

**LÍLIAN FERNANDES MOREIRA**

**PREFERÊNCIA E PERFORMANCE DE *Plutella xylostella* EM  
RELAÇÃO ÀS CARACTERÍSTICAS BROMATOLÓGICAS E  
IDADE FOLIAR DE BRASSICÁCEAS**

Tese apresentada à Universidade  
Federal de Viçosa, como parte das  
exigências do Programa de Pós-  
Graduação em Bioquímica Agrícola,  
para obtenção do título de *Doctor  
Scientiae*.

**VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2011**

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

M838p  
2011

Moreira, Lílian Fernandes, 1979-

Preferência e performance de *Plutella xylostella* em relação às características bromatológicas e idade foliar de brassicáceas / Lílian Fernandes Moreira. – Viçosa, MG, 2011.  
xv, 61f. : il. ; 29cm.

Orientador: Maria Goreti de Almeida Oliveira.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 50-61

1. Relação inseto-planta. 2. Crucíferas. 3. Alimentos - Qualidade. 4. Folhas. 5. Plantas - Idade. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 632.3

**LÍLIAN FERNANDES MOREIRA**

**PREFERÊNCIA E PERFORMANCE DE *Plutella xylostella* EM  
RELAÇÃO ÀS CARACTERÍSTICAS BROMATOLÓGICAS E  
IDADE FOLIAR DE BRASSICÁCEAS**

Tese apresentada à Universidade  
Federal de Viçosa, como parte das  
exigências do Programa de Pós-  
Graduação em Bioquímica Agrícola,  
para obtenção do título de *Doctor  
Scientiae*.

**APROVADA: 17 de novembro de 2011.**

---

**Camila Rocha da Silva**

---

**Anderson Martins Pilon**

---

**Liliane Evangelista Visôto**

---

**Rogério Martins Maurício**

---

**Wellington Garcia Campos**  
(Presidente da banca)

*À minha mãe, Adair:  
'Força que nunca seca!'*

*Dedico*

*Aos meus irmãos de sangue, Líliane e Lesley,  
e de alma, Edinei e Vanessa.*

*Ofereço*

*“Minha mãe achava estudo  
a coisa mais fina do mundo.*

*Não é.*

*A coisa mais fina do mundo é o sentimento.*

*Aquele dia de noite, o pai fazendo serão,  
ela falou comigo:*

*“Coitado, até essa hora no serviço pesado”.*

*Arrumou pão e café , deixou tacho no fogo com água quente.*

*Não me falou em amor.*

*Essa palavra de luxo.”*

*Adélia Prado*

## **Agradecimentos**

À Universidade Federal de Viçosa pela oportunidade de realização do curso;

À Universidade Federal de São João del-Rei pelas condições oferecidas para condução dos trabalhos de laboratório;

Ao Prof. Wellington Garcia Campos pelo acolhimento, amizade, confiança e orientação recebida;

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro recebido durante o meu período de treinamento;

À Comissão Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Maria Goreti de Almeida Oliveira, Prof. Wellington Garcia Campos, Prof. Raul Narciso Carvalho Guedes, pela confiança, incentivo, orientação, apoio e amizade;

Ao querido Eduardo Monteiro, Secretário do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, pela disponibilidade, eficiência e gentileza;

Ao Prof. Rogério Martins Maurício por permitir o uso irrestrito de seu laboratório e equipamentos;

Aos amigos Gilson Paixão e Natália Teixeira pela paciência, cuidado e auxílio no decorrer do trabalho;

Aos membros da banca: Profa. Dr<sup>a</sup>. Liliane Evangelista Visôto e Prof. Dr. Rogério Martins Maurício e aos Pesquisadores, Dr. Anderson Martins Pilon e Dr<sup>a</sup>. Camila Rocha da Silva, por terem prontamente aceito o convite para participarem da defesa desta Tese.

A todos que, de alguma forma, estiveram presentes em todas as etapas desta caminhada.

## **Biografia**

Lílian Fernandes Moreira, filha de José Asterak Moreira e Adair da Costa Fernandes Moreira, nasceu em São João del-Rei – MG, em 29 de Junho de 1979.

Em março de 2000, iniciou o curso de Licenciatura em Química pela Universidade Federal de São João del-Rei – UFSJ. Foi bolsista de iniciação científica pela FAPEMIG, realizando trabalhos em ecologia da interação inseto-planta sob orientação do Prof. Wellington Garcia Campos.

Em agosto de 2005 ingressou no mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Entomologia pela Universidade Federal de Viçosa – UFV, sob a orientação da Prof<sup>ª</sup>. Maria Goreti de Almeida Oliveira, submetendo-se à defesa da Dissertação em 28 de Julho de 2007.

Em Agosto de 2007, ingressou no Doutorado no Programa de Pós-graduação em Bioquímica Agrícola da UFV, também sob orientação da Prof<sup>ª</sup>. Maria Goreti, submetendo-se à defesa da Tese em Agosto de 2011.

## Sumário

Lista de figuras.....	viii
Lista de tabelas.....	ix
Lista de siglas e abreviaturas.....	x
Resumo.....	xii
Abstract.....	xiv
1. Introdução.....	1
2. Revisão de Literatura.....	4
2.1. A família Brassicacea.....	4
2.2. <i>Plutella xylostella</i> Linnaeus (Lepidoptera: Plutellidae).....	6
2.3. Glicosinolatos.....	10
3. Material e Métodos.....	14
3.1. Coleta das plantas.....	14
3.2. Criação dos insetos.....	14
3.3. Performance.....	15
3.3. Preferência.....	17
3.4.1. Preferência alimentar larval.....	17
3.4.2. Preferência de oviposição.....	18
3.5. Qualidade nutricional das folhas.....	19
3.5.1. Análises Bromatológicas.....	19
3.5.1.1. Coleta e secagem das folhas.....	19
3.5.1.2. Matéria seca.....	20
3.5.1.3. Fibra em detergente neutro (FDN).....	20
3.5.1.4. Fibra em detergente ácido (FDA).....	21
3.5.1.5. Proteína total.....	22
3.5.1.6. Proteína ligada à fibra.....	22
3.5.1.7. Extrato etéreo.....	23
3.5.1.8. Matéria mineral.....	23
3.5.1.9. Carboidratos totais.....	24
3.6. Análises Estatísticas.....	24
4. Resultados.....	25
4.1. Performance .....	25

4.2. Preferência alimentar larval e de oviposição.....	30
4.3. Qualidade nutricional das folhas.....	33
45 Discussão.....	42
6. Conclusão.....	49
7. Referências Bibliográficas.....	50

## Lista de figuras

	Página
Preferência e Performance	
1. Sobrevivência de larvas de primeiro instar .....	25
2. Sobrevivência da fase imatura.....	26
3. Duração da fase larval.....	27
4. Fecundidade.....	28
5. Sucesso reprodutivo ( $R_o$ ).....	29
6. Potencial de crescimento populacional (taxa r).....	30
7. Escolha de larvas de segundo instar.....	32
8. Preferência de oviposição de mariposas de <i>P. xylostella</i> .....	33
Qualidade da planta	
9. Teor de proteína total.....	34
10. Teor de proteína indisponível ligada às fibras.....	35
11. Conteúdo de fibra em detergente neutro (FDN).....	36
12. Teor de hemicelulose.....	38
13. Teor de matéria mineral.....	39
14. Teor de extrato etéreo.....	40
15. Conteúdo de carboidratos totais.....	41

## Lista de tabelas

	Página
1. Análise de variância da escolha de larvas de segundo e quarto instares de <i>P. xylostella</i> por fragmentos de folhas.....	31
2. Análise de variância para o conteúdo de fibra em detergente ácido (FDA) das folhas das três classes etárias das brássicas.....	37

## Lista de siglas e abreviaturas

ANOVA:	análise de variância
AOAC:	Association of Official Analytical Chemists
<i>B.</i> :	<i>Brassica</i>
°C:	graus Celsius
C:	claro (fotoperíodo)
C:	Carbono
Ca:	Cálcio
Cm:	Centímetros
cm <sup>2</sup> :	centímetros quadrados
Cu <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> :	sulfato de cobre
DDT:	dicloro-difenil-tricloroetano
DEPEB:	Departamento de Engenharia de Biosistemas
E:	escuro (fotoperíodo)
F:	fator de correção da normalidade
F:	teste F da ANOVA
FDA:	fibra em detergente ácido
FDN:	fibra em detergente neutro
g:	Gramma
G:	tempo de geração
h:	Hora
HCl:	ácido clorídrico
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> :	ácido sulfúrico
K:	Potássio
Kg:	Quilograma
<i>L.</i> :	<i>Linnaeus</i>
L:	Litro
Mg:	Magnésio
mL:	Microlitro
Mm:	Milímetro
mμ:	Micrômetro
MS:	matéria seca

n:	Número
N:	Normalidade
Na:	Sódio
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> :	sulfato de sódio
P:	P <i>value</i> (probabilidade estimada)
P:	Fósforo
P.A.:	(reagente) padrão analítico
<i>P. xylostella</i> :	<i>Plutella xylostella</i>
R:	taxa intrínseca de crescimento populacional
R <sub>0</sub> :	taxa reprodutiva líquida
<i>T. ni</i> :	<i>Trichoplusia ni</i>
TNT	tecido não-tecido
UFSJ:	Universidade Federal de São João del-Rei
%v/v:	concentração em % de volume
%:	Porcentagem
Φ:	Diâmetro

## RESUMO

MOREIRA, Lílian Fernandes, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, novembro de 2011. **Preferência e performance de *Plutella xylostella* em relação às características bromatológicas e idade foliar de brassicáceas.** Orientadora: Maria Goreti de Almeida Oliveira. Coorientadores: Joel Antônio de Oliveira, Raul Narciso Carvalho Guedes, Thiago Rennó dos Mares Guia e Wellington Garcia Campos.

Características físicas e químicas das plantas hospedeiras podem modular a história de vida e a abundância de insetos herbívoros, pois as defesas qualitativas, quantitativas e o conteúdo nutricional variam com o desenvolvimento da planta. Embora plantas e folhas mais jovens apresentem maiores concentrações de compostos químicos de defesa, insetos especialistas apresentam preferência alimentar por esses tecidos vegetais, pois estes são mais ricos em compostos nitrogenados, água e nutrientes. *Plutella xylostella*, também chamada de traça das crucíferas, é um inseto cosmopolita, especialista em plantas da família Brassicaceae que se caracterizam por apresentar os glicosinolatos como metabólito secundário de defesa. Nesse sentido, os objetivos desse trabalho foram avaliar: (i) se o envelhecimento foliar afeta a performance e a preferência alimentar e de oviposição de *P. xylostella*; (ii) quais as características químicas da planta variam com seu envelhecimento e afetam o desenvolvimento do inseto. Para esse fim, *P. xylostella*, foi alimentada com folhas de três classes etárias (novas, maduras e senescentes) de quatro espécies de brássicas: couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*), couve-flor (*B. oleracea* var. *botrytis*), mostarda (*B. juncea*) e rabanete (*Raphanus sativus*). Todos os parâmetros avaliados da história de vida do inseto foram afetados pelo envelhecimento foliar das plantas hospedeiras. Foi verificada redução no percentual de sobrevivência das larvas de primeiro instar e da fase imatura, aumento da duração da fase larval, redução no sucesso reprodutivo e no potencial de crescimento

populacional. Os valores encontrados para fecundidade diferiram estatisticamente para mostarda e rabanete, e decresceram com o envelhecimento foliar. Não houve diferença significativa para couve e couve-flor. Em testes de múltipla escolha, larvas de segundo instar preferiram se alimentar em folhas novas. Por outro lado, mariposas adultas não apresentaram o mesmo padrão para oviposição. Em couve e couve-flor, as mariposas depositaram seus ovos nas folhas de pior qualidade e, em mostarda e rabanete, estas apresentaram resposta oposta, ovipositando em folhas de melhor qualidade. Quanto às características químicas das plantas, observou-se que as concentrações de proteína total e de proteína indisponível diminuíram com o envelhecimento foliar. O conteúdo de fibra em detergente neutro, hemicelulose, matéria mineral e carboidratos totais foram diretamente proporcionais à idade das folhas. O envelhecimento foliar afetou negativamente a performance de *P. xylostella* podendo estar correlacionado à escolha das lagartas de primeiro instar e à qualidade das plantas. Contudo, não há uma correlação geral entre envelhecimento foliar e preferência de oviposição, o que poderia ser explicado por fatores adicionais, como microclima ou locais livres do ataque de inimigos naturais.

