistência a vírus entomopatogênicos, a exemplo do constatado por Abot (1997) para *A. gemmatalis*, é o quanto essas populações resistentes podem ser afetadas em seus parâmetros biológicos devido ao custo metabólico a que são submetidas, quando comparadas com populações suscetíveis. Depois de várias gerações, foram analisados alguns parâmetros biológicos da população resistente comparado aos da suscetível ao VPN. O autor observou diferença significativa entre as duas populações no peso de pupas e no período de oviposição. Contudo, não houve diferença significativa na longevidade e fertilidade dessas populações.

Rutina confirmou-se como uma substância com evidente potencial aleloquímico, aumentando a mortalidade de lagartas e diminuindo o peso de pupa de *A. gemmatalis*, em ambas populações. Hoffmann-Campo *et al.* (1998), estudando o efeito de rutina (0,65% e 1,30%) em populações suscetíveis de *A. gemmatalis*, observaram que a adição desse flavonóide à dieta causou maior mortalidade, menor peso de pupa,

redução no consumo, no crescimento, na assimilação, na eficiência de conversão do alimento ingerido e digerido, no acúmulo de lipídios, além de ter prolongado o tempo de desenvolvimento dos insetos.

Os resultados sugerem que alguns genótipos de soja com característica de resistência a pragas, como a PI 274454, ou mais precisamente, genótipos contendo substâncias como a rutina, possuem potencial para o uso em combinação com o vírus da poliedrose nuclear de *A. gemmatalis*, principalmente em populações resistentes a esse patógeno. A rutina, agindo como deterrente alimentar, aparentemente pode contribuir para a redução da resistência de *A. gemmatalis* ao seu VPN, mas ao contrário do observado por Felton & Duffey (1990), não foi constatada inibição da infecção do VPN por essa substância. Entretanto, aspectos de compatibilidade envolvendo essas interações ainda carecem de estudos mais aprofundados em laboratório, casa de vegetação e campo, visando, então, incluir esse tipo de informação em programas de manejo integrado de praga para o controle de *A. gemmatalis*.

5.4. Literatura Citada

- Abot, A.R. 1997.** Parâmetros para produção de vírus de poliedrose nuclear *Baculovirus anticarsia*, visando o controle de *Anticarsia gemmatalis* Hubner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae). Tese de doutorado. Universidade Federal do Paraná, UFPR, Curitiba, 94p.
- Abot, A.R., F. Moscardi, J.R. Fuxa, D.R. Sosa-Gomez & A.R. Richter. 1996.** Development of resistance by *Anticarsia gemmatalis* from Brazil and United States to a nuclear polyhedrosis virus under laboratory selection pressure. *Biol. Control* 7: 126-130.
- Banzatto, D.A. & S.N. Kronka. 1992.** Experimentação Agrícola. Jaboticabal, Funep, 247p.
- Benz, G. 1971.** Synergism of micro-organisms and chemical insecticides, p. 327-355. In H.D. Burges & N.W. Hussey (eds.), *Microbial control of insects and mites*. London, Academic Press, 861p.
- Fehr, W.R. & C.E. Caviness. 1977.** Stages of soybean development. Special Report 80. Ames, Iowa State University of Science and Technology, 11p.
- Felton, G.W. & S.S. Duffey. 1990.** Inactivation of baculovirus by quinones formed in insect damaged plant tissues. *J. Chem. Ecol.* 16: 1221-1236.
- Felton, G.W., S.S. Duffey, P.V. Vail, H.K. Kaya & J. Manning. 1987.** Interaction of nuclear polyhedrosis virus with catechols: potential incompatibility for host-plant resistance against noctuid larvae. *J. Chem. Ecol.* 13: 947-957.
- Finney, D.J. 1971.** Probit analysis. London, Cambridge, Univ. Press, 333p.
- Greene, G.L., N.C. Leppla & W.A. Dickerson. 1976.** Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. *J. Econ. Entomol.* 69: 487-488.
- Hamm, J.J. & B.R. Wiseman. 1986.** Plant resistance and nuclear polyhedrosis virus for suppression of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Florida Entomol.* 69: 541-549.
- Hoffmann-Campo, C.B. 1995.** Role of the flavonoids in the natural resistance of soyabean to *Heliothis virescens* (F.) and *Trichoplusia ni* (Hübner). Ph.D. Dissertation, The University of Reading, Reading, 165p.
- Hoffmann-Campo, C.B., E.B. Oliveira & F. Moscardi. 1985.** Criação massal da lagarta da soja *Anticarsia gemmatalis*. EMBRAPA-CNPSO, Documentos 10, 23p.

- Hoffmann-Campo, C.B., J.A. Ramos Neto, M.C.N. Oliveira & L.J. Oliveira. 1998.** Behavioural and physiological effects of rutin on *A. gemmatalis*. In X International Symposium on Insect-Plant Relationships, Oxford, UK (Abstracts), p.95.
- Hoffmann-Campo, C.B., J.B. Harbone & A.R. Mccaffery. 2001.** Pre-ingestive and post-ingestive effects of soya bean extracts and rutin on *Trichoplusia ni* growth. *Entomol. Exp. Applic.* 98: 181-194.
- Hoffmann-Campo, C.B., L.J. Oliveira, F. Moscardi, D.L. Gazzoni, B.S. Corrêa-Ferreira, I.A. Lorini, M. Borges, A.R. Panizzi, D.R. Sosa-Gomez & I. Corso. 2003.** Integrated pest management in Brazil, p. 285-299. In K.M. Maredia, D. Dakouo & D. Mota-Sanches (eds), *Integrated pest management in the global arena*. Trowbridge, UK, CABI Publishing, Cromwell Press, 512p.
- Keating, S.T., W.G. Yendol & J.C. Scultz. 1988.** Relationship between susceptibility of gypsy moth larvae (Lepidoptera: Lymantriidae) to a baculovirus and host plant constituents. *Environ. Entomol.* 17: 952-958.
- Keating, S.T., M.T. Hunter & J.C. Scultz. 1990.** Leaf phenolic inhibition of gypsy moth nuclear polyhedrosis virus: Role of polyhedral inclusion body aggregation. *J. Chem. Ecol.* 16: 1445-1457.
- Kubo, I. & F.G. Hanke. 1986.** Chemical methods for isolating and identifying phytochemicals biologically active in insects, p. 225-249. In J.R. Miller & T.A. Miller (eds.), *Insect-plant interactions*. New York, Springer-Verlag, 374p.
- Luedders, V.D. & W.A. Dickerson. 1977.** Resistance of selected soybean genotypes and segregating population to cabbage looper feeding. *Crop Sci.* 17: 395-396.
- Morales, L., F. Moscardi, D.R. Sosa-Gomez, F. Paro & I. Soldório. 1997.** Enhanced activity of *Anticarsia gemmatalis* Hub. (Lepidoptera: Noctuidae) nuclear polyhedrosis virus by boric acid in the laboratory. *An. Soc. Entomol. Brasil* 26: 115-120.
- Moscardi, F. 1999.** Assessment of the application of baculoviruses for control of lepidoptera. *Annu. Rev. Entomol.* 44: 257-259.
- Moscardi, F. & D.R. Sosa-Gomez. 1992.** Use of viruses against soybean caterpillars in Brazil, p. 98-107. In L.G. Copping, M.B. Green & R.T. Rees (eds), *Pest management in soybean*. Essex, SCI-Elsevier Applied Science, 369p.
- Moscardi, F. & M.L. Souza de. 2002.** Baculovirus para o controle de pragas. *Biociência* 24: 22-29.

- Peng, F., J.R. Fuxa, S.J. Johnson & A.R. Richter. 1997.** Susceptibility of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae), reared on four host plants, to a nuclear polyhedrosis virus. *Environ. Entomol.* 26: 973-977.
- Rezende, J.A.M., M.A.C. Miranda de & H.A.A. Mascarenhas. 1980.** Comportamento de cultivares de soja em relação à área foliar comida por lagartas das folhas. *Bragantia* 39: 161-165.
- SAS Institute. 1996.** SAS Propriety Software Release 6.12. SAS-STAT User's guide. Vol II. SAS Institute, Cary, N.C., 1686p.
- Shapiro, M., J.L. Robertson & R.E. Webb. 1994.** Effect of neem seed extract upon the gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) and its nuclear polyhedrosis virus. *J. Econ. Entomol.* 87: 356-360.
- Sosa-Gomez, D.R. & F. Moscardi. 2001.** Resistencia de lepidópteros a los nucleopoliedrovirus: el caso de *Anticarsia gemmatalis* – AgMNPV, p 451-478. In P. Caballero, M. López-Ferber & T. Williams. (eds.), *Los Baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas*. Phytoma-España, Universidad Pública de Navarra, 518p.
- Young, S.Y., J.G. Yang & G.W. Felton. 1995.** Inhibitory effects on dietary tannins on the infectivity of nuclear polyhedrosis virus to *Helicoverpa zea* (Noctuidae: Lepidoptera). *Biol. Control* 5: 145-150.

