

# NÍVEIS CONSTITUTIVOS DE COMPOSTOS FENÓLICOS PODEM ESTAR RELACIONADOS À RESISTÊNCIA DA CANA-DE-AÇÚCAR À CIGARRINHA-DAS-RAÍZES

Eduardo Rossini Guimarães\*  
Miguel Angelo Mutton\*\*  
Maria Inês Tiraboschi Ferro\*\*\*  
Jorge Alberto da Silva\*\*\*\*  
Márcia Justino Rossini Mutton\*\*\*\*\*

**RESUMO:** A interação da cigarrinha-das-raízes com a cana-de-açúcar é ainda pouco caracterizada e existem poucas informações sobre variedades resistentes. Os compostos fenólicos estão envolvidos em mecanismos de resistência do tipo antibiose, mas poucos trabalhos se dedicam ao estudo do papel desses compostos na interação das plantas com insetos sugadores. O trabalho foi conduzido para determinar como a cana-de-açúcar responde à infestação de *Mahanarva fimbriolata* em termos de acúmulo de compostos fenólicos. Um experimento foi instalado em condições controladas, em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 2 x 4, com 3 genótipos e cana-de-açúcar, 2 níveis de infestação de ninfas de *M. fimbriolata* e 4 épocas de amostragem, com 4 repetições. Os genótipos SP80-1816 e RB72454 apresentaram maiores níveis de fenóis totais quando submetidos à infestação da praga, mas a duração da fase ninfal e a mortalidade das cigarrinhas foram significativamente menores nessas variedades, indicando que o aumento na concentração de compostos fenólicos pode ter sido causado pela morte e apodrecimento das raízes. Não foi observada variação nos níveis de fenóis totais na variedade SP83-5073 submetida à infestação de *M. fimbriolata*. Entretanto, a mortalidade da cigarrinha-das-raízes e a duração da fase de ninfas foram significativamente maiores nesse genótipo, indicando a existência de resistência do tipo antibiose. Análises de correlação indicaram que maiores teores iniciais de compostos fenólicos resultam em mortalidade da praga e pode aumentar a duração da fase de ninfa.

---

\*Pesquisador da GAtec S/A Gestão Agroindustrial. E-mail: edrossini@gmail.com

\*\*Docente do Departamento de Produção Vegetal da Universidade Estadual de São Paulo - UNESP – FCAV. E-mail: miguel.mutton@fcav.unesp.br

\*\*\*Docente do Departamento de Tecnologia da Universidade Estadual de São Paulo - UNESP – FCAV. E-mail: mitferro@fcav.unesp.br

\*\*\*\*Docent of Department of Soils and Crop Science, Texas A&M University, USA. E-mail: jadasilva@ag.tamu.edu

\*\*\*\*\*Docente do Departamento de Tecnologia da Universidade Estadual de São Paulo - UNESP – FCAV. E-mail: mjrmut@fcav.unesp.br

**PALAVRAS-CHAVE:** Antibiose; Interação Planta-Praga; *Mahanarva fimbriolata*; *Saccharum* spp.

## CONSTITUENT LEVELS OF PHENOLIC COMPOUNDS MAY BE RELATED TO STRENGTH OF SUGAR CANE TO THE LEAFHOPPER-OF-ROOT

**ABSTRACT:** The interaction of the leafhopper-of-roots with the sugar cane is still poorly marked and there is little information on resistant varieties. The phenolic compounds are involved in resistance mechanisms of the antibiosis type, but few studies are devoted to the studying role of these compounds in the interaction of plants with sucking insects. The study was conducted to determine how the sugar cane responded to the infestation of *Mahanarva fimbriolata* in terms of accumulation of phenolic compounds. An experiment was carried out under controlled conditions in a randomized design in a factorial schedule 3 x 2 x 4, with 3 genotypes and sugar cane, 2 levels of nymphs infestation of *M. fimbriolata* and sampling 4 times, with 4 repetitions. The genotypes SP80-1816 and RB72454 showed higher levels of total phenols when subjected to an infestation of the pest, but the duration of the nymphal stage and mortality of sharpshooters were significantly lower in those varieties, indicating that the increase in the concentration of phenolic compounds may had been caused by death and decay of the roots. It was not observed variation in levels of total phenols in the variety SP83-5073 subject to an infestation of *M. fimbriolata*. However, the mortality of the leafhopper-of-roots and duration of the stage of nymphs were significantly higher in genotype, indicating the existence of resistance-type antibiosis. Analysis of correlation showed that higher initial levels of phenolic compounds resulting in mortality of the pest can increase the duration of the nymph stage.