## ABSTRACT

MOREIRA, LÍlian Fernandes, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, november of 2011. **Preference and performance of *Plutella xylostella* in relation to bromatologic characteristics and leaf age of brassicaceaes.** Adviser: Maria Goreti de Almeida Oliveira. Co-advisers: Joel Antônio de Oliveira, Raul Narciso Carvalho Guedes, Thiago Rennó dos Mares Guia and Wellington Garcia Campos.

Physical and chemical characteristics of host plants can modulate the life history and the abundance of herbivorous insects, because the qualitative and quantitative defenses and the nutritional content vary with the plant development. Although plants and newer leaves showing higher concentrations of defensive chemical compounds, specialist insects showing feed preference by these vegetal tissues, rich in nitrogen compounds, water and nutrients. *Plutella xylostella*, also known as diamondback moth, is a cosmopolitan insect, specialist in plants of the Brassicaceae family, which characterized itself by show glucosinolates as secondary metabolite of defense. By the way, the subjects of this work were to evaluate: (i) if the leaf ageing affects the performance, the food and oviposition preference of *P. xylostella*; (ii) what chemical characteristics of the plant varying with your ageing and affects the insect development. For this purpose, *P. xylostella* were fed with leaves of three age categories (young, mature and senescent) of four *Brassica* species: collard (*Brassica oleracea* var. *acephala*), cauliflower (*B. oleracea* var. *botrytis*), mustard (*B. juncea*) and radish (*Raphanus sativus*). All the parameters evaluated of insect life history were affected by the leaf ageing of host plants. Were verified a decrease in percentage of survival of first instar larval and the mature phase, increase in the duration of larval phase, decrease of reproductive success and the potential population growth. The values founded for fecundity were statistically different for mustard and radish, and decreasing with the leaf ageing. There were no significantly

difference for collard and cauliflower. In multiple choice tests, larvae of second instar preferred fed in young leaves. However, adult moths didn't show the same pattern for oviposition. In collard and cauliflower, moths oviposited in leaves of worse quality and, in mustard and radish, the response were opposite with the females laying eggs in leaves of better quality. In regard to chemical characteristics of plants, was observed that the crude and unavailable protein decreasing with the leaf ageing. The content of neutral detergent fiber, hemicellulose, mineral matter and total carbohydrates were positively correlated to the leaf age. The leaf ageing affected negatively the performance of *P. xylostella* can be correlated to choice of first instar larvae and the plant quality. However, there was no general correlation between leaf ageing and oviposition preference that will be explained by additional factors, as microclimate or places without attack of natural enemies.

## .....*Introdução*

Insetos herbívoros são usualmente mais abundantes durante a fase vegetativa (da germinação à maturação) de desenvolvimento de suas plantas hospedeiras ou folhas de idade particular (Raupp e Denno, 1983; Spiegel e Price, 1996; Waltz e Whitham, 1997; Facknath, 2005). Tais padrões de ataque podem ser parcialmente explicados pelos níveis tróficos inferiores que sofrem mudanças químicas e morfológicas durante a maturação e a senescência da planta, exercendo um controle ascendente sobre as populações de herbívoros (Kearsley e Whitham, 1987; Waltz e Whitham, 1997; Karban e Thaler, 1999). De fato, aspectos da história de vida dos insetos, tais como o consumo alimentar, a sobrevivência e a velocidade de desenvolvimento, são afetados pela qualidade do alimento ingerido durante o envelhecimento da planta ou das folhas (Campos et al., 2003; 2004; Facknath, 2005).

Tecidos novos de plantas são ricos em água, nitrogênio e outros nutrientes, embora eles, usualmente contenham maiores quantidades de compostos secundários tóxicos. Durante a maturação e senescência, defesas tóxicas, as quais são efetivas mesmo em pequenas concentrações (defesas qualitativas), são reduzidas ou não são produzidas. Contudo, o decréscimo de toxinas pode ser compensado pelas defesas quantitativas, tais como: i) aumento dos redutores de digestibilidade (fibras e inibidores de proteases), ii) aumento dos compostos de baixo valor nutricional, iii) redução da quantidade de água e iv) redução da disponibilidade de nutrientes, especialmente nitrogênio e minerais (McKey, 1974; Fenny, 1976; Rhoades e Cates, 1976; Coley, 1980; Mattson, 1980; Raup e Denno, 1983; Clancy et al., 1988; Bernays e Chapman, 1994; Iwasa e Kubo, 1996; Scheirs et al., 2002; Lambdon et al., 2003). Portanto, espera-se que a composição nutricional e defensiva da folha

dependa da idade da própria folha em particular e também da idade da planta como um todo.

Os metabólitos secundários empregados na defesa, em brássicas, apresentam variação na sua concentração em função do estágio de desenvolvimento ontogenético e de partes específicas da planta (Rangkadilok et al., 2002; Brown et al., 2003; Halkier et al., 2006). Por exemplo, plantas na fase vegetativa têm uma maior concentração de glicosinolatos nas raízes do que nas folhas. Folhas jovens, por sua vez, apresentam concentrações mais elevadas de glicosinolatos que folhas mais velhas. Em brássicas, as maiores concentrações de glicosinolatos são encontradas em sementes e flores (van Dam et al., 2005; van Leur et al., 2006; Smallegange et al., 2007). A concentração de glicosinolatos nas folhas novas de plantas maduras é maior que em folhas novas de plantas jovens (Brown et al., 2003), provavelmente porque as defesas tóxicas podem ser realocadas de tecidos senescentes para tecidos jovens, os quais são mais valiosos para a planta (McKey, 1974; Iwasa e Kubo, 1996). Desse modo, folhas novas são mais bem protegidas por toxinas que a folhagem madura e senescente (Lambdon et al., 2003) e essa diferença parece aumentar durante o desenvolvimento da planta (Brown et al., 2003).

A hipótese do envelhecimento foliar prediz que insetos herbívoros monófagos e oligófagos (especialistas) preferem e se desenvolvem melhor em plantas ou folhas jovens do que em plantas ou folhas mais velhas (Karban, 1990; Scheirs et al., 2002; Campos et al., 2003). Apesar de novos tecidos conterem maiores concentrações de metabólitos secundários tóxicos, herbívoros especialistas seriam capazes de driblar tais barreiras químicas e assim ter acesso a um alimento de melhor qualidade nutricional (Fenny, 1976; Rhoades e Cates, 1976). Como consequência, insetos

herbívoros deveriam ter o desenvolvimento acelerado e um aumento na sobrevivência e na fecundidade quando alimentados de folhas novas.

Na maioria dos insetos, as fêmeas adultas selecionam a planta hospedeira para ovipositar e garantir o melhor local para deixar os seus ovos, o que é fundamental para assegurar a sobrevivência das larvas. Em tais casos, há uma correlação positiva entre a preferência da mãe e a performance da prole (Courtney e Kibota, 1990; Thompson e Pellmyr, 1991; Mayhew, 1997).

Nesse contexto, o presente trabalho objetivou responder às seguintes questões: (i) O envelhecimento foliar das plantas hospedeiras afeta negativamente a performance, a preferência alimentar da prole imatura, bem como a preferência de oviposição das fêmeas adultas? (ii) Há uma diminuição na qualidade nutricional associada ao envelhecimento foliar, com a qual estão relacionadas as respostas do inseto?

## **2.1. A família brassicaceae**

A família Brassicaceae (ou Cruciferae), também conhecida como família do repolho ou da mostarda é uma grande família botânica pertencente à ordem Brassicales. É reconhecida por possuir grande importância econômica, nutricional, social e nutracêutica. Compreende 338 gêneros e 3709 espécies nativas da região do mediterrâneo e cultivadas em todo o mundo (Fahey et al., 2001), consistindo de importantes cultivos agrícolas na China, Índia, Japão e Europa. No Brasil, ocorrem sete gêneros e cerca de 50 espécies (Souza e Lorenzi, 2005). A família Brassicaceae é subdividida em onze tribos. As principais plantas de importância econômica pertencem às tribos Brassiceae, Lepideae e Arabideae. Na tribo Brassiceae são encontrados os gêneros *Brassica*, *Raphanus*, *Sinapsis*, *Diplotaxis*, *Cramble*, *Rapistrum*, *Cakile*, *Morisia*, *Eruca*, *Thlaspi* e *Moricandia*. As brassicáceas podem ser distinguidas de outras angiospermas por apresentarem uma corola cruciforme, seis estames (sendo os dois mais externos menores que os quatro mais internos), e uma cápsula com um septo, frequentemente contendo seiva aquosa de odor pungente (Franzke et al., 2011).

Uma mesma espécie pode ser utilizada de diversas maneiras. O gênero *Brassica* é o mais importante da família Brassicaceae e é classificado em oleaginosas, forrageiras, condimentos e hortaliças conforme a utilização dos brotos, inflorescências, raízes, sementes, caules e folhas (Cartea et al., 2011).

O gênero *Brassica* inclui algumas espécies de importância econômica tais como repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*), couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*), couve-flor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), couve-de-bruxelas (*Brassica oleracea* var. *gemmifera*), brócolis (*Brassica oleracea* var. *italica*), mostarda negra (*Brassica*

*nigra*), mostarda oriental (*Brassica juncea*), mostarda etíope (*Brassica carinata*), nabo (*Brassica rapa*) e canola (*Brassica napus*), couve-chinesa (*Brassica rapa* var. *pekinensis*). Outras crucíferas de importância agrícola da família Brassicaceae incluem o rabanete (*Raphanus sativus*), o agrião (*Rorippa nasturtium-aquaticum*), a mostarda branca (*Sinapis spp.*) e a rúcula (*Eruca sativa*), (Filgueira, 2006; Cogbill, 2010; Musgrave, 2000).

As brassicáceas também incluem plantas ornamentais, medicinais e invasoras. As ornamentais são representadas pelo aleli (*Erysimum cheiri*), o ‘candytuft’ (*Iberis umbellata*), o alisso (*Lobularia marítima*), o ‘night-scented stock’ (*Matthiola longipetala*), o mussambê (*Cleome hassleriana*). Entre as plantas medicinais e as daninhas podem ser citados o mastruço-do-brasil (*Coronopus didymus*), o mastruço-bravo (*Lepidium pseudodydima*) o mastruço bravo-maior (*Lepidium ruderales*), o mastruço ordinário ou agrião de jardim (*Lepidium sativum*), as mostardas-do-campo (*Brassica rapa*, *Rapistrum rugosum* e *Sinapis arvensis*), a bolsa-de-pastor (*Capsella bursa-pastoris*), o agrião-bravo (*Cardamine bonariensis*) (Lorenzi, 2000). *Arabidopsis thaliana* é uma planta herbácea da família Brassicaceae utilizada nos estudos de investigação genética e biologia molecular. Foi a primeira planta cujo genoma foi seqüenciado (The Arabidopsis Genome Initiative, 2000; Boivin et al., 2004).

A popularização e o aumento do consumo dos vegetais da família Brassicaceae se devem, em grande parte, ao reconhecimento do seu valor nutricional e das suas propriedades fitoquímicas asseguradas pela atividade dos metabólitos secundários. As crucíferas atuam como uma fonte de antioxidantes naturais devido aos elevados níveis de carotenóides, tocoferóis, ácido ascórbico, compostos fenólicos e glicosinolatos que podem ajudar a proteger o corpo humano contra espécies de

oxigênio reativas e aos seus efeitos na redução do risco de doenças crônicas, como câncer e problemas cardiovasculares (Podsdek, 2007; Hayes et al., 2008; Jahangir et al., 2009).