CAPÍTULO 6

Efeito da rutina no desenvolvimento ninfal e no desempenho reprodutivo do predador *Podisus nigrispinus* Dallas (Hemiptera: Pentatomidae)

6.1. Introdução

Os aleloquímicos presentes nas plantas hospedeiras desempenham importante papel na sua defesa contra insetos, mas podem, também, afetar os inimigos naturais, tanto positivamente (Figueira *et al.* 2002) como negativamente (Orr & Boethel 1986, Weiser & Stamp 1998). Rutina (quercitina 3-O-rutinosídeo) é uma das substâncias químicas identificadas em concentrações relativamente altas, em genótipos de soja utilizados no programa de melhoramento para resistência a insetos na Embrapa Soja. Muitos autores, entretanto, citam sua incompatibilidade com alguns agentes de controle biológico como, por exemplo, predadores (Stamp *et al.* 1991), parasitóides (Barbosa *et al.* 1991) e entomopatógenos (Felton & Duffey 1990).

Aspectos morfológicos e bioquímicos das plantas hospedeiras podem influenciar direta e/ou indiretamente o terceiro nível trófico (Price 1986). Weiser & Stamp (1998) verificaram que após a adição de aleloquímicos na dieta artificial de lagartas de *Manduca sexta* L. (Lepidoptera: Shingidae), houve efeitos no predador *Podisus maculiventris* (Say) (Hemiptera: Pentatomidae), especialmente quando o número de presas era escasso. Rogers & Sullivan (1986) verificaram que genótipos de soja com característica de resistência foram responsáveis pelo aumento do período ninfal e da mortalidade do predador *Geocoris punctipes* (Say) (Hemiptera: Lygaeidae).

Inimigos naturais são importantes componentes do manejo integrado de pragas da cultura da soja (Hoffmann-Campo *et al.* 2003). Predadores que ocorrem naturalmente, como os do gênero *Podisus*, são muito eficientes na manutenção do equilíbrio de populações de lepidópteros pragas, como a lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatalis* Hübner, em condições favoráveis (Panizzi 1990, Saini 1994). Como a eficiência desses agentes de controle biológico pode ser influenciada pelas defesas químicas das plantas, informações relativas às suas interações e a resistência de plantas são importantes para o sucesso do manejo integrado de pragas. Este trabalho teve como objetivo determinar a influência da rutina sobre o desenvolvimento ninfal e

desempenho reprodutivo, em duas gerações do predador *Podisus nigrispinus* Dallas (Hemiptera: Pentatomidae).

6.2. Material e Métodos

6.2.1. Criação das lagartas para alimentar os predadores

Lagartas de *A. gemmatalis* provenientes do laboratório de criação massal da Embrapa Soja foram alimentadas desde a sua eclosão até servirem de alimento aos predadores, em dieta artificial (Greene *et al.* 1976 modificada por Hoffmann-Campo *et al.* 1985), contendo duas quantidades de rutina (0,65% e 1,30%) ou dieta normal. A quantidade de rutina utilizada nos experimentos foi baseada nos dados obtidos por Hoffmann-Campo (1995). A autora encontrou no extrato foliar da PI 227687 a quantidade de 0,641% (peso seco).

6.2.2. Desenvolvimento ninfal do predador *Podisus nigrispinus*

O desenvolvimento ninfal do predador *P. nigrispinus* foi estudado em duas gerações consecutivas. Os predadores foram obtidos do Laboratório de Entomologia Florestal da Universidade Federal de Viçosa, sendo provenientes de fêmeas criadas com larvas de *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae) (Zanuncio *et al.* 1994).

Os predadores, nas duas gerações, foram mantidos em B.O.D. sob condições controladas de temperatura, umidade e fotofase de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ UR e 12h, respectivamente. As ninfas do predador recém-eclodidas foram mantidas em placas de Petri (9,0 x 1,5 cm) contendo um chumaço de algodão embebido em água destilada sem alimento, pois as ninfas de 1º ínstar não se alimentam (Legaspi & O'Neil 1994, Valicente & O'Neil 1995). Quando os predadores atingiram o 2º ínstar, as ninfas receberam lagartas de 1º para 2º ínstars *ad libidum* de cada tratamento, como alimento. Entretanto, quando as ninfas atingiram o 3º ínstar, essas passaram a receber lagartas de 2º para 3º ínstars *ad lib.* de cada tratamento, até o primeiro dia do estágio adulto.

No primeiro dia do 3º ínstar, as ninfas foram pesadas para se obter o peso inicial, sendo a seguir individualizadas em placas de Petri e avaliadas diariamente, observando-se a mortalidade, tempo de desenvolvimento, em cada ínstar e total, e número de lagartas consumidas. As presas mortas ou sugadas foram removidas,

diariamente, substituindo-as por lagartas vivas. Foram consideradas como lagartas predadas aquelas que apresentavam lesões no tegumento, ausência de mobilidade e o conteúdo do corpo totalmente ou parcialmente sugado pelo predador (Silva *et al.* 1996). O consumo de cada ínstar e total dos predadores foi calculado pela multiplicação do número de lagartas consumidas, pela média do peso de 100 lagartas de 2^o para 3^o instares de cada tratamento que serviram como alimento aos predadores.

No primeiro dia do estágio adulto, os insetos foram pesados para se obter o peso final e separados em casais para o teste de desempenho reprodutivo. Os insetos para o estudo da 2^a geração foram obtidos, portanto, dos ovos provenientes do estudo do desempenho reprodutivo dos predadores da 1^a geração.

6.2.2.1. Análise estatística

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, com três tratamentos (lagartas + DN, lagartas + 0,65% de rutina e lagartas + 1,30% de rutina) e 60 repetições, em cada geração do predador. As variáveis respostas consideradas neste trabalho foram: mortalidade dos predadores em três instares, mortalidade total dos predadores, peso inicial (mg) dos predadores, avaliado no início do 3^o ínstar, peso de adulto (mg), avaliado no 1^o dia do estágio adulto, tempo de desenvolvimento em três instares (dias), tempo de desenvolvimento total (dias), número de lagartas consumidas em três instares, número de lagartas consumidas total, consumo em três instares (mg) e consumo total (mg).

A mortalidade foi analisada pelo teste de qui-quadrado (χ^2), conforme Banzatto & Kronka (1992), ao nível de 5% de probabilidade. As demais variáveis foram analisadas considerando-se três etapas: na primeira, foram realizados os testes estatísticos para verificar se todos os pressupostos requeridos pela análise de variância foram atendidos. Em seguida, realizaram-se as análises de variâncias com testes de médias de Tukey para tratamentos, ao nível de 5% de probabilidade e, na última etapa, foram realizadas as análises de covariância (ANCOVA), para os casos das variáveis respostas mensuradas estarem interferindo no efeito de outra variável. Para as análises estatísticas deste trabalho foi utilizado o pacote estatístico SAS-Statistical Analysis System (SAS Institute 1996).

Nas duas gerações do predador, utilizou-se a análise de covariância (ANCOVA), proposta por Raubenheimer & Simpson (1992), para estimar o ganho de peso e

crescimento dos predadores. O peso de adulto foi ajustado pelas covariáveis peso inicial e tempo de desenvolvimento total, respectivamente. Após a realização da ANCOVA, se a interação entre a covariável e o tratamento foi significativa, o efeito dos tratamentos ajustados pela covariável foi considerado. Entretanto, como a interação (covariável x tratamento) não foi significativa, utilizou-se o modelo de linhas paralelas, considerando-se somente o efeito dos tratamentos. Neste caso, as médias foram comparadas através das médias da ANCOVA ou médias dos quadrados médios.

6.2.3. Desempenho reprodutivo do predador *Podisus nigrispinus*

Adultos provenientes do desenvolvimento ninfal da 1^a e 2^a geração foram utilizados no teste de desenvolvimento reprodutivo do predador. Adultos recém emergidos (menos de 24h de idade) (De Clercq & Degheele 1997) foram separados em casais, acondicionados em caixas tipo gerbox (11,0 x 11,0 x 3,5 cm), contendo um chumaço de algodão embebido em água destilada, e mantidos em B.O.D. sob as condições controladas já descritas. Os casais foram observados diariamente, quanto a sua fertilidade e fecundidade, até a morte da fêmea; os machos foram substituídos, após a sua morte. Lagartas de *A. gemmatalis* de 3^o/4^o ínstar, que serviram como alimento aos adultos do predador, foram fornecidas *ad lib.*, seguindo cada tratamento.

6.2.3.1. Análise estatística

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, com três tratamentos (lagartas + DN, lagartas + 0,65% de rutina e lagartas + 1,30% de rutina) e número diferenciado de repetições, em cada geração do predador. As variáveis respostas consideradas no trabalho de desempenho reprodutivo de *P. nigrispinus* foram: períodos de pré-oviposição e oviposição (dias), número de massas de ovos/fêmea, número de ovos por massa, número total de ovos/fêmea, duração da fase de ovo, viabilidade de ovos (%) e longevidade das fêmeas e machos (dias). Posteriormente às análises estatísticas preliminares, realizaram-se as análises de variâncias com testes de médias de Tukey para tratamentos, ao nível de 5% de probabilidade.

6.3. Resultados e Discussão

6.3.1. Desenvolvimento ninfal do predador *Podisus nigrispinus*

O desenvolvimento ninfal de *P. nigrispinus* variou de acordo com o alimento utilizado, ínstar e a geração do predador. Com os percevejos predadores da 2ª geração obtiveram-se os melhores índices de desenvolvimento comparados aos da 1ª geração, indicando, possivelmente, uma adaptação ao alimento.