**KEYWORDS:** Antibiosis; Plant-insect interactions; *Mahanarva fimbriolata*; *Saccharum* spp.

## INTRODUÇÃO

A colheita de cana-de-açúcar sem a queima prévia da palha tem crescido ano após ano no Brasil. A “cana crua” é geralmente colhida mecanicamente, e deixa uma camada de palha sobre o solo que favorece a ocorrência de algumas espécies de insetos-praga e plantas daninhas, ao passo que reduz drasticamente a ocorrência de outras, especialmente as fotoblásticas positivas.

A cigarrinha-das-raízes *Mahanarva fimbriolata* (Stål, 1854) (Hemiptera: Cercopidae) é um exemplo de praga que tem ganhado importância com o sistema de colheita sem queima prévia da palhada. As fêmeas adultas ovipositam sob o colchão de palha próximo à base dos colmos. Quando as ninfas eclodem de seus ovos, a camada de material orgânica as protege contra a desidratação e exposição direta à luz solar (GARCIA; BOTELHO; PARRA, 2006). As ninfas de *M. fimbriolata* alimentam-se principalmente do conteúdo xilêmico de raízes jovens e tenras (MENDONÇA; MENDONÇA, 2005). Como a seiva do xilema é pobre em energia e aminoácidos, grandes quantidades precisam ser sugadas para atender às necessidades nutricionais desses insetos (FEWKES, 1969).

A resistência de plantas a insetos-praga envolve muitos fatores e compostos que podem estar presentes no hospedeiro constitutivamente ou serem produzidos após a indução de uma resposta (NUTT; O'SHEA; ALLSOPP, 2004). Os compostos fenólicos constituem um grupo de metabólitos secundários que exerce papéis importantes nas plantas, como a proteção contra estresses ambientais (HAHLBROCK; SCHEEL, 1989). Em insetos-praga, esses compostos podem atuar como inibidores digestivos ou produtores de radicais livres (APPEL, 1993).

O ácido clorogênico, um derivado do ácido cinâmico, e a rutina, um glicosídeo-flavonóide, são modelos no estudo das defesas de plantas contra herbivoria devido às suas amplas ocorrências em vegetais superiores e à conhecida toxicidade para insetos-praga. A oxidação do ácido clorogênico produz quinonas que se ligam covalentemente às proteínas e, conseqüentemente, limitam sua disponibilidade como alimento (FRIEDMAN, 1997). Essa oxidação também pode resultar na produção de espécies reativas de oxigênio (radical superóxido e  $H_2O_2$ ), as quais danificam lipídios, proteínas e ácidos nucleicos (APPEL, 1993; SUMMERS; FELTON, 1994).

A caracterização dos tipos e quantidades de compostos fenólicos que são produzidos em resposta à infestação de insetos é importante para o conhecimento da interação planta-praga, além de ser de grande utilidade no desenvolvimento de novas estratégias de controle e em programas de melhoramento de plantas que buscam resistência genotípica.

A resposta fisiológica da cana-de-açúcar a *M. fimbriolata* é ainda pouco caracterizada. Neste trabalho determinamos como a cana-de-açúcar responde à infestação de ninfas de cigarrinha-das-raízes em termos de produção de compostos fenólicos em tecidos foliares e radiculares.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação localizada no Departamento de Tecnologia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, e durante sua realização a temperatura oscilou entre 22 e 33°C e a umidade relativa do ar foi mantida entre 50 e 60% por microaspiração automatizada. As variedades SP80-1816, RB72454 e

SP83-5073, que apresentam reações distintas à cigarrinha-das-raízes, foram plantadas em bandejas de isopor de 64 células (5 x 10 cm) contendo o substrato comercial Plantmax® HT (Eucatex). Para o plantio foram utilizados toletes de uma gema.