## **2.2. *Plutella xylostella* Linnaeus (Lepidoptera: Plutellidae)**

*Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), vulgarmente conhecida por traça-das-crucíferas é a praga mais conhecida e destrutiva de cultivos de crucíferas em todo o mundo e os custos anuais estimados para o seu manejo são de cerca de 1 bilhão de dólares (Talekar e Shelton, 1993), podendo onerar os custos de produção em 50%. (Lim, 1986). Os danos ocasionados pela fase larval do inseto podem levar à depreciação do produto, retardar o desenvolvimento e/ou acarretar a morte da planta (Castelo Branco e França, 2001; Monnerat et al., 2004). Acredita-se que *P. xylostella* tenha se originado na região do mediterrâneo, centro de origem das brássicas (Harcourt, 1957). Atualmente é uma espécie cosmopolita, ocorrendo em todos os cinco continentes, nos locais onde brássicas são cultivadas. São encontradas em grande parte da América do Norte, sul da América do Sul, Europa, Índia, Sudeste Asiático, Nova Zelândia e partes da Austrália (Hardy, 1938). O primeiro registro desse inseto no Brasil foi realizado nos cultivos de repolho da Bahia (Bondar, 1928). Na América do Norte, foi encontrada pela primeira vez em Illinois em 1854 e no oeste do Canadá em 1885 (Harcourt, 1962). No Havaí, o primeiro relato consta do ano de 1892. No Brasil, é encontrada em todos os cultivos de brássicas em todas as épocas do ano, com exceção dos períodos chuvosos (Castelo Branco e Guimarães, 1990; Barros et al., 1993; Melo et al., 1994).

*P. xylostella* é um inseto herbívoro oligófago especializado em plantas da família Brassicaceae (Cruciferae), que compreende um grupo diverso com cerca de 350 gêneros e 3500 espécies nativas da Europa e praticamente cultivadas em todo o

mundo (Fahey et al., 2001), destacando-se o repolho, a couve, a canola, a mostarda e o brócolis, dentre outras. A faixa de hospedeiros naturais de *P. xylostella* inclui também crucíferas ornamentais como o aleli (*Erysimum cheiri*), o mussanbê (*Cleome hassleriana*), o alisso (*Lobularia marítima*), e brássicas daninhas ou invasoras como a mostarda selvagem (*Brassica kaber*), a mostarda-dos-campos (*Sinapis arvensis* L.) o rapistro [*Rapistrum rugosum* (L.) All.], a nabiça-roxa (*Raphanus sativus* L.), o nabo forrageiro (*R. sativus* L. var. *oleiferus* Metzg.) (Lorenzi, 2000) que são caracterizadas por conterem metabólitos secundários característicos, denominados glicosinolatos (Brown et al., 2003; Halkier e Gershenzon, 2006).

A traça-das-crucíferas é um inseto desfolhador podendo se alimentar da folha inteira com exceção das nervuras e, algumas vezes, da epiderme superior. Contudo, em brócolis e couve-flor, as lagartas podem se alimentar também das inflorescências. Assim que as larvas eclodem dos ovos apresentam comportamento minador, penetrando no mesófilo da folha onde permanecem consumindo o parênquima durante 2 a 3 dias. Em seguida, abandonam as minas e migram para a epiderme inferior das folhas, deixando-as com aspecto transparente. A partir do segundo instar, a lagarta já consegue se alimentar da folha inteira chegando a promover a completa desfolhação da planta, sendo o último instar o maior causador de dano. Lagartas de segundo e terceiro instares são encontradas em folhas novas, enquanto as lagartas de último instar podem ser encontradas também nas folhas mais velhas. Em algumas áreas, a densidade de insetos é alta e torna-se impossível o cultivo de brássicas.

A duração do ciclo de vida da traça-das-crucíferas varia conforme a temperatura (Medeiros et al., 2003), tendo sua duração reduzida em temperaturas mais elevadas. Em 15,56°C, o ciclo de ovo a adulto é de 27 dias, podendo ocorrer até 14 gerações por ano. Em 26,67°C, o ciclo de vida é de 11 dias, chegando a ocorrer

até 30 gerações do inseto por ano. Os ovos são pequenos, com tamanho variando entre 0,3 e 0,6mm de diâmetro. Apresentam coloração amarelo brilhante, são elípticos e ligeiramente aplanados possuindo relevos ondulados na superfície (Ho,1965). Os ovos são postos separadamente ou em grupos de 2 a 8 nas porções adaxiais ou abaxiais das folhas e nos sulcos ao longo das folhas. Também podem ser encontrados nas hastes jovens ou nos pecíolos quando a densidade de ovos nas folhas é alta. No intervalo de tempo que precede a eclosão, os ovos tornam-se escurecidos e as lagartas podem ser observadas sob o córion ou casca (Harcourt, 1957).

O estágio larval de *P. xylostella* consiste de quatro instares que se diferem pelo tamanho das lagartas e por determinados aspectos morfológicos. As larvas de *P. xylostella* são ativas, filiformes e apresentam pêlos microscópicos e esparsos em seus segmentos corporais. Inicialmente, o corpo da lagarta apresenta aspecto pálido e, em seguida, apresenta coloração verde clara. A cabeça das lagartas de primeiro e segundo instares é preta, tornando-se marrom-esverdeada nos dois instares seguintes. A duração do período larval pode variar de 6 a 30 dias, dependendo da temperatura (Ho, 1965). Quando perturbadas, as larvas de *P. xylostella* se contorcem e podem ficar temporariamente suspensas na folha por um fio de seda. Passada a perturbação, as lagartas sobem pelo fio ou caem do mesmo para as folhas inferiores. As larvas são suscetíveis a afogamento, sendo os primeiros estádios mais vulneráveis. A mortalidade ocasionada pela chuva pode ser afetada pela temperatura e pela intensidade da precipitação (Harcourt, 1957).

No final do desenvolvimento, as lagartas podem medir de 8 a 10 mm de comprimento e começam a confeccionar um casulo de seda de coloração branca sob o qual pode ser visualizada a crisálida. As pupas chegam a atingir 10 mm de

comprimento e 1,5 mm de largura. Quando maduras, as lagartas giram seu corpo até abrir o casulo (Ho, 1965).

As lagartas de *P. xylostella* empupam em locais protegidos da planta, principalmente na superfície abaxial das folhas. A mariposa adulta é pequena e pode alcançar 10 mm de comprimento. Possui coloração parda e quando as asas estão dobradas, apresentam um desenho de três marcações em forma de diamante ao longo da linha mediana dorsal. Machos e fêmeas são do mesmo tamanho. A razão sexual é de 1:1. As fêmeas vivem de 7 a 47 dias, numa média de 16,2 dias e os machos vivem de 3 a 58 dias, numa média de 12,1 dias. O acasalamento tem início no anoitecer do dia da emergência, enquanto as mariposas estão descansando sobre as plantas, e dura cerca de 1h. Se os insetos são perturbados durante esse período, a fêmea arrasta o macho para um local mais abrigado. A postura começa no anoitecer do dia seguinte à emergência das mariposas adultas, atingindo o pico de oviposição cerca de duas horas mais tarde. Poucos ovos são colocados depois da meia-noite e a oviposição pode se estender por até 10 dias. As fêmeas colocam 160 ovos em média, podendo chegar a mais de 300 ovos. Esse número pode ser influenciado pelo fotoperíodo, temperatura, idade e alimentação da larva (Harcourt, 1967).

Os adultos são inativos durante o dia e quando perturbados voam de forma irregular. No campo, as mariposas se alimentam do néctar das flores da família Brassicaceae, pouco antes do anoitecer. Em curtas distâncias, as mariposas se locomovem rastejando ou em saltos. Em distâncias maiores, elas são levadas pelo vento. As fêmeas são menos ativas e raramente voam em temperaturas abaixo de 12°C ou quando a velocidade do vento superior a 6,4 km/h (Harcourt, 1957). As mariposas adultas apresentam pico de vôo durante a noite, entre 19h e 7h do dia seguinte (1 hora após o pôr-do-sol e 1 hora antes da alvorada) (Danthanarayana,

1986). Além da luminosidade, a atividade de vôo pode ser influenciada pela temperatura e pela velocidade do vento (Goodwin e Danthanarayana, 1984).

O “status” de praga conferido à *P. xylostella* é devido à diversidade e abundância de suas plantas hospedeiras, o que inclui uma grande quantidade de plantas selvagens, à sua grande capacidade de dispersão, à ausência de controle efetivo por inimigos naturais, ao seu alto potencial reprodutivo (mais de 20 gerações por ano nas regiões tropicais) e à sua elasticidade genética, que facilita o rápido desenvolvimento de resistência a inseticidas (Schroeder et al., 2000; Mohan e Gujar, 2003a; Vickers et al, 2004; Shelton, 2004).

Em certas áreas de cultivo de brássicas, são realizadas de 50 a 60 aplicações de inseticidas por ano (Zhao et al., 2002). Sob alta pressão de seleção, pragas frequentemente desenvolvem altos níveis de resistência a inseticidas, o que parece ser o caso de *P. xylostella* (Mota-Sanchez et al, 2002; Sarfraz e Keddie, 2005). *P. xylostella* foi o primeiro inseto a desenvolver resistência ao organoclorado DDT (dicloro-difenil-tricloroetano) o que ocorreu em 1953, na Indonésia (Ankersmit, 1953; Johnson, 1953). Atualmente, *P. xylostella* é encontrada em muitas regiões produtoras de crucíferas e tem mostrado resistência a quase todos inseticidas sintéticos (Yu e Nguyen, 1992; Mohan e Gujar, 2003b; Sayyed et al., 2004; Sarfraz e Keddie, 2005). Já foi constatada a resistência de *P. xylostella* ao *Bacillus thuringiensis* em diversas partes do mundo (Tabashnik, 1994; Charleston et al., 2005 APUD Nel et al., 1999).

### **2.3. Glicosinolatos**

Os glicosinolatos compreendem um importante grupo de fitoquímicos, derivados de aminoácidos, encontrados principalmente em plantas da família Brassicaceae (Halkier e Gershenzon, 2006). São amplamente reconhecidos por

ocorrerem em cultivos agrícolas comerciais sendo seus subprodutos responsáveis por conferir o odor e o sabor característico ao repolho, mostarda, couve-flor, brócolis e canola. Esses compostos atuam como metabólitos secundários, consistindo numa barreira química em resposta a desafios bióticos, reduzindo o dano causado por fitopatógenos, insetos-praga, invertebrados aquáticos, pássaros e alguns mamíferos (Halkier e Gershenzon, 2006; Hopkins et al., 2009). Também têm sido apontados como potenciais agentes anticarcinogênicos. O elevado consumo de brássicas estaria correlacionado ao decréscimo no risco de câncer de pulmão, estômago, cólon, reto, ovário, endométrio e próstata (Ambrosone et al., 2004, Hayes et al., 2008., Joseph et al., 2004, Spitz et al., 2000).

Já foram descritos, aproximadamente, 150 glicosinolatos diferentes (Navarro et al., 2011), caracterizados por apresentar átomos de nitrogênio e enxofre em sua fórmula química. A estrutura básica de todos os glicosinolatos consiste de ésteres de (Z)-*N*-hidroximosulfato ligados por um átomo de enxofre a uma molécula de  $\beta$ -D-glicopiranosose e a uma cadeia lateral variável derivada de aminoácidos (Fahey et al., 2001). A cadeia lateral e o grupo sulfato apresentam uma configuração estereoquímica *anti* em torno da ligação dupla C=N, conforme observado análise de cristalografia de raios-X realizada para identificar a estrutura da sinigrina (Marsh e Waser, 1970). A estrutura da cadeia lateral R pode possuir grupos alifáticos (alquil, alquenil, hidroxialquenil,  $\omega$ -metiltioalquil,  $\omega$ -sulfinil-, e  $\omega$ -sulfonilalquil), aromáticos (benzil e benzil substituído) ou heterocíclicos (indol). A presença do grupo sulfato na molécula de glicosinolato lhe confere propriedades fortemente acídicas. Desse modo, esses compostos não são voláteis e ocorrem na forma de sais, com o ânion sendo contrabalanceado por potássio. A maioria dos glicosinolatos é quimicamente e termicamente estável sendo hidrolisados por enzimas (Holst e Williamson, 2004).