A mortalidade de *P. nigrispinus*, na 1ª geração, foi maior quando as presas (lagartas) se alimentaram de dieta artificial contendo 0,65% de rutina (58,8%), seguida de presas que se alimentaram em dieta normal (56,0%), ou seja, sem adição de rutina, sendo essas diferenças comparadas com o valor de $\chi^2_{(5; 0,05)}=9,84$ (Tabela 1). Na 2ª geração do predador, observou-se a mesma tendência, entretanto em nível inferior, independentemente do tratamento, conforme o teste χ^2 . Dos predadores que consumiram lagartas criadas em dieta com 0,65% de rutina, 24,5% morreram, e 20,0% e 14,5% dos indivíduos morreram quando consumiram lagartas que foram criadas em dieta normal e dieta com 1,30% de rutina, respectivamente (Tabela 1). Resultados similares foram obtidos por Matos-Neto *et al.* (2002a) que estudaram o efeito de variedades de soja no desenvolvimento de *P. nigrispinus* verificaram que a cultivar resistente ('IAC 17') foi a responsável por 27,1% de mortalidade dos predadores, enquanto 35,6% dos indivíduos morreram quando se alimentaram de lagartas criadas no genótipo de soja suscetível ('IAC 16').

A mortalidade de predadores no tratamento lagartas + 0,65% foi, provavelmente, causada pelo mecanismo de resposta pós-ingestivo, ou seja, os predadores mantiveram a alimentação sem detectarem a quantidade aparentemente inofensiva, porém tóxica, do flavonóide (Glendinning 2002). Isto refletiu no alto índice de mortalidade em ambas as gerações. Lagartas de *Trichoplusia ni* (Hub.) (Hoffmann-Campo *et al.* 2001) e de *Manduca sexta* (L.) (Stamp & Skrobola 1993) também falharam em detectar rutina na dieta artificial, pois o consumo não foi afetado pelo flavonóide, porém, apresentaram menores pesos de pupas, menor conversão do alimento em biomassa e menor digestibilidade.

Tabela 1. Porcentagem de mortalidade de *Podisus nigrispinus* (1ª e 2ª geração) que receberam como alimento lagartas de *Anticarsia gemmatalis* alimentadas em dieta contendo rutina (0,65% e 1,30%) ou não (DN). Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Tratamentos	Ínstar			Mortalidade Total
	3º	4º	5º	
1ª geração				
Lagartas + DN	18,0	30,0	8,0	56,0
Lagartas + 0,65%	17,6	25,5	15,7	58,8
Lagartas + 1,30%	20,0	0,0	21,8	41,8
χ^2	0,23 ^{ns}	13,41*	2,83 ^{ns}	9,84*
2ª geração				
Lagartas + DN	0,0	6,0	14,0	20,0
Lagartas + 0,65%	7,5	5,7	11,3	24,5
Lagartas + 1,30%	3,6	3,6	7,3	14,5
χ^2	4,01 ^{ns}	0,36 ^{ns}	1,27 ^{ns}	1,71 ^{ns}

ns- não significativo, * $P < 0,05 - \chi^2_{(2; 0,05)}$

O peso dos predadores no início do 3º ínstar (Tabela 2) foi significativamente maior quando as presas se alimentaram em dieta normal (1ª geração) (3,1 mg), em relação aos predadores que consumiram presas criadas em dieta com 0,65% (2,7 mg) e 1,30% de rutina (2,5 mg). Entretanto, na 2ª geração não houve diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 2), o mesmo ocorrendo para os pesos dos adultos na 1ª geração. Na 2ª geração, houve diferença estatística entre os tratamentos, para peso de adultos, com os maiores valores observados quando as presas se alimentaram de dieta normal (49,3 mg), e com 0,65% de rutina (47,7 mg). Já o peso de adultos dos predadores (2ª geração), foi significativamente menor (43,2 mg) quando as presas se alimentaram de dieta contendo 1,30% de rutina. Sabe-se que o alto peso de adulto está associado a elevado nível de reservas necessárias ao adequado desempenho do inseto na fase reprodutiva (Zanuncio *et al.* 2002); esse nível de reservas supõe-se estar intimamente associado à qualidade do alimento. Em condições de campo, predadores que se alimentarem de presas provenientes de genótipos com características de resistência, provavelmente teriam sua competitividade e

desempenho reprodutivo reduzido. Porém, o teor fisiológico encontrado nas folhas dos genótipos resistentes está abaixo de 1,30% de rutina. Enquanto a cultivar IAC-100 possui 0,67% de rutina, a PI 227687 apresenta teores intermediários, com 0,37% desse flavonóide (vide Capítulo 4).

Tabela 2. Peso no início do 3^o ínstar (mg) e peso de adultos (mg) de *Podisus nigrispinus* (1^a e 2^a geração) (Média \pm EP) que receberam como alimento lagartas de *Anticarsia gemmatalis* alimentadas em dieta contendo rutina (0,65% e 1,30%) ou não (DN). Temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Tratamentos	Peso inicial (mg)	Peso de adulto (mg)
1 ^a geração		
Lagartas + DN	3,1 \pm 0,17 a	40,8 \pm 2,17
Lagartas + 0,65%	2,7 \pm 0,12 b	41,4 \pm 1,58
Lagartas + 1,30%	2,5 \pm 0,07 b	38,9 \pm 1,60
Valor de F	8,24**	0,55 ^{ns}
2 ^a geração		
Lagartas + DN	2,5 \pm 0,05	49,3 \pm 1,42 a
Lagartas + 0,65%	2,4 \pm 0,06	47,7 \pm 1,27 a
Lagartas + 1,30%	2,5 \pm 0,05	43,2 \pm 1,06 b
Valor de F	0,28 ^{ns}	6,76**

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

** $P < 0,01$, ^{ns} não significativo

O tempo total de desenvolvimento dos predadores foi prolongado em cerca de dois dias e um dia, quando presas se alimentaram da dieta com o maior teor de rutina, na 1^a e 2^a geração, respectivamente (Tabela 3). Orr & Boethel (1986) observaram um prolongamento no desenvolvimento ninfal de fêmeas de *P. maculiventris*, tendo como presas lagartas de *Pseudoplusia includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) que se alimentaram com folhas de soja do genótipo resistente PI 227687. Esse fato não é favorável, considerando um programa de manejo integrado de pragas, pois um número menor de gerações do predador seria observado em condições de campo, podendo reduzir sua contribuição natural no controle de populações de pragas.

Tabela 3. Tempo de desenvolvimento ninfal (dias) (Média \pm EP) de *Podisus nigrispinus* (1^a e 2^a geração) que receberam como alimento lagartas de *Anticarsia gemmatalis* alimentadas em dieta contendo rutina (0,65% e 1,30%) ou não (DN). Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Tratamentos	Ínstar (dias)			Total (dias)
	3 ^o	4 ^o	5 ^o	
1 ^a geração				
Lagartas + DN	3,5 \pm 0,14	4,0 \pm 0,23 b	6,0 \pm 0,29	13,5 \pm 0,46 b
Lagartas + 0,65%	3,4 \pm 0,20	3,9 \pm 0,20 b	6,1 \pm 0,23	13,4 \pm 0,35 b
Lagartas + 1,30%	3,6 \pm 0,18	4,9 \pm 0,15 a	6,6 \pm 0,25	15,1 \pm 0,37 a
Valor de F	0,46 ^{ns}	8,54 ^{**}	2,13 ^{ns}	6,44 [*]
2 ^a geração				
Lagartas + DN	3,0 \pm 0,07 a	3,5 \pm 0,08 a	5,4 \pm 0,10 b	11,9 \pm 0,15 b
Lagartas + 0,65%	3,4 \pm 0,10 a	3,5 \pm 0,08 a	5,4 \pm 0,12 b	12,3 \pm 0,17 b
Lagartas + 1,30%	3,2 \pm 0,07 ab	3,8 \pm 0,07 a	5,9 \pm 0,13 a	12,9 \pm 0,16 a
Valor de F	5,27 ^{**}	3,51 [*]	6,33 ^{**}	9,63 ^{***}

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

*P < 0,05, ** P < 0,01, *** P < 0,001, ^{ns} não significativo

Nas duas gerações do predador, o número de lagartas consumidas, anteriormente alimentadas com 1,30% de rutina, foi maior (Tabela 4) e o consumo foi menor (Tabela 5), provavelmente porque as lagartas nesse tratamento atingiram menor peso, devido ao efeito do maior teor de rutina à dieta. Enquanto lagartas de 2^o para 3^o ínstars, criadas na dieta normal, pesaram na média 4,3 mg; lagartas criadas em dieta com 0,65% e 1,30% de rutina pesaram 3,7 mg e 2,6 mg, respectivamente. Segundo Price (1986), insetos criados em genótipos resistentes adquirem tamanho menor e conseqüentemente peso menor, o que seria um dos motivos de serem mais consumidos pelos predadores, que procuram atingir sua necessidade nutricional.

Alvarenga *et al.* (1995), estudando a biologia e a predação de *Dorus luteipes* (Scud) (Dermaptera: Forficulidae) sobre *Schizaphis graminum* (Rond.) (Hemiptera: Aphididae), criado em diferentes genótipos de sorgo, observaram que houve aumento do consumo predatório quando os pulgões se alimentaram no genótipo resistente. Entretanto, quando esses autores verificaram a relação entre número de pulgões

predados e a média do peso dessas presas, observaram que não houve diferenças entre os tratamentos, sugerindo que a necessidade diária de alimento do predador foi semelhante nos genótipos estudados. No presente experimento, o consumo de *P. nigrispinus*, que levou em consideração o peso das lagartas que serviram como presas, foi diferenciado entre os tratamentos. Conseqüentemente, o predador, mesmo se alimentando de um maior número de lagartas submetidas à dieta contendo 1,30% de rutina, não conseguiu suprir suas necessidades nutricionais.