As plântulas foram transferidas para vasos com capacidade de 15 litros contendo solo de textura média, corrigido com calcário dolomítico e fertilizado de acordo com as recomendações do boletim 100 para cana-de-açúcar. O transplântio foi realizado aos 27 dias após o plantio. Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 3 x 2 x 4, sendo 3 genótipos de cana-de-açúcar, 2 níveis de infestação da praga (controle e 10 ninfas planta<sup>-1</sup>) e 4 épocas de amostragem. Quatro repetições experimentais foram utilizadas. Os dados foram submetidos à análise de variância e a comparação de médias foi realizada através do teste de Tukey (5% de probabilidade). Foram realizadas análises de correlação entre os níveis de compostos fenólicos e a mortalidade e duração da fase ninfal de *M. fimbriolata*.

## 2.1 CRIAÇÃO DE INSETOS E INFESTAÇÃO

Os vasos foram cobertos com 65 gramas de pontas e folhas de cana-de-açúcar picadas e secadas ao sol por 48h (70-80% de massa seca, correspondentes a 9 t ha<sup>-1</sup>), com o objetivo de manter as condições de umidade e temperatura do solo, simulando a cobertura de palha que ocorre no campo. A cobertura foi realizada 17 dias antes da infestação de ninfas de *M. fimbriolata*.

As ninfas do inseto foram produzidas no Laboratório de Tricograma do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da Esalq-USP como descrito por Garcia, Botelho e Parra (2006). A infestação foi realizada quando as ninfas atingiram os 21 dias de idade, utilizando-se pincéis n.º 4, aos 94 dias após o plantio de cana-de-açúcar, no nível de 10 ninfas por planta, além do controle não infestado. Juntamente com as ninfas transferiu-se também a espuma, em abundância, para efeito de proteção dos insetos.

Para evitar o efeito dos adultos, que são sugadores de folhas e poderiam se acasalar e realizar oviposições ao acaso, os vasos foram cobertos com tela de náilon imediatamente após a infestação. Através de monitoramento diário, os adultos encontrados eram registrados e instantaneamente mortos.

## 2.2 EXTRAÇÃO E ANÁLISE DE COMPOSTOS FENÓLICOS

Amostras de raízes jovens ( $\pm 10$  g) foram cuidadosamente lavadas, secadas com papel toalha e mantidas congeladas em nitrogênio líquido até as análises. Subamostras (4 g) foram picadas em pedaços de aproximadamente 50 mm e agitadas em 30 mL de metanol acidificado (1% HCl) por 12h a 4°C. O extrato foi filtrado em papel

Whatman # 42 e diluído 15 x. A análise de compostos fenólicos totais foi realizada conforme descrito por Silva e colaboradores (2005).

### 2.3 DURAÇÃO DA FASE NINFAL E TAXA DE MORTALIDADE

A presença de adultos na tela de náilon foi monitorada diariamente. Sempre que encontrados, a quantidade e o número de dias após a infestação eram registrados. A duração da fase ninfal foi determinada através de média ponderada pelo número de adultos, conforme a fórmula:

m que:

$$\frac{(Y_{na} \times Z_n) + (Y_{na} \times Z_{n+1}) + (Y_{na} \times Z_{n+2}) + \dots + (Y_{na} \times Z_{n+n})}{\text{Número de adultos}}$$

$Y_{na}$  = Número de adultos encontrados no dia

$Z_n \dots n+n$  = Número de dias após a infestação (DAI) + 21 (idade das ninfas no momento da infestação)