Glicosinolatos intactos são relativamente inativos biologicamente (Razis et al., 2010). A catálise envolve a mirosinase, uma  $\beta$ -tioglicosidase encontrada em algumas bactérias intestinais (Fahey et al., 2001), ou nas células de mirosina das plantas (Bones e Rossiter, 1996). Os glicosinolatos, por sua vez, estão localizados nos vacúolos de células não-específicas desses vegetais. Esse sistema de defesa, chamado glicosinato-mirosinase, também é conhecido como “bomba óleo de mostarda” (Ratzka et al., 2002). Quando a planta sofre uma injúria, enzima e substrato entram em contato, ocasionando a hidrólise da ligação tioglicosídica, produzindo glicose e uma aglicona instável, a tiosulfato. Dependendo da estrutura da cadeia lateral, das condições reacionais, da presença de proteínas adicionais e cofatores, a aglicona sofre rearranjo espontâneo em diferentes produtos possíveis, incluindo isotiocianatos, e outros produtos menos ativos como oxazolidina-2-tionas, nitrilas, epitionitrilas, nitrilas e tiocianatos. Os produtos de hidrólise mais comuns dos glicosinolatos são os isotiocianatos, formados por um rearranjo de Lossen, envolvendo a migração da cadeia lateral do carbono da oxima para o nitrogênio adjacente, sendo estáveis numa faixa de pH de 6 a 7 (Holst e Williamson, 2004).

Após a catálise, a estrutura diferencial de cada glicosinato é conferida ao seu isotiocianato correspondente e está relacionada ao seu efeito biológico (Navarro et al., 2011). Em geral, isotiocianatos orgânicos (ITCs) são caracterizados por apresentarem um grupo  $-N=C=S$ , em que o carbono central é eletrofílico e prontamente reage com nucleófilos. Os isotiocianatos estão entre os compostos bioativos caracterizados por interferir no desenvolvimento de células cancerosas, inibindo a ativação do carcinógeno, promovendo sua detoxificação, induzindo o

bloqueio do ciclo celular, ativando a apoptose ou inibindo a metástase (Holst e Williamson, 2004; Zhang, 2012).

Os glicosinolatos estão diretamente envolvidos nas interações inseto-planta. Seus produtos de hidrólise têm papel ativo na defesa de plantas contra a herbivoria. O mecanismo de ação dos isotiocianatos não é totalmente conhecido, porém acredita-se que sua toxicidade esteja associada à sua reação com grupos amino e sulfidrilas das proteínas (Kawakishi e Kaneko, 1987). As plantas respondem à injúria provocada por insetos pelo acúmulo de altos níveis de glicosinolatos a nível sistêmico, aumentando sua resistência a ataques subsequentes (Agrawal et al., 2002; Mewis et al., 2005; van Dam et al., 2005). Os glicosinolatos que atuam como defesa de plantas, por intoxicação ou deterrência, podem ser utilizados por herbívoros especialistas como pistas de atração para o encontro do hospedeiro. Produtos de hidrólise voláteis são pistas de longa distância, enquanto glicosinolatos intactos servem como estímulos de alimentação ou oviposição. Insetos especialistas em brássicas, como *P. xylostella*, apresentam algumas estratégias metabólicas para superar a toxicidade da sua planta hospedeira e conseguir utilizá-la como alimento. Em resumo, os insetos devem ser capazes de (i) excretar rapidamente os glicosinolatos do seu corpo; (ii) metabolizar os glicosinolatos em derivados não-tóxicos, ou (iii) ser completamente insensível à ação tóxica desses compostos. Lagartas de *P. xylostella* utilizam uma sulfatase endógena para clivar o resíduo sulfato da estrutura principal do glicosinolato, resultando em um produto que não pode ser hidrolisado pela mirosinase (Ratzka et al., 2002).

### **3.1. Coleta das plantas**

A escolha alimentar de larvas, a preferência de oviposição de adultos e a performance de *P. xylostella* foram avaliadas em folhas de quatro tipos de brássicas: couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*), couve-flor (*B. oleracea* var. *botrytis*), mostarda (*B. juncea*) e rabanete (*Raphanus sativus*). As folhas analisadas foram obtidas de cultivos comerciais localizados no município de São João del-Rei, MG. Todas as plantas foram cultivadas sob o mesmo sistema de adubação e irrigação, sem a utilização de inseticidas e herbicidas e irrigadas de acordo com sua necessidade hídrica. As coletas ocorreram sempre no período da manhã e as plantas amostradas não apresentaram vestígios de dano mecânico ou ataque de pragas. Folhas de plantas maduras e em fase pré-reprodutiva foram classificadas através de avaliação visual em três categorias etárias: i) novas (folhas pequenas e menos pigmentadas do estrato superior da planta), ii) maduras (quarta e quinta folhas totalmente expandidas, com pigmentação verde intensa) e iii) senescentes (folhas velhas, com pigmentação amarelada, do estrato inferior da planta). Para cada tipo de planta (couve, couve-flor, mostarda e rabanete) foram amostradas folhas das três idades em três diferentes cultivos (n = 3), do mesmo ou de diferentes horticultores.

### **3.2. Criação dos insetos**

Os insetos utilizados nos experimentos foram provenientes de uma criação estabelecida no biotério do Departamento de Engenharia de Biosistemas (DEPEB), da Universidade Federal de São João del-Rei (UFSJ), sob condições constantes de temperatura ( $25 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ), umidade relativa ( $65 \pm 5\%$ ) e fotoperíodo (12C/12E). As larvas foram alimentadas com folhas de couve e de repolho, fornecidas conforme a necessidade. A criação foi semestralmente renovada pela adição de larvas e pupas

coletadas no campo. Os experimentos envolvendo o inseto foram conduzidos no Laboratório de Ecologia de Insetos, do Departamento de Engenharia de Biosistemas (DEPEB) da Universidade Federal de São João del-Rei.

Para coleta de ovos de *P. xylostella*, pupas foram colocadas em gaiolas cúbicas com 50cm de aresta, recobertas por tecido de organza e porta de vidro transparente. Cada gaiola comportava cerca de 250 casais de insetos (500 pupas). Após emergirem, os adultos foram alimentados com uma solução de mel diluído em água (10% v/v), aplicada em um chumaço de algodão depositado em uma placa de Petri ( $\phi = 10\text{cm}$ ) no fundo da gaiola. Transcorridas aproximadamente 48h após a emergência dos adultos, foi inserido na gaiola um envelope confeccionado com papel toalha, contendo fragmentos de folhas de couve maceradas. Na manhã seguinte, o envelope com ovos aderidos à sua superfície foi recolhido da gaiola.

### **3.3. Performance**

Fragmentos do papel toalha contendo coortes de 70-75 ovos de *P. xylostella* foram separados com o auxílio de estereomicroscópio e colocados isoladamente em placas de Petri ( $\phi = 10\text{cm}$ ). As placas de Petri foram armazenadas no interior de uma câmara climatizada a 25<sup>0</sup>C constantes. Dois dias depois, as coortes de ovos foram transferidas das placas de Petri para caixas de plástico transparente (10 x 10 x 5cm), contendo fragmentos de folhas de brássicas jovens, maduras ou senescentes; frescas e recém-colhidas de plantas cultivadas no campo. Seis coortes diferentes (n = 6) foram criadas em cada uma das três idades foliares de couve, couve-flor e mostarda e oito coortes em cada idade foliar de rabanete. Todas as repetições (coortes) para cada tipo de planta foram conduzidas simultaneamente, e todas as folhas utilizadas foram destacadas de plantas da mesma idade.

Como as larvas de primeiro instar são endofíticas, o número de larvas iniciais em cada coorte foi obtido pela dedução do número de ovos inviáveis que restavam sobre o fragmento de papel toalha. Após a emergência, as larvas de primeiro instar de *P. xylostella* geralmente penetram no mesófilo foliar, onde elas minam até atingir o segundo instar. As larvas de segundo instar foram transferidas para folhas frescas com o auxílio de um pincel de cerdas macias. Os fragmentos foliares foram trocados diariamente até todas as larvas empuparem. A sobrevivência das larvas de primeiro instar foi estimada pela diferença entre o número de ovos viáveis de cada coorte e a quantidade de larvas de segundo instar. A sobrevivência pré-imaginal foi determinada pela diferença entre o número de ovos viáveis e o número de adultos que emergiram ao final. A duração da fase larval foi obtida pelo número de dias compreendidos entre a incubação das coortes nas folhas até a pupação das larvas. Todos os indivíduos foram utilizados para determinação média da fase larval e da sobrevivência.

As pupas emergidas foram sexadas sob microscópio estereoscópio, após a remoção do casulo de seda, conforme descrito por Robertson (1939). Quinze casais de cada coorte foram separados e acondicionados em caixas de plástico transparentes (10 x 10 x 5cm). Logo que os adultos emergiram, um fragmento de folha ( $\pm 6\text{cm}^2$ ) foi inserido na caixa para oviposição. Nenhum suprimento de água ou alimento foi fornecido às mariposas para não mascarar o efeito da qualidade do material foliar utilizado na alimentação das larvas. O número de ovos colocados pelas fêmeas foi mensurado diariamente com o auxílio de um microscópio estereoscópio e os fragmentos foliares, substituídos. Os ovos colocados nas paredes das caixas de plástico eram também quantificados e eliminados diariamente.

Os parâmetros mais utilizados para obter a medida do “fitness” ou aptidão darwiniana são a taxa de crescimento populacional  $r$  e a taxa reprodutiva líquida  $R_0$  (Mylius e Diekmann, 1995). Ambos os parâmetros foram avaliados como medidas da performance do herbívoro em cada idade foliar. A taxa reprodutiva líquida ( $R_0$ ) foi calculada usando a fecundidade dos adultos sobreviventes menos a porcentagem dos ovos da coorte inicial que não atingiram a fase adulta. Como a razão sexual de *P. xylostella* é de 50% de fêmeas, calculou-se  $R_0 = (\text{fecundidade} - \text{mortalidade pré-imaginal})/2$ . A taxa de crescimento populacional  $r$  foi calculada para cada replicata do experimento usando a equação  $r = R_0/G$ , na qual  $G$  é o tempo de geração, obtido pela soma do período pré-imaginal mais metade da longevidade dos adultos (Howe, 1953).

### **3.4. Preferência**

#### **3.4.1. Preferência alimentar larval**

A preferência alimentar das larvas foi avaliada em testes de múltipla escolha usando discos de folhas novas, maduras e senescentes. Em cada teste de escolha foram oferecidos três discos foliares ( $\phi = 5\text{cm}$ ), um para cada classe etária. Os discos foram cortados de folhas colhidas no campo, e imediatamente colocadas numa arena de plástico ( $\phi = 15\text{cm}$ ), sobre uma folha de papel toalha umedecida para prevenir o ressecamento dos discos. O tamanho dos discos foliares e das arenas foi determinado por testes preliminares. Uma vez que as larvas de primeiro ínstar de *P. xylostella* são endofíticas, os testes de escolha foram realizados com larvas de segundo e quarto instares. No início do teste, uma larva foi colocada no centro de cada arena com o auxílio de um pincel fino de cerdas macias. As arenas foram cobertas com um pote plástico ( $\phi = 15\text{cm}$ , 10cm profundidade) e foram mantidas em temperatura constante ( $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ). A escolha larval foi registrada três horas após o início do teste,

mediante avaliação visual. Normalmente, as lavras permaneceram no mesmo disco que escolheram (observação pessoal). Desse modo, ao final das três horas de avaliação, foi registrado o disco em que cada larva se encontrava. O ensaio foi repetido dez vezes para cada tipo de planta e para cada um dos dois estágios larvais. Neste experimento, diferentemente dos demais, além de couve, couve-flor, mostarda e rabanete, foram também utilizadas folhas novas, maduras e senescentes de repolho (*B. oleracea* var. *capitata*).