Tabela 4. Número de lagartas de *Anticarsia gemmatalis*, alimentadas previamente em dieta contendo rutina (0,65% e 1,30%) ou não (DN), consumidas por *Podisus nigrispinus* (Média \pm EP) (1ª e 2ª geração) em três ínstar e total. Temperatura de 25 \pm 2°C, UR de 70 \pm 10% e fotofase de 12h.

Tratamentos	Número de lagartas consumidas/ Ínstar			Número total de lagartas consumidas
	3º	4º	5º	
1ª geração				
Lagartas + DN	6,5 \pm 0,45	15,8 \pm 1,10 b	30,1 \pm 1,16 b	52,4 \pm 2,09 b
Lagartas + 0,65%	6,7 \pm 0,56	15,5 \pm 1,10 b	28,9 \pm 1,27 b	51,1 \pm 2,10 b
Lagartas + 1,30%	7,2 \pm 0,79	20,5 \pm 0,92 a	41,0 \pm 1,50 a	68,7 \pm 2,51 a
Valor de F	0,37 ^{ns}	8,32 ^{**}	14,62 ^{***}	18,22 ^{***}
2ª geração				
Lagartas + DN	9,7 \pm 0,35	12,4 \pm 0,51 c	28,2 \pm 0,64 b	50,3 \pm 0,95 c
Lagartas + 0,65%	9,8 \pm 0,45	15,2 \pm 0,60 b	29,7 \pm 0,97 b	54,7 \pm 1,04 b
Lagartas + 1,30%	10,5 \pm 0,32	18,1 \pm 0,62 a	35,5 \pm 1,17 a	64,2 \pm 1,39 a
Valor de F	1,44 ^{ns}	24,61 ^{***}	16,25 ^{***}	37,79 ^{***}

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

** P < 0,01, *** P < 0,001, ^{ns} não significativo

Segundo Oliveira *et al.* (2002), o potencial de predação de *P. nigrispinus* em diversas presas é dependente do tamanho da presa e pode variar em razão das condições de estudo. Mukerji & Leroux (1969) afirmaram que ninfas e adultos de *P. maculiventris* podem sobreviver satisfatoriamente com presas pequenas durante um longo período de tempo, mas necessitam de presas de tamanho grande para acelerar o

período de desenvolvimento, aumentar o crescimento e manter um potencial alto de reprodução.

Tabela 5. Consumo de *Podisus nigrispinus* (mg) (Média \pm EP) (1ª e 2ª geração) recebendo como alimento lagartas de *Anticarsia gemmatalis* alimentadas em dieta contendo rutina (0,65% e 1,30%) ou não (DN) em três ínstar e total. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Tratamentos	Consumo (mg)/ Ínstar			Consumo Total (mg)
	3º	4º	5º	
1ª geração				
Lagartas + DN	28,2 \pm 1,94 a	68,2 \pm 4,74 a	130,1 \pm 6,10 a	226,5 \pm 9,02 a
Lagartas + 0,65%	24,6 \pm 2,88 ab	56,8 \pm 4,02 ab	106,0 \pm 6,07 b	187,4 \pm 7,71 b
Lagartas + 1,30%	18,4 \pm 1,42 b	52,5 \pm 2,34 b	105,1 \pm 5,61 b	176,0 \pm 6,42 b
Valor de F	7,02*	5,46*	5,18*	12,03***
2ª geração				
Lagartas + DN	42,0 \pm 1,52 a	55,8 \pm 2,22 a	121,8 \pm 2,77 a	217,3 \pm 4,11 a
Lagartas + 0,65%	36,1 \pm 1,67 b	53,5 \pm 2,19 a	108,9 \pm 3,54 b	200,8 \pm 3,81 b
Lagartas + 1,30%	27,0 \pm 0,83 c	46,4 \pm 1,59 b	91,0 \pm 3,01 c	164,3 \pm 3,56 c
Valor de F	33,16***	6,31**	25,44***	52,43***

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

*P < 0,05, ** P < 0,01, *** P < 0,001

6.3.1.1. Crescimento e ganho de peso do predador *Podisus nigrispinus*, fornecendo como alimento, lagartas de *Anticarsia gemmatalis* alimentadas em dieta com rutina

A análise de covariância (ANCOVA) não indicou efeito interativo entre a covariável tempo de desenvolvimento com o peso de adultos nos diferentes tratamentos, em ambas gerações (Tabela 6). Portanto, essas relações foram representadas pelo modelo de linhas paralelas. Nos gráficos de dispersão bicoordenados (Figuras 1 e 2), entretanto, algumas particularidades podem ser observadas.

Tabela 6. Análise de covariância para o crescimento de *Podisus nigrispinus* (1ª e 2ª geração) estimado através do ajuste de peso de adulto pela covariável tempo de desenvolvimento, recebendo como alimento lagartas de *Anticarsia gemmatalis* alimentadas em dieta contendo rutina (0,65% e 1,30%) ou não (DN).

Variação	GL	Valor de F
		Peso de adulto
1ª geração		
Tempo de desenvolvimento (covariável)	1	0,72 ^{ns}
Tratamento	2	1,26 ^{ns}
Tempo de desenvolvimento x Tratamento	2	1,34 ^{ns}
Resíduo	64	-

Tratamento	2	0,19 ^{ns}
Tempo de desenvolvimento	1	0,71 ^{ns}
Resíduo	66	-

2ª geração		
Tempo de desenvolvimento (covariável)	1	5,57*
Tratamento	2	3,95*
Tempo de desenvolvimento x Tratamento	2	2,94 ^{ns}
Resíduo	121	-

Tratamento	2	9,39***
Tempo de desenvolvimento	1	5,40*
Resíduo	123	-

*P < 0,05, *** P < 0,001, ^{ns} não significativo

Na 1ª geração (Tabela 6, Figura 1), apesar de o efeito principal de o tratamento e do tempo de desenvolvimento não serem significativos, ocorreu uma tendência negativa entre os fatores, ou seja, um prolongamento na fase ninfal do inseto não representou aumento proporcional de peso de adultos. Já na 2ª geração dos insetos

(Tabela 6, Figura 2), observou-se que o efeito principal dos tratamentos e do tempo de desenvolvimento, quando analisados separadamente, influenciaram o peso dos insetos; isso sugere que o crescimento dos insetos foi dependente dos dois fatores, mas não de um efeito interativo entre eles. Na Figura 2, observa-se que houve uma relação positiva entre o tempo de desenvolvimento e o peso de adultos do predador, sugerindo a adaptação gradativa deste ao alimento. Através das médias resultantes da ANCOVA (gráfico de barras inserido na Figura 2), verifica-se que o tratamento com dieta normal foi o responsável por um maior crescimento dos predadores, quando comparado ao tratamento envolvendo 1,30% de rutina, porém, não diferindo de insetos do tratamento com 0,65% de rutina.