Para a determinação da taxa de mortalidade (TM), a cobertura de palha foi removida e o número de ninfas contado nas amostragens de raízes. O número de adultos encontrados no monitoramento diário foi adicionado ao número de ninfas, e a taxa de mortalidade (%) foi obtida através da fórmula:

em que:

$$TM (\%) = 1 - \left( \frac{NN + NA}{10 \text{ ninfas}} \right) \times 100$$

TM (%) = Taxa de mortalidade

NN = Número de ninfas

NA = Número de adultos

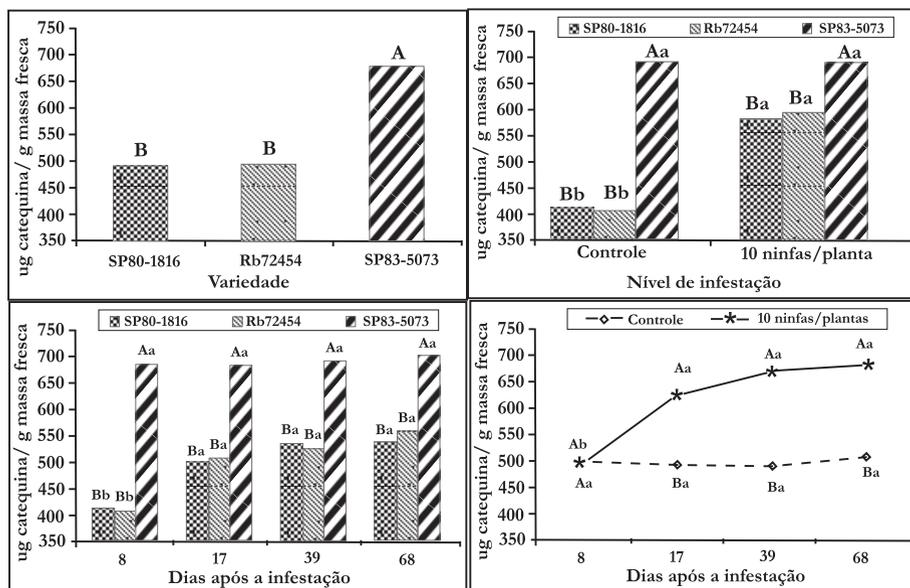
### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As variedades SP80-1816 e RB72454 acumularam compostos fenólicos em resposta à infestação de cigarrinhas (Figura 1B). A taxa de mortalidade e a duração da fase ninfal foram significativamente menores nesses genótipos, confirmando sua susceptibilidade à cigarrinha (Figura 2).

Os níveis constitutivos desses compostos foram maiores na variedade SP83-5073, porém não houve efeito da infestação da praga no teor de fenóis nessa variedade (Figuras 1A, 1B).

Silva e colaboradores (2005) mostraram que níveis mais elevados de fenóis parecem estar envolvidos com alguma tolerância da variedade SP86-42 a *M. fimbriolata*, porém estes autores não apresentam dados de biologia do inseto para sustentar a hipótese. Na presente pesquisa, a taxa de mortalidade e a duração da fase ninfal foram significativamente mais altas na variedade SP83-5073, indicando a possibilidade do envolvimento de um mecanismo de resistência do tipo antibiose (Figura 2).

Estudos anteriores demonstraram que há diferenças nos teores e nos tipos de compostos fenólicos em genótipos de cana-de-açúcar resistentes e suscetíveis a um coleóptero-praga de raízes (NUTT; O'SHEA; ALLSOPP, 2004). No presente estudo, as variedades SP80-1816 e RB72454 mostraram acumular fenóis nas raízes quando atacadas por ninfas de *M. fimbriolata*. Por serem suscetíveis, é possível que o próprio dano causado pela praga tenha sido responsável pela produção de fenóis das raízes. Durante a morte celular, o conteúdo do vacúolo, rico em compostos fenólicos e proteinases, é liberado. À medida que as proteinases desdobram outras proteínas, são liberados aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano), os quais têm peso sobre o teor de fenóis (BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2000).