#### **3.4.2. Preferência de oviposição**

Para avaliar a preferência de oviposição foram realizados testes de múltipla escolha entre discos foliares das três classes etárias. Gaiolas de (45 x 45 x 35cm), recobertas com tecido de organza, receberam 120 casais de pupas provenientes da criação-estoque e foram mantidas em sala climatizada a 25<sup>0</sup>C. Nos testes de escolha foram utilizados três discos ( $\phi = 10\text{cm}$ ) cortados de folhas novas, maduras e senescentes. Os discos foram colocados sobre papel toalha umedecidos da mesma dimensão, para prevenir a desidratação. Os discos foram inseridos nas gaiolas no final da tarde do segundo dia após a emergência das mariposas, dispostos em posições alternadas em cada réplica. Na manhã seguinte os discos foram removidos e os ovos quantificados. O teste de escolha foi executado novamente na noite seguinte, com os mesmos casais. Durante os testes, as mariposas não receberam nenhum suprimento de água ou alimento. Foram realizadas seis repetições (n = 6) para cada uma das crucíferas (couve, couve-flor, mostarda e rabanete), sendo utilizado o número total de ovos depositados nas duas noites consecutivas.

### **3.5. Qualidade nutricional da folha**

#### **3.5.1. Análises bromatológicas**

As análises bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Análises Químicas, do Departamento de Engenharia de Biosistemas (DEPEB) da Universidade Federal de São João del-Rei (UFSJ). A matéria seca foi determinada de acordo com Silva e Queiróz (2002) e as determinações de matéria mineral, extrato etéreo e proteína bruta seguiram a metodologia da AOAC (1980). Fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram analisadas segundo Van Soest et al., 1991. Todas as análises foram realizadas em triplicatas.

##### **3.5.1.1. Coleta e secagem das folhas**

As folhas analisadas foram obtidas dos mesmos cultivos descritos no item 3.1. As coletas ocorreram no período da manhã e as folhas das três categorias etárias foram obtidas de plantas maduras do mesmo estágio daquelas utilizadas nos experimentos com o inseto. As folhas foram retiradas das plantas com o auxílio de um estilete, acondicionadas em saco de plástico preto de 100L e imediatamente conduzidas ao laboratório. Todas as folhas foram lavadas com esponja e água corrente para retirada de terra e detritos e, em seguida, cerca de 300g de cada uma das amostras foram pesadas em balança semi-analítica. As folhas foram distribuídas em bandejas de maneira homogênea e levadas para secar em uma estufa com circulação e renovação forçada de ar a  $50 \pm 5^\circ\text{C}$ , até o material foliar apresentar peso constante. As bandejas foram retiradas da estufa e deixadas resfriar a temperatura ambiente. Em seguida, as amostras secas foram pesadas. Todas as folhas coletadas e pré-secas foram moídas em moinho do tipo ciclone utilizando-se uma peneira com crivo de 1,0mm. O material triturado obtido foi armazenado em potes de plástico para as análises posteriores.

### **3.5.1.2. Matéria seca**

A matéria seca foi determinada a partir da matéria pré-seca, de acordo com Silva e Queiróz (2002). Cadinhos de cerâmica numerados foram lavados e secos em estufa a 105°C por 30min. Os cadinhos foram retirados da estufa e colocados no dessecador até entrar em equilíbrio com a temperatura ambiente. Uma alíquota de 0,5g de matéria pré-seca foi adicionada nos cadinhos, que foram imediatamente levados para a estufa a 105°C durante 12 h. Os cadinhos foram retirados da estufa e colocados no dessecador para resfriar até alcançar temperatura constante. Os conjuntos cadinho e amostra pré-seca foram pesados e a umidade das amostras foi calculada segundo a fórmula abaixo:

$$MS(\%) = \left( \frac{\text{amostra seca}}{\text{amostra úmida}} \right) \times 100$$

### **3.5.1.3. Fibra em detergente neutro (FDN)**

Para determinar a FDN das amostras, que consiste na quantificação da hemicelulose, celulose e lignina, foi utilizado um determinador de fibras (Tecnal<sup>®</sup>, modelo TE-149), e uma solução de detergente neutro (Van Soest et al., 1991). Saquinhos confeccionados com TNT 100 foram numerados e secos em estufa a 105°C por 30 min e, em seguida, retirados e colocados no dessecador para equilibrar a temperatura com a do ambiente. Os saquinhos foram pesados e um grama de amostra foi adicionado em cada um deles. Os saquinhos foram selados e novamente pesados para verificar se houve perda de material durante o procedimento. As amostras foram lavadas por 1h no determinador de fibras contendo a solução de detergente neutro fervente (100°C). O detergente foi eliminado e as amostras foram submetidas a três lavagens consecutivas por 10 min, com água destilada a 100°C. Os saquinhos contendo as amostras foram lavados com álcool etílico P.A. duas vezes consecutivas e levados para secar em estufa a 105°C por 12h. As amostras foram

retiradas da estufa e colocadas em dessecador até equilibrar sua temperatura com a do ambiente. Os saquinhos foram pesados e o valor da FDN foi calculado segundo a fórmula:

$$\text{FDN em MS (g/kg)} = \left( \frac{\frac{(\text{amostraFDN}) \times (\text{amostraemMS})}{(\text{amostratota})} \times 1000}{(\text{amostræmMS})} \right)$$

Os ensaios foram realizados em triplicata para cada uma das idades foliares de cada um dos tres cultivos (n = 3) de cada um dos quatro tipos de planta.

#### **3.5.1.4. Fibra em detergente ácido (FDA)**

O conteúdo de lignina e celulose das amostras foi determinado pela análise de FDA sequencial. A análise de FDA difere da FDN no tipo de solução detergente utilizada, conforme descrito por Van Soest et al., 1991. Após a lavagem da FDN, secagem e pesagem, as amostras foram colocadas no determinador de fibras contendo a solução de detergente ácido em ebulição (100°C) e foram lavadas por uma hora. O detergente é escoado e as amostras são lavadas três vezes consecutivas com água destilada a 100°C. Em seguida, os saquinhos foram lavados com álcool etílico P.A. e submetidos à secagem em estufa a 105°C, durante 8h. As amostras foram colocadas em dessecador até resfriarem e, posteriormente pesadas. O procedimento foi realizado em triplicata para todas as idades foliares das quatro brássicas.

$$\text{FDA em MS (g/kg)} = \left( \frac{\frac{(\text{amostraFDA}) \times (\text{amostraemMS})}{(\text{amostratota})} \times 1000}{(\text{amostræmMS})} \right)$$

O conteúdo de hemicelulose das amostras foi obtido subtraindo-se o conteúdo de FDN, da FDA.

$$\text{Hemicelulose em MS (g/kg)} = (\text{FDN}) - (\text{FDA})$$

### 3.5.1.5. Proteína total

A concentração de proteínas presentes nas amostras foi determinada pelo método semimicro-Kjeldahl descrito pela AOAC (Association of Official Analytical Chemists, 1984). Cada amostra foi colocada em um tubo de vidro ao qual foram adicionados 3g de uma mistura de catalisadores químicos ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e  $\text{CuSO}_2$ ) e 10mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  95%. Cada tubo foi colocado em uma chapa de aquecimento com temperatura final de  $400^\circ\text{C}$ , durante 4h. Após a obtenção do material digerido, os tubos foram retirados da chapa e mantidos em temperatura ambiente até esfriarem. As amostras digeridas foram destiladas e a amônia liberada nesse processo foi recolhida em um erlenmeyer de 125mL contendo 20mL de solução de ácido bórico 4%. O material recolhido foi titulado com HCl 0,01N. O volume de HCl gasto na titulação foi registrado e utilizado para o cálculo da concentração de nitrogênio total da amostra segundo a fórmula:

$$\text{proteína total em MS (g/kg)} = \left( \frac{\left( (\text{amostra em MS}) \times \left( \frac{(\text{v HCl} \times f \times 0,0014 \times 6,25)}{(\text{amostra total})} \right) \times 1000 \right)}{(\text{amostra em MS})} \right),$$

em que:

v HCl = volume de HCl gasto na titulação das amostras;

f = fator de correção da normalidade do HCl;

0,0014g = massa de nitrogênio na solução de HCl utilizada (0,01N) e

6,25 = fator utilizado para conversão do nitrogênio em proteínas.

### 3.5.1.6. Proteína ligada à fibra

O conteúdo de proteína aderida à fibra foi determinado seguindo o procedimento descrito anteriormente utilizando amostras previamente lavadas com a solução de detergente neutro (procedimento FDN, item 2.4.1.2). Após serem lavadas,

as amostras foram secas em estufa a 55°C, para que não houvesse qualquer transformação sob ação do calor, durante 12 horas. As amostras foram transferidas para um dessecador e pesadas. Uma alíquota das amostras foi colocada nos tubos de ensaio contendo catalisador e submetida à digestão e destilação conforme descrito no item 2.4.1.5.

### 3.5.1.7. Extrato etéreo

Para determinação da quantidade de gordura presente nas folhas das brássicas foi utilizada a metodologia da AOAC (1980). Um grama de amostra pré-seca foi colocado em papel de filtro qualitativo, previamente pesado e seco em estufa a 105°C, por 30 min. O papel foi dobrado de modo a se obter um cartucho e não haver perdas. O conjunto, papel de filtro e amostra, foi levado para a estufa a 105°C, por 2h. Os cartuchos foram colocados em um equipamento determinador de gordura (Tecnal<sup>®</sup>, modelo TE-044), onde foram adicionados 50mL de éter etílico P.A. em cada reboiler. A extração aconteceu por um período de 4h, a 200°C. As amostras foram retiradas do equipamento e levadas para estufa a 105°C, por 2h e o solvente foi recuperado. Os cartuchos foram pesados para o cálculo da concentração de gordura, utilizando-se a seguinte fórmula:

$$\text{extrato etéreo em MS (g/kg)} = \left( \frac{(\text{extrato etéreo da amostra}) \times (\text{amostra em MS})}{(\text{amostra total})} \times 1000 \right) \frac{1}{(\text{amostra em MS})}$$

### 3.5.1.8. Matéria mineral

Cadinhos de porcelana limpos foram previamente calcinados em mufla a 550°C, por 30 min. Depois de resfriarem em dessecador, 2g das amostras pré-secas foram pesadas e colocadas na mufla a 550°C, por 5h. Os cadinhos foram novamente colocados em dessecador e, em seguida, pesados, seguindo metodologia da AOAC

(1980). A quantidade de matéria mineral foi determinada utilizando-se a seguinte fórmula:

$$\text{matéria mineral em MS (g/kg)} = \left( \frac{(\text{matéria mineral da amostra}) \times (\text{amostra em MS})}{(\text{amostra total})} \times 1000 \right) \frac{1}{(\text{amostra em MS})}$$

### 3.5.1.9. Carboidratos totais

A concentração de carboidratos totais das amostras foi obtida por diferença percentual, levando-se em conta as concentrações de proteína total, matéria mineral e lipídeos totais (extrato etéreo).

$$\text{Carboidratos totais (\%)} = 100 - ((\text{matéria mineral}) + (\text{extrato etéreo}) + (\text{proteína total}))$$

### 3.6. Análises estatísticas

Os dados foram submetidos a análises de variância (ANOVA) e aos testes de médias paramétricos, Holm-Sidak ou Tukey a 5%, ou não-paramétrico, Kruskal-Wallis, utilizando-se o programa SigmaStat 3.5 (SSPS, 2006) e plotados pelo programa Sigma Plot, versão 10.0 (SSPS, 2006).

#### 4.1. Performance

O envelhecimento foliar afetou negativamente todos os parâmetros da história de vida de *P. xylostella*. Nas quatro espécies de plantas testadas, a sobrevivência das larvas de primeiro instar diminuiu com o envelhecimento das folhas (Figura 1; couve:  $F_{29,2} = 115,16$ ; couve-flor:  $F_{29,2} = 272,49$ ; mostarda:  $F_{29,2} = 107,37$ ; rabanete:  $F_{29,2} = 60,29$ , todos  $P$ 's  $< 0,001$ ). Em geral, a sobrevivência das larvas foi, pelo menos, 40% maior nas folhas jovens do que nas senescentes.