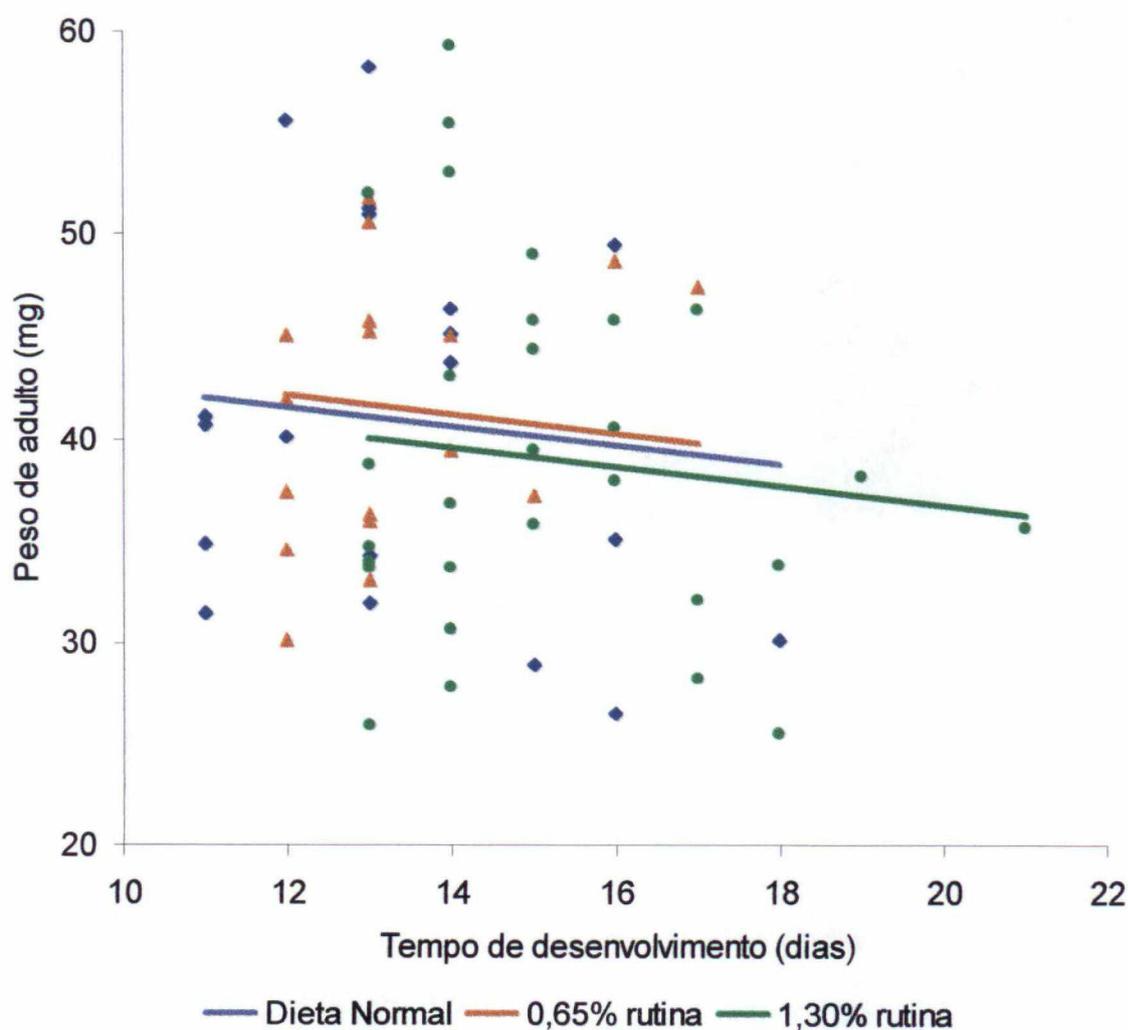


Figura 1. Crescimento de *Podisus nigrispinus* (1ª geração), estimado através do ajuste de peso de adulto pela covariável tempo de desenvolvimento, recebendo como alimento lagartas de *Anticarsia gemmatalis* alimentadas em dieta contendo rutina (0,65% e 1,30%) ou não (Dieta Normal). Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

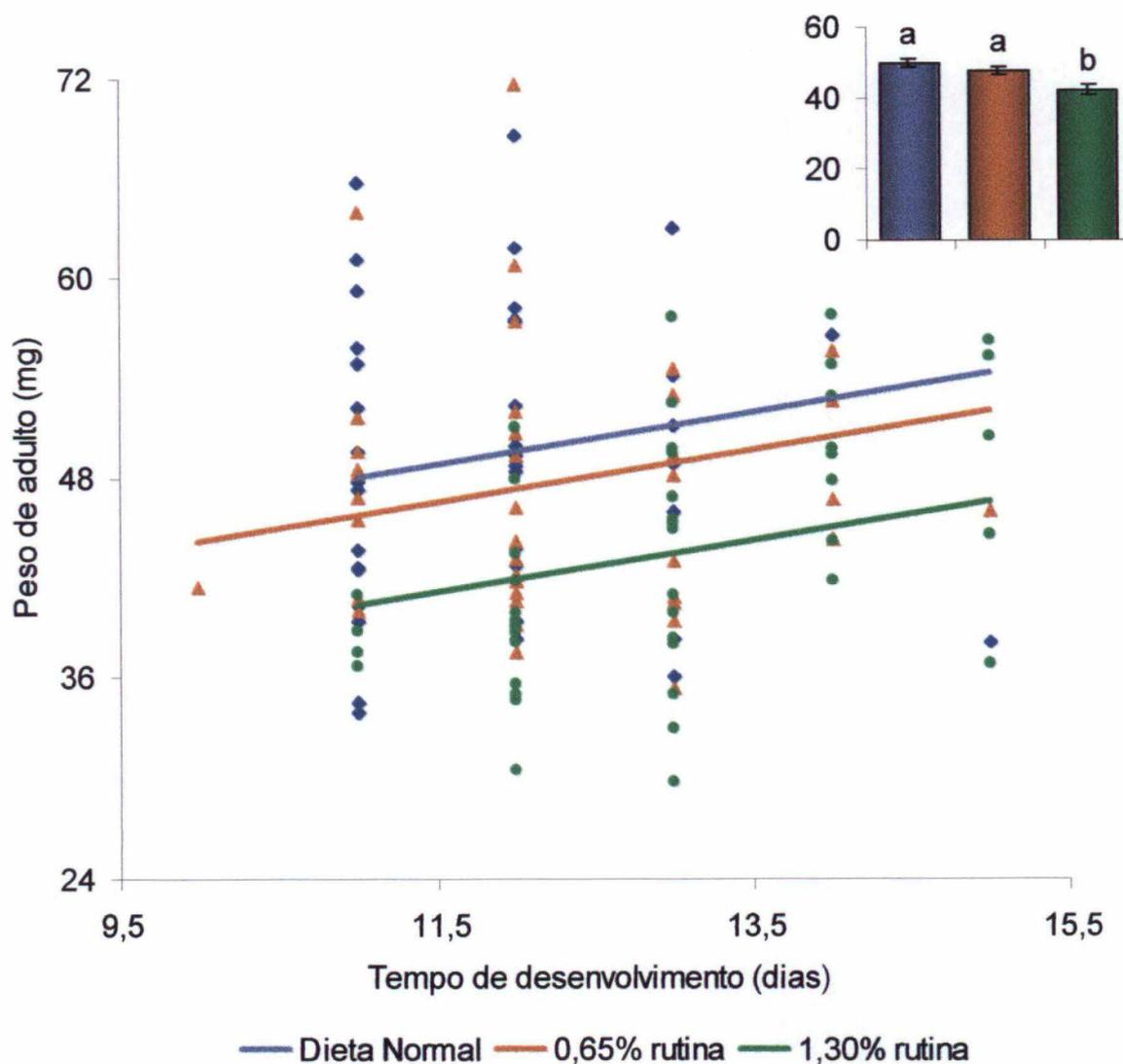


Figura 2. Crescimento de *Podisus nigrispinus* (2ª geração), estimado através do ajuste de peso de adulto pela covariável tempo de desenvolvimento, recebendo como alimento lagartas de *Anticarsia gemmatalis* alimentadas em dieta contendo rutina (0,65% e 1,30%) ou não (Dieta Normal). Gráfico de barras mostra o peso de adulto pelas médias resultantes da ANCOVA. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

A análise de covariância para ganho de peso dos insetos, que foi estimado através do ajuste do peso de adulto pela covariável peso inicial dos predadores (3º ínstar), não mostrou interação significativa entre a covariável e os tratamentos, em ambas as gerações (Tabela 7). Esse fato indica que o peso de adultos não foi influenciado pelo peso inicial dos predadores. Entretanto, observam-se algumas

diferenças entre as duas gerações conforme os gráficos de dispersão bicoordenados (Figuras 4 e 5).

Na 1ª geração (Tabela 7, Figura 3) o efeito principal dos tratamentos e do peso inicial dos insetos não foi significativo, mostrando que, após a remoção do efeito do peso inicial das lagartas, que foi diferente (Tabela 2), o ganho de peso dos insetos não foi influenciado pelos diferentes tratamentos. Contudo, na 2ª geração (Tabela 7, Figura 4), o efeito principal do tratamento foi significativo, mostrando que, mesmo após a remoção do efeito do peso inicial, o peso de adultos foi afetado pelos diferentes tratamentos. Pelas médias resultantes da ANCOVA (gráfico de barras inserido na Figura 4), observou-se que insetos provenientes do tratamento lagartas + DN e lagartas + 0,65% de rutina apresentam maior ganho de peso, em comparação com predadores do tratamento com lagartas alimentadas em dieta contendo 1,30% de rutina, que apresentaram menores pesos de adultos, quando comparados aos demais tratamentos.

Tabela 7. Análise de covariância para o ganho de peso de *Podisus nigrispinus* (1ª e 2ª geração) estimado através do ajuste de peso de adulto pela covariável peso inicial, recebendo como alimento lagartas de *Anticarsia gemmatalis* alimentadas em dieta contendo rutina (0,65% e 1,30%) ou não (DN).

Variação	GL	Valor de F
		Peso de adulto
1ª geração		
Peso inicial (covariável)	1	0,73 ^{ns}
Tratamento	2	0,85 ^{ns}
Peso inicial x Tratamento	2	1,05 ^{ns}
Resíduo	64	-
<hr style="border-top: 1px dashed black;"/>		
Tratamento	2	0,33 ^{ns}
Peso Inicial	1	0,73 ^{ns}
Resíduo	66	-
2ª geração		
Peso inicial (covariável)	1	0,01 ^{ns}
Tratamento	2	0,10 ^{ns}
Peso inicial x Tratamento	2	0,01 ^{ns}
Resíduo	121	-
<hr style="border-top: 1px dashed black;"/>		
Tratamento	2	6,69*
Peso Inicial	1	0,01 ^{ns}
Resíduo	123	-