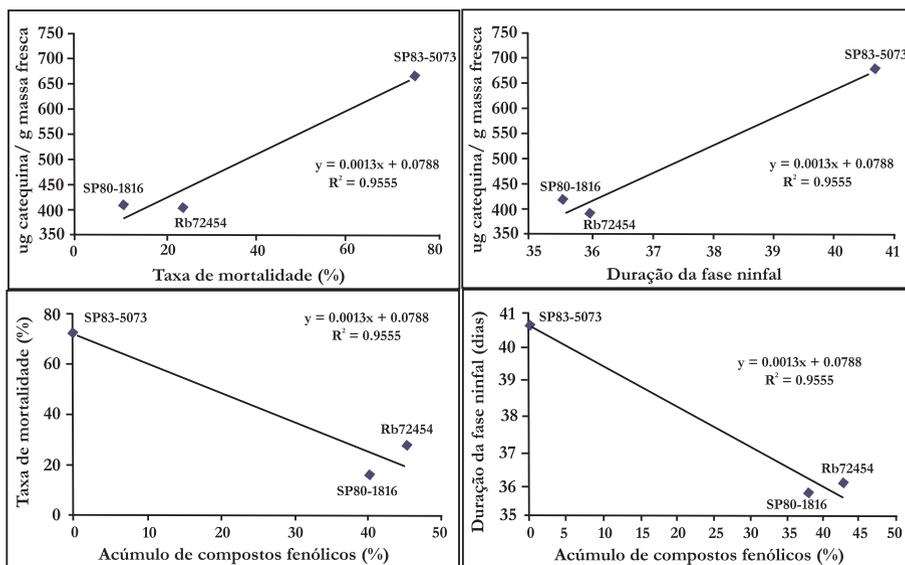


**Figura 1.** Médias dos teores de compostos fenólicos totais nos diferentes tratamentos.

Letras maiúsculas comparam médias dentro de tratamentos e letras minúsculas comparam médias entre tratamentos.

Existem também relatos de que plantas que acumulam maiores teores de fenol favorecem o desenvolvimento de pragas (GHUMARE; MUKHERJEE, 2003;

BENINGER et al., 2004). No presente estudo foram encontrados mais sintomas de estresse nas variedades suscetíveis, que também acumularam maiores quantidades de compostos fenólicos. As larvas de um lepidóptero desenvolveram-se melhor em ramos intactos de plantas previamente atacadas de *Betula pubescens*, indicando uma suscetibilidade sistêmica induzida (LEMPA et al., 2004).



**Figura 2.** Correlações entre os teores de compostos fenólicos totais, taxa de mortalidade e duração da fase ninfal da cigarrinha-das-raízes.

Kudo (2003) relatou menor susceptibilidade à herbivoria em *Salix miyabeana* com teores constitutivamente elevados de compostos fenólicos. Correlações significativas foram encontradas entre a rigidez de folhas e a concentração de fenóis, explicando em parte a maior tolerância de genótipos com elevadas concentrações desses compostos. Essa correlação não foi estudada em raízes de cana-de-açúcar, porém é possível que a morfologia das raízes tenha influência na reação das variedades dessa planta à cigarrinha-das-raízes, independentemente de sua relação com o teor de compostos fenólicos.

A cigarrinha *Philaenus spumarius*, assim como a *M. fimbriolata*, alimenta-se principalmente da seiva xilemática. A saliva secretada por essa espécie forma uma estrutura envolvente entre o estilete e o tecido vegetal, a qual contém compostos derivados de tanino e outros fenilpropanóides (CREWS et al., 1998). É possível que fenóis oriundos do tanino tenham algum peso nos níveis superiores desses compostos observados nas variedades SP80-1816 e RB72454 sob infestação de cigarrinhas, o que reforça a hipótese de que o acúmulo de fenóis nesses genótipos susceptíveis esteja mais relacionado à alimentação das ninfas do que a um mecanismo de defesa à base de fenóis.

## 4 CONCLUSÕES

O acúmulo de compostos fenólicos nas variedades SP80-1816 e RB72454 quando infestadas com *M. fimbriolata* pode estar relacionado à morte e decomposição de tecidos das raízes atacadas pelos insetos. A taxa de mortalidade relativamente baixa e a duração da fase ninfal nesses genótipos confirmam sua susceptibilidade à cigarrinha-das-raízes.