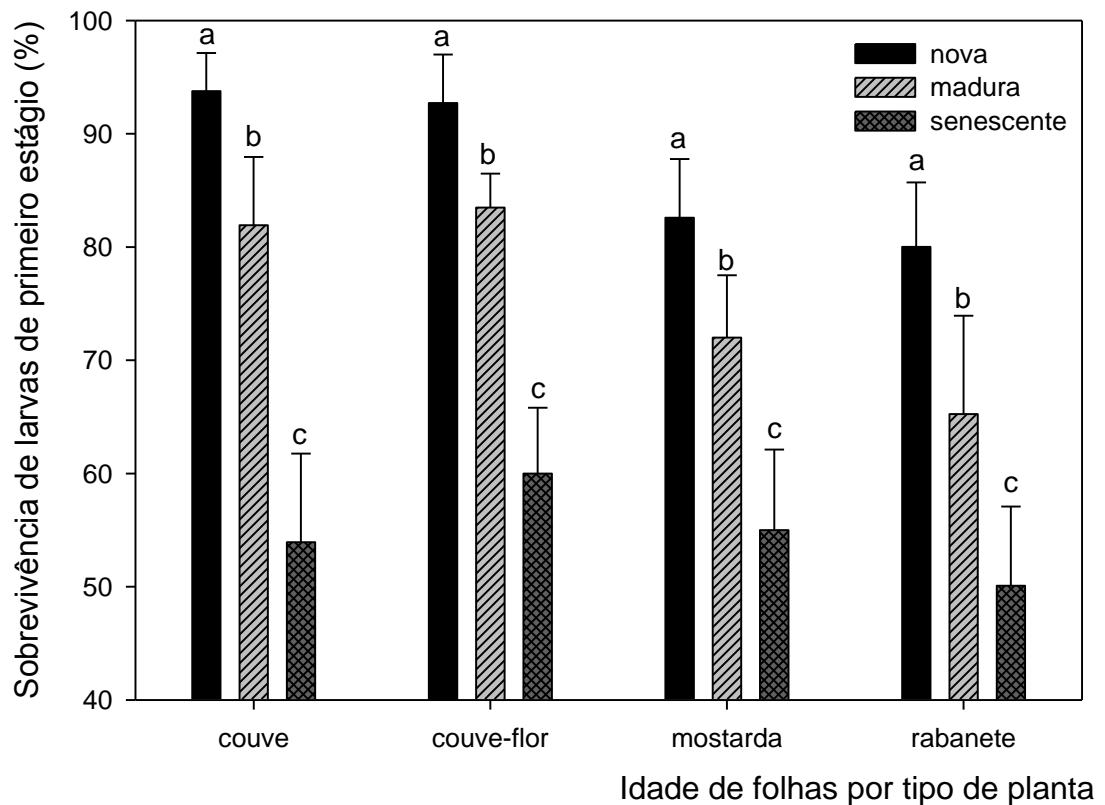


Figura 1 – Percentual de sobrevivência de larvas de primeiro estágio de *P. xylostella* alimentadas com folhas novas, maduras e senescentes de quatro tipos de brassicáceas. Barras e desvio padrão com letras iguais para uma mesma planta indicam que não houve diferença significativa pelo teste de Holm-Sidak a 5% para  $n = 10$  grupos iniciais com 95 a 110 larvas cada.

A sobrevivência pré-imaginal também foi afetada negativamente pelo envelhecimento das folhas (Figura 2; couve:  $F_{17-2} = 21,01$ ,  $P < 0,001$ ; couve-flor:  $F_{17-2} = 8,33$ ,  $P = 0,004$ ; mostarda:  $F_{16-2} = 41,53$ ,  $P < 0,001$ ; rabanete:  $F_{23-2} = 10,57$ ,  $P < 0,001$ ). O envelhecimento foliar provocou uma tendência geral de diminuição do número de indivíduos que sobreviveram até alcançar a fase adulta.

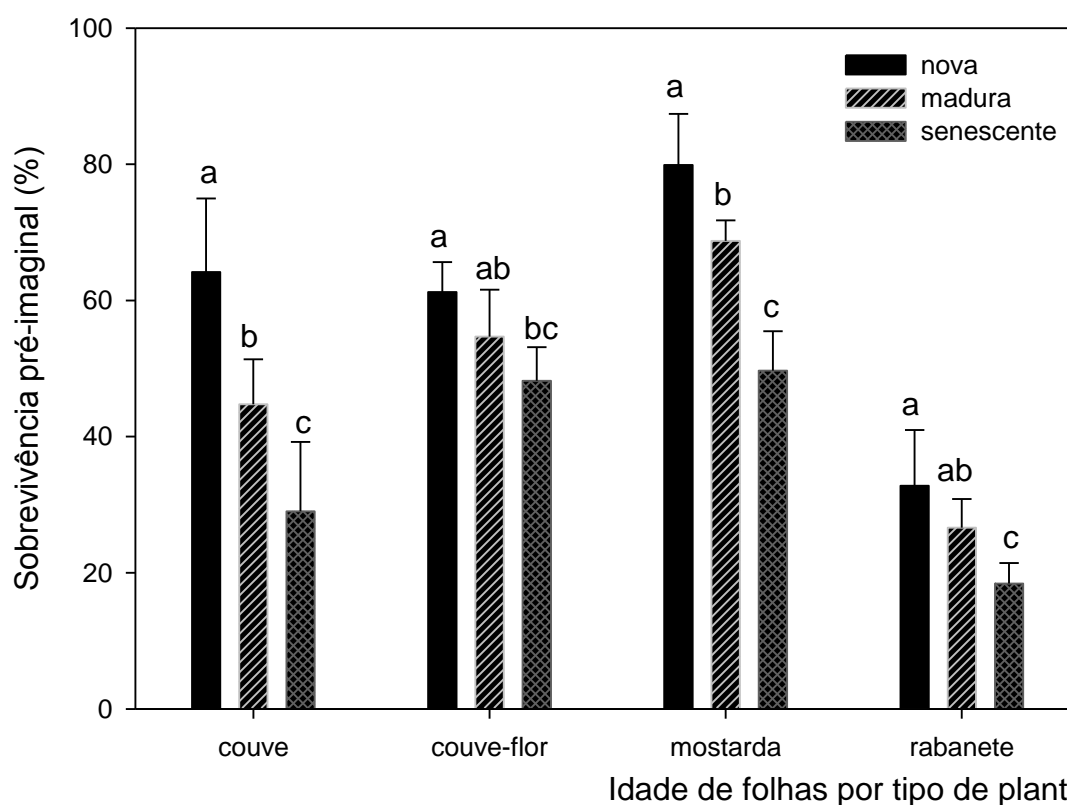
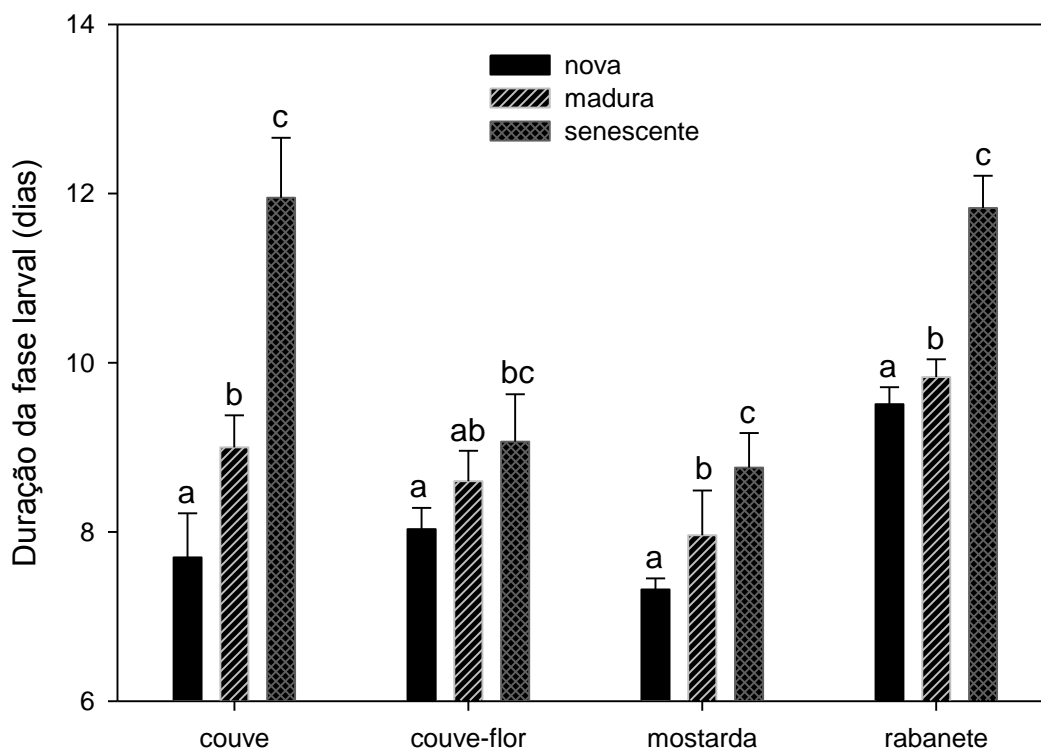


Figura 2 – Percentual de sobrevivência da fase imatura (da eclosão do ovo até a emergência do adulto) de *P. xylostella* alimentada em laboratório com folhas novas, maduras e senescentes destacadas de quatro tipos de brassicáceas cultivadas no campo. Barras e desvio padrão com letras iguais para uma mesma planta indicam que não houve diferença significativa pelo teste de Holm-Sidak a 5% para  $n = 6$  coortes iniciais de 70 a 75 ovos cada.

A duração da fase larval também diferiu com o envelhecimento foliar para os quatro tipos de plantas (Figura 3; couve:  $F_{17-2} = 92,06$ ,  $P < 0,001$ ; couve-flor:  $F_{17-2} = 9,46$ ,  $P = 0,002$ ; mostarda:  $F_{17-2} = 19,91$ ,  $P < 0,001$ ; rabanete:  $F_{23-2} = 163,38$ ,  $P <$

0,001). O envelhecimento foliar provocou um aumento generalizado no tempo que as larvas levaram para desenvolver até a fase de pupa.



Idade da folha por tipo de planta

Figura 3 – Duração da fase larval (da eclosão do ovo até a formação da pupa) de *P. xylostella* alimentada em laboratório com folhas novas, maduras e senescentes destacadas de quatro tipos de brassicáceas cultivadas no campo. Barras e desvio padrão com letras iguais para uma mesma planta indicam que não houve diferença significativa pelo teste de Holm-Sidak a 5% para  $n = 6$  coortes iniciais de 70 a 75 ovos cada.

Pelo menos em duas das quatro espécies de plantas testadas, couve e mostarda, a fecundidade das fêmeas adultas diferiu em relação ao recurso alimentar recebido durante o seu desenvolvimento larval (Figura 4; couve: Anova,  $P = 0,070$ ; couve-flor: Kruskal-Wallis,  $P = 0,19$ ; mostarda:  $F_{16-2} = 3,86$ ,  $P = 0,046$ ; rabanete: Kruskal-Wallis,  $P < 0,050$ ). Não houve diferença significativa entre as três idades foliares para couve e couve-flor, pelas análises de variância para couve, e pelas análises de variância e Kruskal-Wallis para a fecundidade em couve-flor.

Usualmente a fecundidade de *P. xylostella* varia amplamente entre indivíduos mas, ainda assim, destacou-se uma tendência significativa de redução da fecundidade em folhas senescentes de mostarda e rabanete, quando comparadas com folhas novas do estrato superior da planta.