*P < 0,05, ^{ns} não significativo

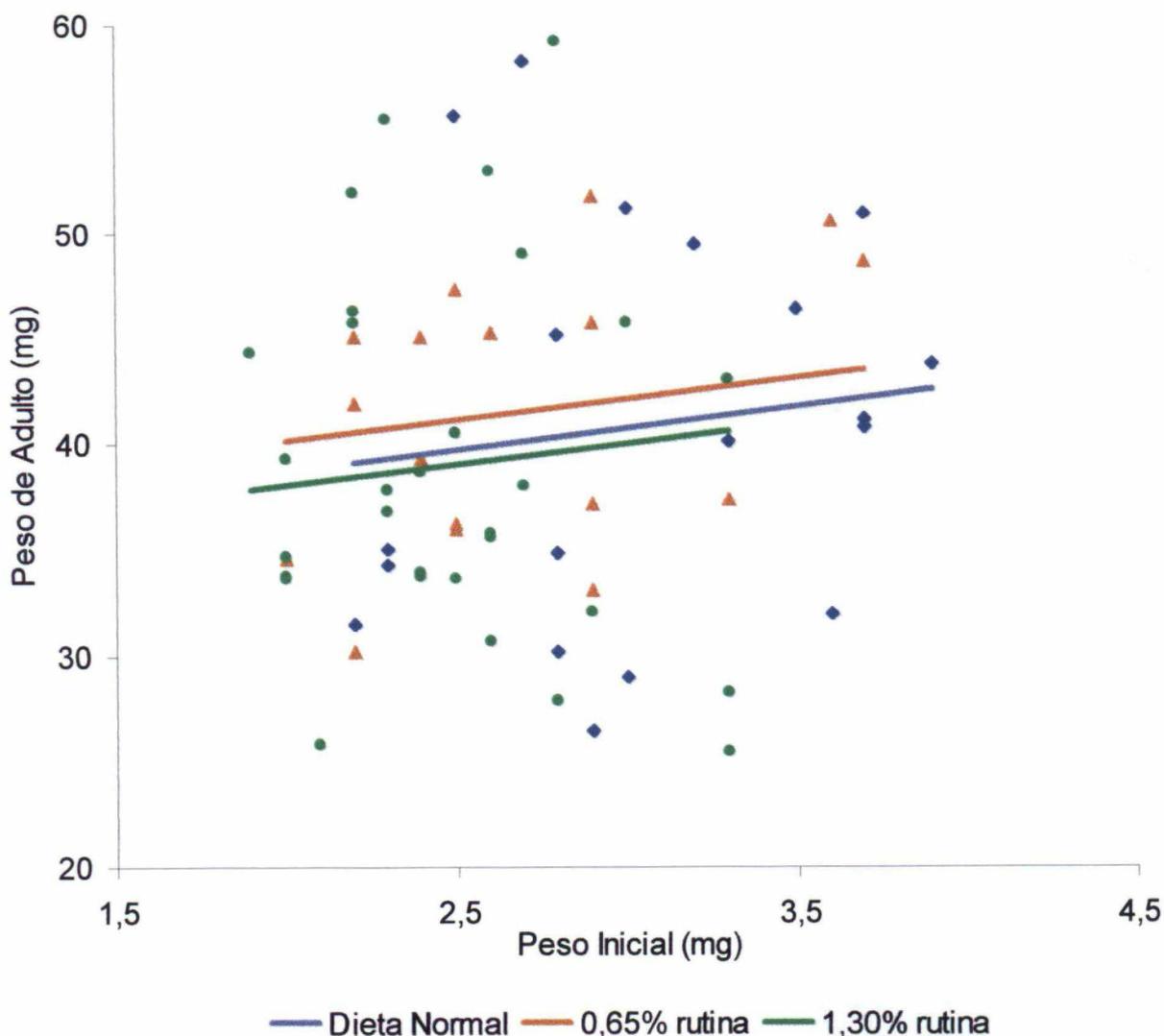


Figura 3. Ganho de peso de *Podisus nigrispinus* (1ª geração), estimado através do ajuste de peso de adulto pela covariável peso inicial, recebendo como alimento lagartas de *Anticarsia gemmatalis* alimentadas em dieta contendo rutina (0,65% e 1,30%) ou não (Dieta Normal). Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Os resultados mostram que a rutina afeta alguns aspectos do desenvolvimento ninfal de *P. nigrispinus*; entretanto, esse efeito varia de acordo com a quantidade do flavonóide, o ínstar e a geração do predador. Os aleloquímicos que afetam as presas podem, também, ter um efeito negativo nos predadores quando esses estiverem relacionados à sua disponibilidade (Weiser & Stamp 1998). Osier *et al.* (1996) não encontraram efeitos negativos dos aleloquímicos tomatina, rutina e ácido clorogênico no ganho de peso, tempo de desenvolvimento e fertilidade do predador *P.*

maculiventris, mas, quando os predadores foram colocados em uma situação de escassez de alimento (lagartas de *M. sexta*), os aleloquímicos causaram efeitos negativos no seu desenvolvimento. Portanto, mais estudos se fazem necessários, principalmente em escassez de alimento, pois tais interações, muito comuns em condições de campo, podem causar importantes implicações na dinâmica populacional da praga e do predador.

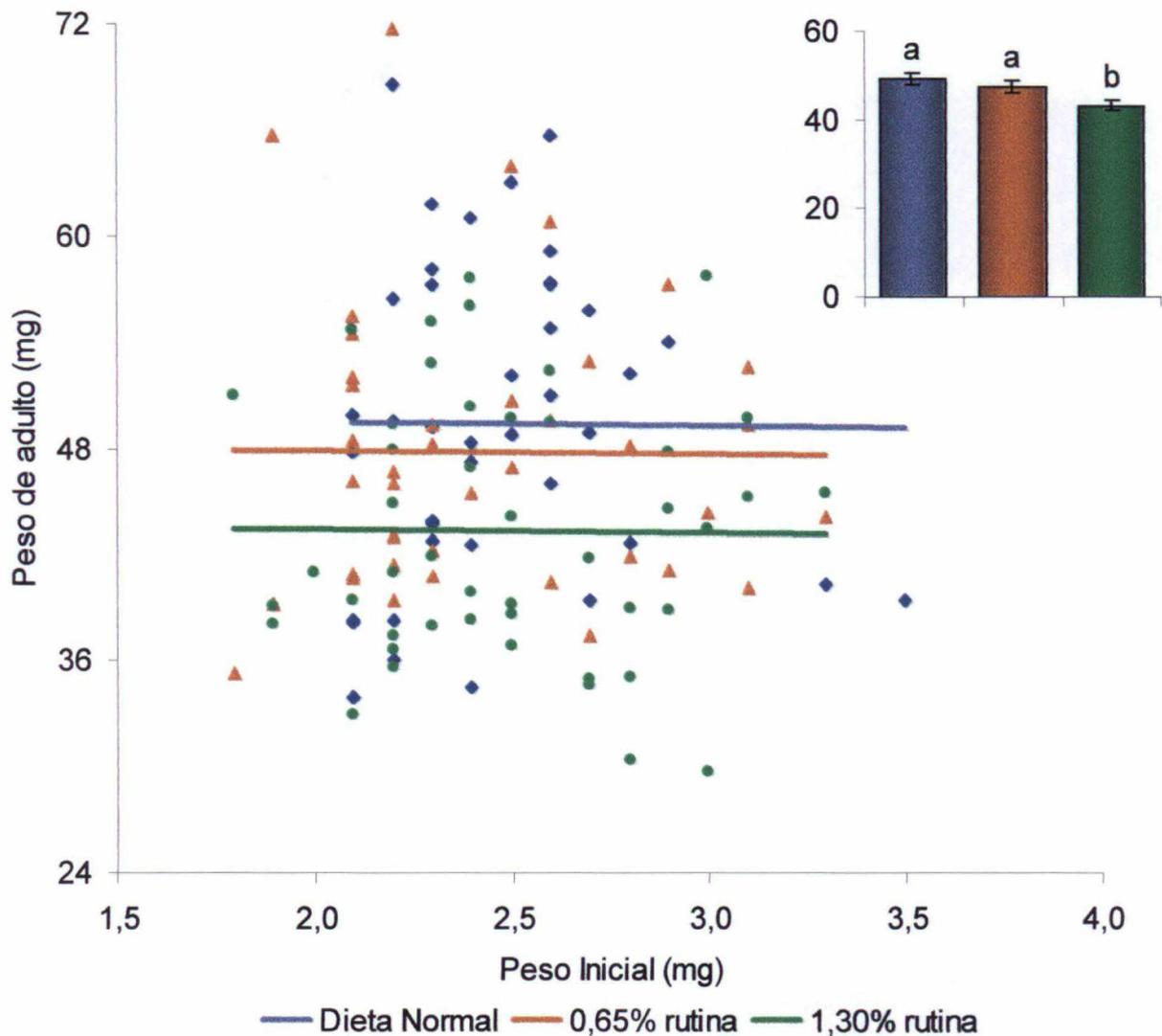


Figura 4. Ganho de peso de *Podisus nigrispinus* (2ª geração), estimado através do ajuste de peso de adulto pela covariável peso inicial, recebendo como alimento lagartas de *Anticarsia gemmatalis* alimentadas em dieta contendo rutina (0,65% e 1,30%) ou não (Dieta Normal). Gráfico de barras mostra o peso de adulto pelas médias resultantes da ANCOVA. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

6.3.2. Desempenho reprodutivo do predador *Podisus nigrispinus*

Quando os predadores consumiram lagartas criadas em dieta contendo rutina, constatou-se a tendência de alongamento do período de pré-oviposição e oviposição, tanto na 1^a, quanto na 2^a geração, porém sem apresentar diferenças estatísticas entre os tratamentos. Também não houve diferenças estatísticas entre os tratamentos para número de massas de ovos e número médio de ovos por fêmea, nas duas gerações do predador (Tabela 8). Contudo, uma diferença altamente significativa foi verificada no número de ovos por massa, na 2^a geração de *P. nigrispinus*. Predadores que consumiram lagartas criadas em dieta normal (32,7) ou acrescida de 0,65% de rutina (31,8) apresentaram o maior número de ovos por massa em relação aos alimentados com lagartas criadas em dieta com 1,30% de rutina (24,8) (Tabela 8). Em condições de campo, esse fato não é favorável, pois um menor número de predadores seria observado, provavelmente comprometendo sua contribuição no controle natural das lagartas, entretanto, o teor fisiológico de rutina contido nos genótipos resistentes é menor do que 1,30% (vide Capítulo 4). Cohen & Urias (1988) verificaram que a sobrevivência, o peso de exúvia e de ovo, o crescimento relativo, o índice de consumo, a eficiência de crescimento e a digestibilidade do predador *G. punctipes* não foram afetados pela adição de rutina à sua dieta.