Os níveis de compostos fenólicos constitutivamente altos na variedade SP83-5073 podem estar envolvidos num mecanismo de resistência do tipo antibiose, resultando em maior mortalidade e duração da fase ninfal.

Novas investigações podem confirmar a resistência da variedade SP83-5073 às cigarrinhas e determinar o papel dos compostos fenólicos na interação dessa praga com a cana-de-açúcar.

O teor de compostos fenólicos totais não é um parâmetro preciso para identificar a resistência genotípica de cana-de-açúcar à cigarrinha-das-raízes.

## AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo a Pesquisa de São Paulo (processo 2005/03333-4) e Syngenta Proteção de Cultivos Ltda., pelo apoio financeiro para a condução dos experimentos. À Capes, pela bolsa de doutoramento e 'Sandwich' (processo 272905-9).

## REFERÊNCIAS

APPEL, H. M. Phenolics in ecological interactions: the importance of oxidation. **Journal of Chemical Ecology**, v. 19, p. 1521-1552, 1993.

BENINGER, C. W. et al. A flavanone and two phenolic acids from *Chrysanthemum morifolium* with phytotoxic and insect growth regulating activity. **Journal of Chemical Ecology**, v. 30, p. 589-606, 2004.

BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. **Biochemistry and molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000.

CREWS, L. J. et al. Xylem feeding by spittlebug nymphs: some observations by optical and cryo-scanning electron microscopy. **American Journal of Botany**, v. 85, n. 4, p. 449-460, 1998.

FEWKES, D. W. The biology of sugar cane froghoppers. In: WILLIAMS, J. R. et al. (Ed.) **Pests of sugar cane**. Amsterdam: Elsevier Publishing, 1969. p. 281-307.

FRIEDMAN, M. Chemistry, biochemistry, and dietary role of potato polyphenols. A review. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 45, p. 1523–1540, 1997.

GARCIA, J. F.; BOTELHO, P. S. M.; PARRA, J. R. P. Biology and fertility life table of *Mahanarva fimbriolata* (Stål) (Hemiptera: Cercopidae) in sugarcane. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 63, n. 4, 2006.

GHUMARE, S. S.; MUKHERJEE, S. N. Performance of *Spodoptera litura* Fabricius on different host plants: influence of nitrogen and total phenolics of plants and mid-gut esterase activity of the insect. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 41, p. 895-899, 2003.

HAHLBROCK, K.; SCHEEL, D. Physiology and molecular biology of phenylpropanoid metabolism. **Annual Review in Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 40, p. 347-369, 1989.

KUDO, G. Variations in leaf traits and susceptibility to insect herbivory within a *Salix miyabeana* population under field conditions. **Plant Ecology**, v. 169, n. 1, 2003.

LEMPA, K. et al. Rapid herbivore-induced changes in mountain birch phenolics and nutritive compounds and their effects on performance of the major defoliator *Epiphyra autumnata*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 320, p. 303-321, 2004.

MENDONÇA, A. F.; MENDONÇA, I. C. B. R. Cigarrinha da raiz *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae). In: MENDONÇA, A. F. (Ed.) **Cigarrinhas da cana-de-açúcar**. Controle biológico. Maceió: Insecta, 2005. Cap. 3. p. 95-200.

NUTI, K. A.; O'SHEA, M. G.; ALLSOPP, P. G. Feeding by sugarcane whitegrubs induces changes in the types and amounts of phenolics in the roots of sugarcane. **Environmental and Experimental Botany**, v. 51, p. 155–165, 2004.

SILVA, R. J. N. et al. Infestation of frog hopper nymphs changes the amounts of total phenolics in sugarcane. **Scientia Agrícola**, v. 62, n. 6, p. 543-546, 2005.

SUMMERS, C. B.; FELTON, G. W. Prooxidant effects of phenolic acids on the generalist herbivore *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae): potential mode of action for phenolic compounds in plant anti-herbivore chemistry. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 24, p. 943-953, 1994.