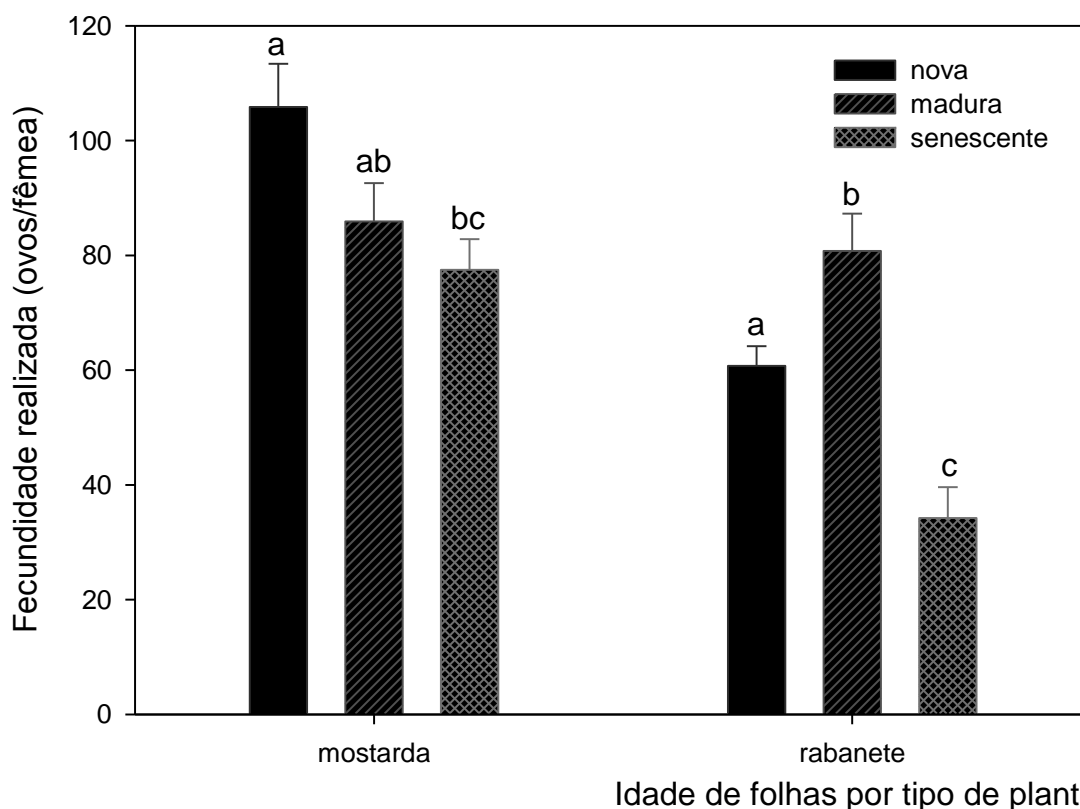
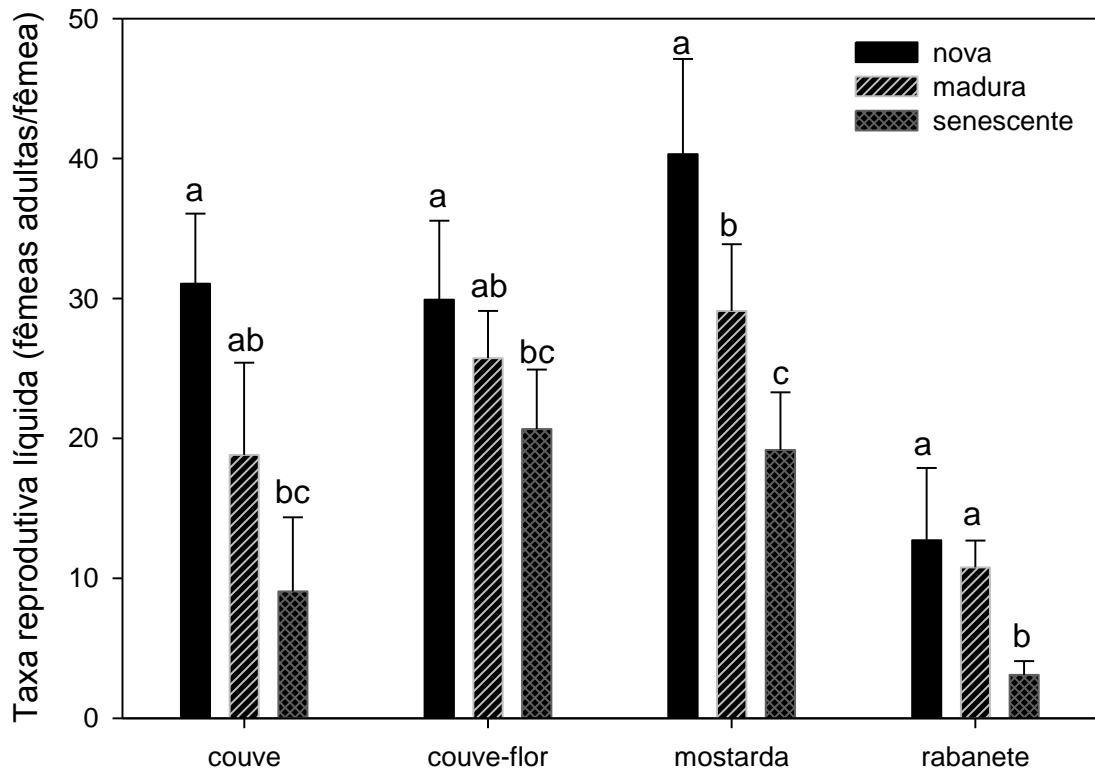


Figura 4 – Fecundidade de *P. xylostella* criada em laboratório com folhas novas, maduras e senescentes destacadas de dois tipos de brassicáceas cultivadas no campo. Barras e desvio padrão com letras iguais para uma mesma planta indicam que não houve diferença significativa pelo teste de Holm-Sidak a 5% para  $n = 6$  grupos de 18 casais cada. Para couve e couve-flor, não houve diferença significativa entre as idades foliares, pelas análises de variância e de Kruskal-Wallis, respectivamente.

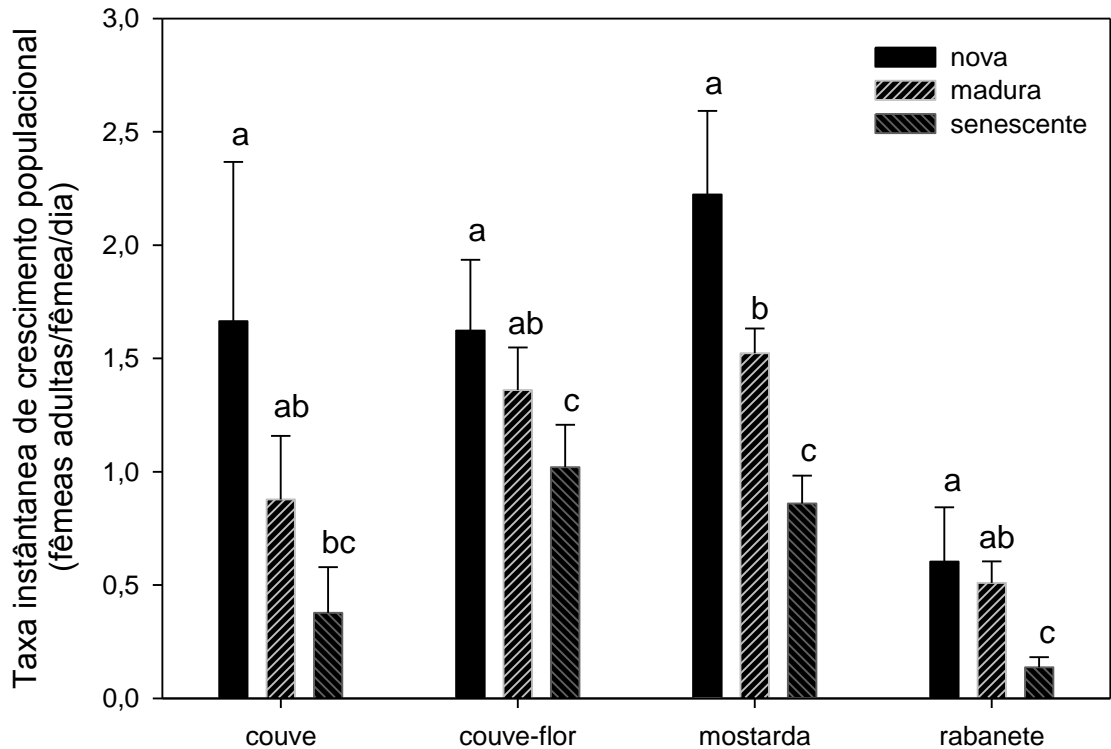
O sucesso reprodutivo de *P. xylostella* foi negativamente afetado pelo envelhecimento foliar em todas as plantas (Figura 5; couve:  $P = 0,004$ ; couve-flor:  $F_{16-2} = 5,01$ ,  $P = 0,023$ ; mostarda:  $F_{17-2} = 26,25$ ,  $P < 0,001$ ; rabanete: Kruskal-Wallis,  $P < 0,001$ ).



#### Idade de folhas por tipo de planta

Figura 5 – Sucesso reprodutivo de *P. xylostella* alimentada em laboratório com folhas novas, maduras e senescentes destacadas de quatro tipos de brassicáceas cultivadas no campo. Taxa calculada considerando a fecundidade e a sobrevivência pré-imaginal de fêmeas. Barras e desvio padrão com letras iguais para uma mesma planta indicam que não houve diferença significativa pelo teste de Holm-Sidak a 5% para  $n = 6$  coortes iniciais de 70 a 75 ovos cada.

A taxa instantânea de crescimento populacional  $r$  diminuiu significativamente nas folhas senescentes (Figura 6, couve: Kruskal-Wallis,  $P = 0,001$ ; couve-flor:  $F_{17-2} = 9,82$ ,  $P = 0,002$ ; mostarda:  $F_{17-2} = 43,41$ ,  $P < 0,001$ ; rabanete: Kruskal-Wallis,  $P < 0,001$ ). Em geral, o potencial de crescimento populacional diário de *P. xylostella* foi maior em folhas mais novas do que em folhas mais velhas ou senescentes. Cada fêmea alimentada com folhas novas apresentou o potencial de acrescentar, por dia, até duas ou três vezes mais filhas à população do que fêmeas criadas com folhas senescentes.



Idade de folhas por tipo de planta

Figura 6 – Potencial de crescimento populacional diário de *P. xylostella* alimentada em laboratório com folhas novas, maduras e senescentes destacadas de quatro tipos de brassicáceas cultivadas no campo. Taxa calculada considerando a fecundidade, a sobrevivência pré-imaginal e o tempo gasto para completar uma geração de fêmeas. Barras e desvio padrão com letras iguais para uma mesma planta indicam que não houve diferença significativa pelo teste de Holm-Sidak a 5% para  $n = 6$  coortes iniciais de 70 a 75 ovos cada.

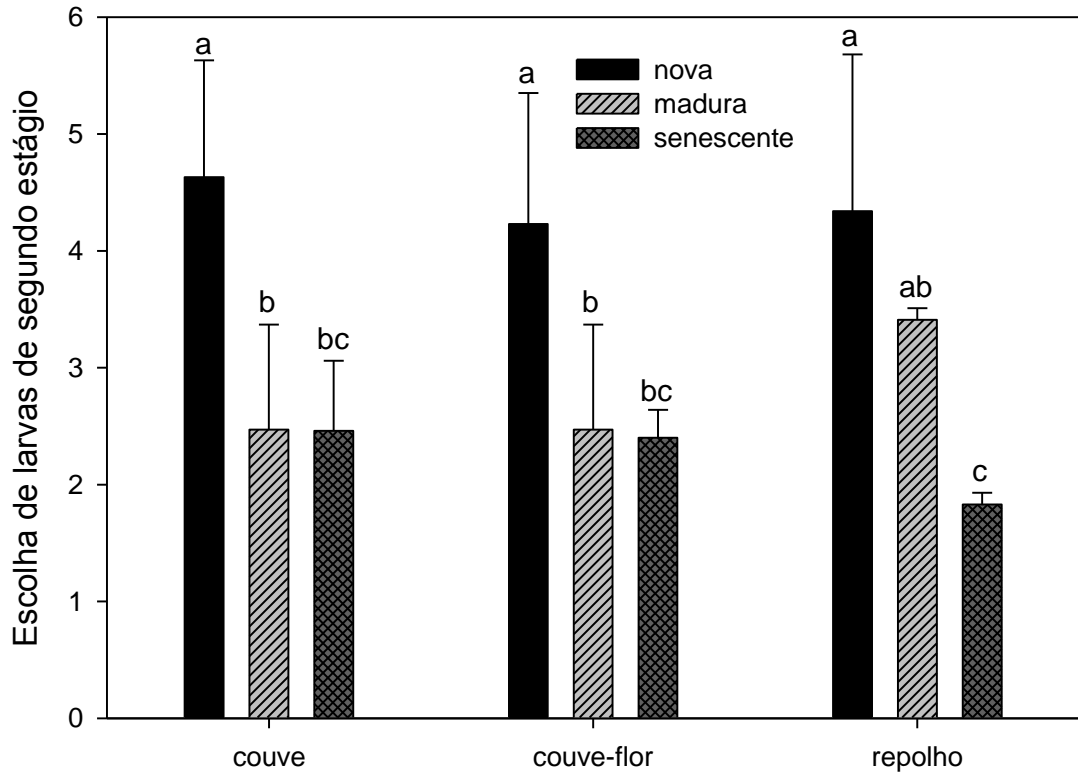
#### 4.2. Preferência alimentar larval e de oviposição

Para mostarda e rabanete, não houve preferência larval significativa para qualquer uma das três idades foliares. No entanto, houve uma escolha significativa das larvas de segundo instar entre folhas de diferentes idades nas plantas de couve, couve-flor e repolho, embora larvas de quarto instar não apresentaram nenhum padrão de escolha (Tabela 1). Nessas três plantas, as larvas tenderam a escolher as folhas novas em relação às mais velhas (Figura 7, couve:  $F_{17-2} = 10,29$ ,  $P < 0,001$ ; couve-flor: Kruskal-Wallis  $P = 0,010$ ).