A duração da fase de ovo, viabilidade dos ovos e longevidade dos adultos também não foram influenciados negativamente pela adição de rutina à dieta da presa (Tabela 9). Orr & Boethel (1986) observaram a mesma tendência em adultos de *P. maculiventris* alimentados com a PI 227687, ou seja, metabólitos secundários presentes nesse genótipo, mais provavelmente a rutina, não afetaram a fecundidade do predador, mas prolongaram os períodos de pré-oviposição e oviposição, em comparação a predadores criados com lagartas que se alimentaram com folhas do cultivar suscetível Davis.

Tabela 8. Período de pré-oviposição e oviposição, número de massas de ovos, número de ovos por massa e número médio de ovos por casal de *Podisus nigrispinus* (1ª e 2ª geração) (N= número de casais) (Média ± EP) que receberam como alimento lagartas de *Anticarsia gemmatalis* alimentadas em dieta contendo rutina (0,65% e 1,30%) ou não (DN). Temperatura de 25 ± 2°C, UR de 70 ± 10% e fotofase de 12h.

Tratamentos	Período de pré-oviposição (dias)	Período de Oviposição (dias)	Número de massas de ovos/fêmea	Número de ovos por massa	Número médio de ovos/fêmea
1ª geração					
Lagartas + DN (n=7)	7,0 ± 0,49 (5-9)	9,7 ± 2,32 (3-24)	7,1 ± 1,50 (3-15)	23,0 ± 1,53 (18-28)	167,3 ± 37,60 (70-225)
Lagartas + 0,65% (n=7)	8,0 ± 0,75 (6-10)	17,0 ± 4,05 (3-32)	11,0 ± 2,41 (3-19)	22,7 ± 2,35 (21-36)	243,3 ± 50,92 (64-361)
Lagartas + 1,30% (n=11)	6,7 ± 0,33 (5-9)	16,9 ± 2,47 (3-32)	9,9 ± 1,14 (3-16)	26,6 ± 1,79 (16-34)	260,8 ± 33,39 (83-462)
Valor de F	1,71 ^{ns}	1,82 ^{ns}	1,29 ^{ns}	1,44 ^{ns}	1,48 ^{ns}
2ª geração					
Lagartas + DN (n=15)	8,2 ± 0,54 (6-12)	18,6 ± 3,25 (4-47)	11,5 ± 1,57 (3-24)	32,7 ± 1,20 a (27-40)	376,2 ± 52,88 (109-748)
Lagartas + 0,65% (n=13)	7,9 ± 0,49 (5-10)	20,5 ± 4,44 (5-48)	12,7 ± 2,76 (3-35)	31,8 ± 1,48 a (25-42)	406,9 ± 86,40 (96-975)
Lagartas + 1,30% (n=12)	8,6 ± 0,98 (5-14)	27,4 ± 3,25 (9-52)	14,4 ± 1,79 (7-29)	24,8 ± 1,00 b (20-31)	359,8 ± 50,20 (172-783)
Valor de F	0,22 ^{ns}	1,53 ^{ns}	0,48 ^{ns}	10,95 ^{***}	0,13 ^{ns}

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

*** P < 0,001, ^{ns} não significativo

Tabela 9. Duração da fase de ovo (dias), porcentagem de eclosão (%), e longevidade média de fêmeas e machos (dias) de *Podisus nigripisus* (1ª e 2ª geração) (N= número de casais) (Média ± EP) que receberam como alimento lagartas de *Anticarsia gemmatalis* alimentadas em dieta contendo rutina (0,65% e 1,30%) ou não (DN). Temperatura de 25 ± 2°C, UR de 70 ± 10% e fotofase de 12h.

Tratamentos	Duração da fase de ovo (dias)	Viabilidade de ovos (%)	Longevidade	
			fêmea (dias)	macho (dias)
1ª geração				
Lagartas + DN (n=7)	4,2 ± 0,12 (3,9-4,8)	82,5 ± 2,25	17,0 ± 1,59 (10-29)	24,8 ± 3,98 (20-54)
Lagartas + 0,65% (n=7)	4,0 ± 0,06 (3,6-4,3)	71,9 ± 7,37	25,3 ± 5,51 (8-46)	44,4 ± 5,73 (26-58)
Lagartas + 1,30% (n=11)	4,1 ± 0,03 (4,0-4,3)	79,7 ± 2,56	25,1 ± 2,61 (9-36)	30,6 ± 4,12 (10-49)
Valor de F	1,39 ^{ns}	1,48 ^{ns}	1,83 ^{ns}	2,97 ^{ns}
2ª geração				
Lagartas + DN (n=15)	4,0 ± 0,04 (3,8-4,4)	87,8 ± 2,17	27,9 ± 3,70 (10-58)	38,5 ± 4,07 (5-72)
Lagartas + 0,65% (n=13)	3,9 ± 0,02 (3,7-4,0)	85,4 ± 4,25	27,2 ± 4,65 (10-63)	43,5 ± 5,55 (6-79)
Lagartas + 1,30% (n=12)	4,0 ± 0,02 (3,9-4,1)	87,4 ± 1,85	38,3 ± 3,05 (23-59)	52,0 ± 2,85 (22-63)
Valor de F	2,49 ^{ns}	0,20 ^{ns}	2,41 ^{ns}	2,58 ^{ns}

^{ns} não significativo

Matos-Neto *et al.* (2002b), estudando o efeito de variedades de soja no desempenho reprodutivo de *P. nigrispinus*, verificaram que não houve diferença entre a maioria dos parâmetros avaliados, sugerindo que o genótipo resistente ('IAC 17') não interferiu na prole do predador. No entanto, os predadores foram submetidos, ao mesmo tempo, a plantas das variedades avaliadas ('IAC 17' e 'IAC 16') e lagartas criadas nesses genótipos, diferenciando do presente experimento, onde a substância quimicamente pura (rutina) foi adicionada à dieta, sendo eliminados os fatores físicos e morfológicos da planta.

O potencial reprodutivo dos insetos é influenciado por uma série de fatores intrínsecos e extrínsecos, sendo os aspectos nutricionais cruciais, pois afetam diretamente a sua fecundidade e fertilidade (Panizzi 1991). Assim, os resultados sugerem que, nas porcentagens testadas, a rutina não provocou alterações marcantes no desempenho reprodutivo de *P. nigrispinus*, o que indica a adequação da resistência da planta com o controle biológico. Contudo, estudos adicionais em condições de campo, utilizando-se genótipos com característica de resistência a insetos, se fazem necessários, pois tanto os efeitos dos fatores de resistência morfológicos da planta, como situações de escassez de alimento, podem ocorrer e influenciar o estado fisiológico e biológico de predador.

6.4. Literatura Citada

- Alvarenga, C.D., J.D. Vendramim & I. Cruz. 1995.** Biologia e predação de *Dorus luteipes* (Scud) sobre *Schizaphis graminum* (Rond.) criado em diferentes genótipos de sorgo. An. Soc. Entomol. Brasil 24: 523-531.
- Banzatto, D.A. & S.N. Kronka. 1992.** Experimentação Agrícola. Jaboticabal, Funep, 247p.
- Barbosa, P., P. Gross & J. Kemper. 1991.** Influence of plant allelochemicals on the tobacco hornworm and its parasitoid, *Cotesia congregata*. Ecol. 72: 1567-1575.
- Cohen, A.C. & N.M. Urias, 1988.** Food utilization and egestion rates of the predator *Geocoris punctipes* (Hemiptera: Heteroptera) fed artificial diets with rutin. J. Entomol. Sci. 23: 174-179.
- De Clercq, P. & D. Degheele. 1997.** Effects of mating status on body weight, oviposition, egg load, and predation in the predatory stinkbug *Podisus maculiventris* (Heteroptera: Pentatomidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 90: 121-127.
- Felton, G.W. & S.S. Duffey. 1990.** Inactivation of baculovirus by quinones formed in insect damaged plant tissues. J. Chem. Ecol. 16: 1221-1236.
- Figueira, L.K., F.M. Lara & I. Cruz. 2002.** Efeitos de genótipos de sorgo sobre o predador *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) alimentado com *Schizaphis graminum* (Rondani) (Hemiptera: Aphididae). Neotrop. Entomol. 31: 133-139.
- Glendinning, J.I. 2002.** How do herbivorous insects cope with noxious secondary plant compounds in their diet? Entomol. Exp. Applic. 104: 15-25.
- Greene, G.L., N.C. Leppla & W.A. Dickerson. 1976.** Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. J. Econ. Entomol. 69: 487-488.
- Hoffmann-Campo, C.B., E.B. Oliveira & F. Moscardi. 1985.** Criação massal da lagarta da soja *Anticarsia gemmatilis*. EMBRAPA-CNPSO, Documentos 10, 23p.
- Hoffmann-Campo, C.B., J.B. Harbone & A.R. Mccaffery. 2001.** Pre-ingestive and post-ingestive effects of soya bean extracts and rutin on *Trichoplusia ni* growth. Entomol. Exp. Applic. 98: 181-194.

- Hoffmann-Campo, C.B., L.J. Oliveira, F. Moscardi, D.L. Gazzoni, B.S. Corrêa-Ferreira, I.A. Lorini, M. Borges, A.R. Panizzi, D.R. Sosa-Gomez & I. Corso. 2003.** Integrated pest management in Brazil, p. 285-299. In K.M. Maredia, D. Dakouo & D. Mota-Sanches (eds), integrated pest management in the global arena. Trowbridge, UK, CABI Publishing, Cromwell Press, 512p.
- Legaspi, J.C. & R.J. O'Neil. 1994.** Developmental response of nymphs of *Podisus maculiventris* (Heteroptera: Pentatomidae) reared with low numbers of prey. *Environ. Entomol.* 23: 374-380.
- Matos-Neto, F. da C., J.C. Zanuncio, I. Cruz & J.B. Torres. 2002a.** Nymphal development of *Podisus nigrispinus* (Heteroptera, Pentatomidae) preying on larvae of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera, Noctuidae) fed with resistant and susceptible soybeans. *Rev. Bras. Entomol.* 46: 237-241.
- Matos-Neto, F.C., J.C. Zanuncio, M.C. Picanço & I. Cruz. 2002b.** Reproductive characteristics of the predator *Podisus nigrispinus* fed with an insect resistant soybean variety. *Pesq. Agropec. Bras.* 37: 917-924.
- Mukerji, M.K. & E.J. Leroux. 1969.** A quantitative study of the food consumption and growth of *Podisus maculiventris* (Hemiptera: Pentatomidae). *Can. Entomol.* 101: 387-403.
- Oliveira, J.E.M., J.B. Torres, A.F. Carrano-Moreira & F.S. Ramalho. 2002.** Biologia de *Podisus nigrispinus* predando lagartas de *Alabama argillacea* em campo. *Pesq. Agropec. Bras.* 37: 7-14.
- Orr, D.B. & D.J. Boethel. 1986.** Influence of plant antibiosis through four trophic levels. *Oecologia* 70: 242-249.
- Osier, T.L., M.S. Traugott & N.E. Stamp. 1996.** Tomato allelochemicals affect a specialist insect herbivore (*Manduca sexta*) negatively but with no ill effects on a generalist insect predator (*Podisus maculiventris*). *Oikos* 77: 481-488.
- Panizzi, A.R. 1990.** Manejo integrado de pragas da soja no Brasil, pp. 293-321. In P. Crocomo (ed.), Manejo integrado de pragas. São Paulo, Editora Unesp, 358p.
- Panizzi, A.R. 1991.** Ecologia nutricional de insetos sugadores de sementes, p. 253-287. In A.R. Panizzi & J.R.P. Parra (eds.), Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas. São Paulo, Editora Manole Ltda, 359p.

- Price, P.W. 1986.** Ecological aspects of host plant resistance and biological control: interactions among three trophic levels, p 11-30. In D.J. Boethel & R.D. Eikenbary (eds.), Interactions of plant resistance and parasitoids and predators of insects. Chichester, UK, Ellis Horwood, 224p.
- Raubenheimer, D. & S.J. Simpson. 1992.** Analysis of covariance: an alternative to nutritional indices. *Entomol. Exp. Appl.* 62: 221-231.
- Rogers, D.J. & M.J. Sullivan. 1986.** Nymphal performance of *Geocoris punctipes* (Hemiptera: Lygaeidae) on pest resistance soybeans. *Environ. Entomol.* 15: 1032-1036.
- Saini, E. 1994.** Preferencia alimentaria de *Podisus connexivus* Bergroth (Heteroptera-Pentatomidae) e influencia del comportamiento de lepidópteros plagas de la soja sobre la eficiencia del depredador. *Rev. Invest. Agrop.* 25: 151-157.
- SAS Institute. 1996.** SAS Propriety Software Release 6.12. SAS-STAT User's guide. Vol II. SAS Institute, Cary, N.C., 1686p.
- Silva, E.N., T.M. Santos & F.S. Ramalho. 1996.** Desenvolvimento ninfal de *Supputius cincticeps* Stal (Hemiptera: Pentatomidae) alimentado com curuquerê-do-algodoeiro. *An. Soc. Entomol. Brasil* 25: 103-108.
- Stamp, N.E., T. Erksine & C.J. Paradise. 1991.** Effects of rutin-fed caterpillars on an invertebrate predator depend on temperature. *Oecologia* 88: 289-295.
- Stamp, N.E. & C.M. Skrobola. 1993.** Failure to avoid rutin diets results in altered food utilization and reduced growth rate of *Manduca sexta* larvae. *Entomol. Exp. Applic.* 68: 127-142.
- Valicente, F.H., & R.J. O'Neil. 1995.** Effects of host plants and feeding regimes on selected life history characteristics of *Podisus maculiventris* (Say) (Heteroptera: Pentatomidae). *Biol. Control* 5: 449-461.
- Weiser, L.A. & N.E. Stamp. 1998.** Combined effects of allelochemicals, prey availability, and supplemental plant material on growth of a generalist insect predator. *Entomol. Exp. Applic.* 87, 181-189.
- Zanuncio, J.C., J.B. Alves, T.V. Zanuncio & J.F. Garcia. 1994.** Hemipterous predators of eucalypt defoliator caterpillars. *For. Ecol. Manag.* 65: 65-73.
- Zanuncio, J.C., A.J. Molina-Rugama, G.P. Santos & F.S. Ramalho. 2002.** Effect of body weight on fecundity and longevity of the stinkbug predator *Podisus rostralis*. *Pesq. Agropec. Bras.* 37: 1225-1230.

CONCLUSÕES GERAIS

1. Os genótipos PI 274454, PI 227687 e 'IAC-100' afetam a biologia e a fisiologia de *A. gemmatalis*, causam maior mortalidade, prolongam o ciclo larval, além de influenciarem negativamente o peso das lagartas, o peso de pupa e o crescimento dos insetos;
2. lagartas que consomem extratos da cultivar 'IAC-100' são menos eficientes na conversão do alimento ingerido e digerido em biomassa;
3. dos genótipos testados, PI 274454, PI 227687 e 'IAC-100' apresentam características de resistência mais acentuadas;
4. lagartas da população resistente ao vírus da poliedrose nuclear (VPNMAg) são mais afetadas quando se adiciona rutina à dieta, em comparação com lagartas da população suscetível; provavelmente devido ao custo metabólico que esses insetos são submetidos para manter o mecanismo de resistência frente ao seu VPN;
5. insetos da população resistente ao VPNMAg que se alimentam de dieta contendo rutina 0,65% são menos eficientes na conversão do alimento ingerido e digerido em biomassa e no acúmulo de lipídios;
6. a cultivar IAC-100 apresenta a maior concentração e porcentagem dos flavonóides genistina e rutina em comparação com os outros genótipos estudados;
7. a adição de extratos dos genótipos de soja, PI 274454 e PI 227687 e/ou rutina (0,65% e 1,30%) em dietas contendo diferentes concentrações de VPNMAg, é responsável pelo aumento de mortalidade e redução do peso de pupa em populações de *A. gemmatalis* suscetível e resistente ao vírus, ocorrendo predominância dos efeitos aditivos quando em interação com extratos dos genótipos e de efeitos aditivos e sinérgicos, quando em interação com as duas quantidades de rutina;
8. a rutina pode atenuar a resistência de populações de *A. gemmatalis* ao vírus da poliedrose nuclear, que eventualmente possa ocorrer em condições de campo;

9. o extrato da PI 274454, quando adicionado à dieta contendo diferentes concentrações de VPNMAg é responsável pela redução em aproximadamente 10 vezes na CL₅₀, em população de lagartas suscetíveis ao vírus; na população resistente ao VPNMAg, a concentração de 0,65% de rutina misturada ao VPNMAg é responsável por uma redução na CL₅₀ de aproximadamente 90 vezes;

10. a adição de 0,65% de rutina em dieta artificiais das presas (*A. gemmatalis*) é responsável por um aumento da mortalidade do predador *P. nigrispinus*, provavelmente devido ao mecanismo de resposta pós-ingestivo;

11. predadores que consomem lagartas, anteriormente alimentadas em dieta contendo 1,30% de rutina, possuem fase ninfal mais prolongada, consomem menos e apresentam menor crescimento e ganho de peso; e

12. o desenvolvimento reprodutivo do predador *P. nigrispinus*, geralmente, não é afetado quando rutina é adicionada à dieta das lagartas, embora alguns parâmetros de seu desenvolvimento ninfal sejam negativamente influenciados pelo flavonóide, sugerindo que associação desses fatores para o controle de *A. gemmatalis* pode ser viável.

Os resultados obtidos, nas condições em que foram realizados os experimentos, permitem sugerir que a utilização de cultivares de soja com característica de resistência a insetos-pragas, contendo rutina, em geral são compatíveis com os inimigos naturais testados neste estudo. Entretanto, trabalhos conduzidos tanto em laboratório como em campo, com gerações posteriores da população resistente ao VPNMAg, são recomendados para avaliar a eficiência agrônômica dessas estratégias visando, então, incluir esse tipo de informação em programas de manejo integrado de praga para o controle de *A. gemmatalis*.