Tabela 1 – Análises de variância (ANOVA) da escolha de larvas de segundo e de quarto estágio de *P. xylostella* por fragmentos de folhas novas, maduras e senescentes de cinco tipos de brassicáceas, com n = 10 larvas ou testes de livre escolha.

Planta	Estágio larval	F <sub>8,2</sub>	P
Couve	2	10,29	<b>&lt;0,001</b>
	4	2,74	0,082
couve-flor	2	9,18	0,010
	4	0,17	0,844
repolho	2	14,48	<b>&lt;0,001</b>
	4	1,11	0,343
mostarda	2	0,42	0,661
	4	0,32	0,732
rabanete	2	0,98	0,390
	4	0,01	0,995

O padrão de preferência larval (Figura 7) coincidiu com os índices de performance ( $r$  e  $R_0$ ) de *P. xylostella* (Figuras 5 e 6) demonstrando que as larvas apresentam preferência para folhas novas, nas quais a performance foi superior. No entanto, embora o inseto tenha apresentado um melhor desempenho em folhas mais novas de mostarda e rabanete (Figuras 5 e 6), as lagartas não demonstraram nenhuma preferência foliar para essas plantas (Tabela 1).



#### Idade de folhas por tipo de planta

Figura 7 – Escolha de larvas de segundo estágio de *P. xylostella* por folhas novas, maduras e senescentes de brassicáceas. Preferência foi medida em testes de livre escolha nos quais se possibilitou à larva a seleção entre três fragmentos foliares de diferentes idades do mesmo tipo de brássica. Barras e desvio padrão com letras iguais para uma mesma planta indicam que não houve diferença significativa pelo teste de Holm-Sidak a 5% para  $n = 10$  larvas ou testes de escolha.

Não houve um padrão generalizado para a escolha de oviposição pelas mariposas. Em couve e couve-flor houve maior postura em folhas senescentes, quando comparadas às folhas novas e maduras (Figura 8, couve:  $F_{17-2} = 21,06$ ,  $P < 0,001$ ; couve-flor:  $F_{17-2} = 12,4$ ,  $P < 0,001$ ). Nestas plantas, houve tendências opostas entre preferência e a performance larval (Figuras 5, 6 e 7) em comparação com a preferência de oviposição (Figura 8). Por outro lado, nas plantas de mostarda e rabanete, houve uma maior preferência de oviposição por folhas novas e maduras em relação às senescentes (Figura 8, mostarda:  $F_{17-2} = 7,77$ ,  $P = 0,005$ ; rabanete:  $F_{17-2} =$

11,88,  $P < 0,001$ ). Nestes casos, a preferência de oviposição coincidiu com performance (Figuras 5 e 6), mas as larvas não apresentaram escolha (Figura 7).

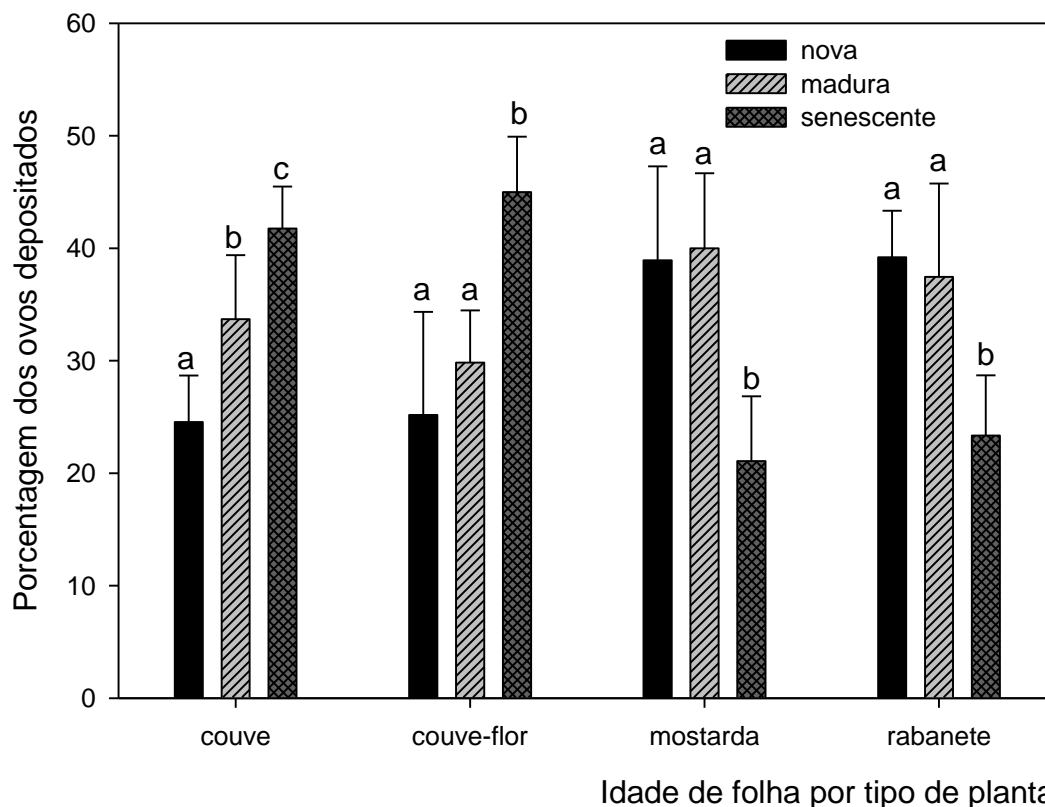
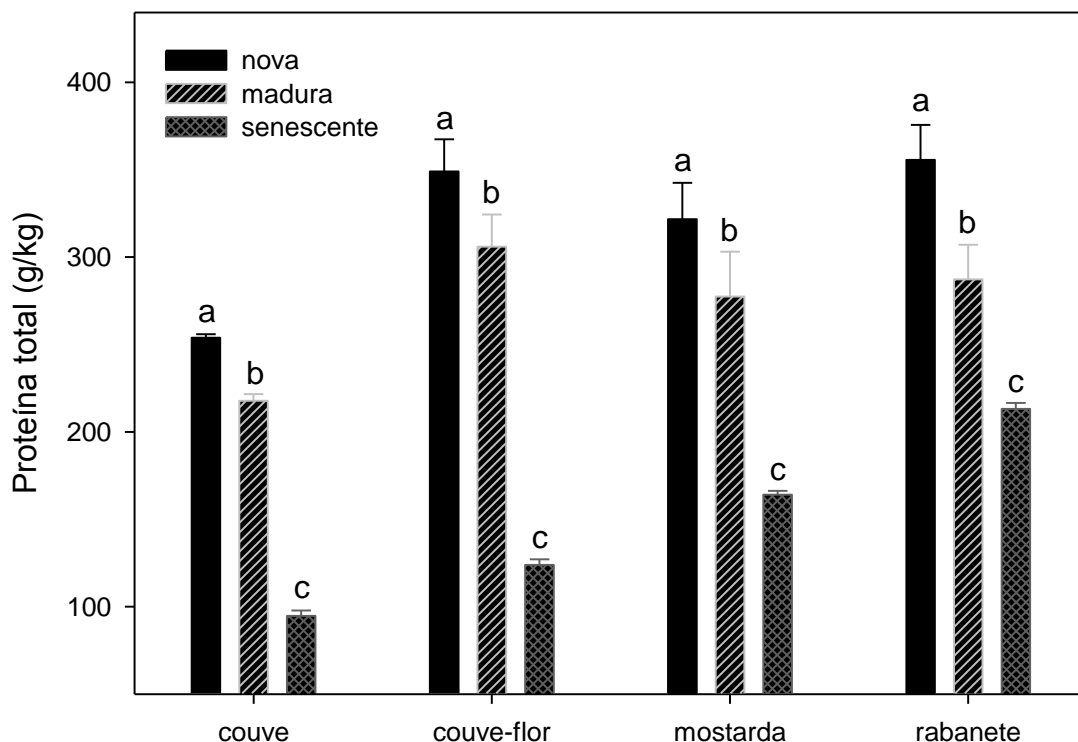


Figura 8 – Preferência de oviposição de mariposas de *P. xylostella* por folhas novas, maduras e senescentes de quatro tipos de brassicáceas. Cerca de 120 casais de mesma idade foram deixados para ovipositar, durante uma noite, em gaiolas contendo três fragmentos de igual tamanho de folhas de diferentes idades de um mesmo tipo de planta. Barras e desvio padrão com letras iguais para uma mesma planta indicam que não houve diferença significativa pelo teste de Holm-Sidak a 5% para  $n = 6$  gaiolas de oviposição.

### 4.3. Qualidade nutricional das folhas

A concentração de proteína total encontrado nas folhas foi inversamente proporcional ao envelhecimento das mesmas, para todas as plantas analisadas (Figura 9, couve:  $F_{29,2} = 2227,32$ ,  $P < 0,001$ ; couve-flor:  $F_{29,2} = 185,91$ ,  $P < 0,001$ ; mostarda:  $F_{29,2} = 54,35$ ,  $P < 0,001$ ; rabanete:  $F_{29,2} = 56,68$ ,  $P < 0,001$ ). O conteúdo protéico foi maior nas folhas novas.



Idade da folha por tipo de planta

Figura 9 – Concentração de proteína total presente nas folhas das três classes etárias de quatro espécies de brássicas cultivadas no campo. Barras e desvio padrão com letras diferentes para uma mesma planta indicam que houve diferença significativa pelo teste de Holm-Sidak a 5% para  $n = 3$  repetições e triplicatas.

A quantidade de proteína indisponível para o inseto também diminuiu com o envelhecimento foliar (Figura 10, couve:  $F_{29-2} = 251,45$ ,  $P < 0,001$ ; couve-flor:  $F_{29-2} = 183,03$ ,  $P < 0,001$ ; mostarda:  $F_{29-2} = 28,17$ ,  $P < 0,001$ ; rabanete:  $F_{29-2} = 297,05$ ,  $P < 0,001$ ). Embora não tenha havido diferença significativa entre folhas novas e maduras de couve-flor e mostarda, as folhas senescentes apresentaram, de maneira consistente em todas as plantas, menor conteúdo protéico ligado às suas fibras.

O conteúdo de fibra em detergente neutro (FDN) aumentou com a idade das folhas. Não houve diferença significativa entre folhas maduras e senescentes, mas nas folhas novas foi determinado um menor teor de fibras (Figura 11, couve:  $F_{29-2} =$

146,09,  $P = 0,005$ ; couve-flor:  $F_{29,2} = 22,47$ ,  $P = 0,002$ ; mostarda:  $F_{29,2} = 37,76$ ,  $P < 0,001$ ; rabanete:  $P = 0,841$ ).

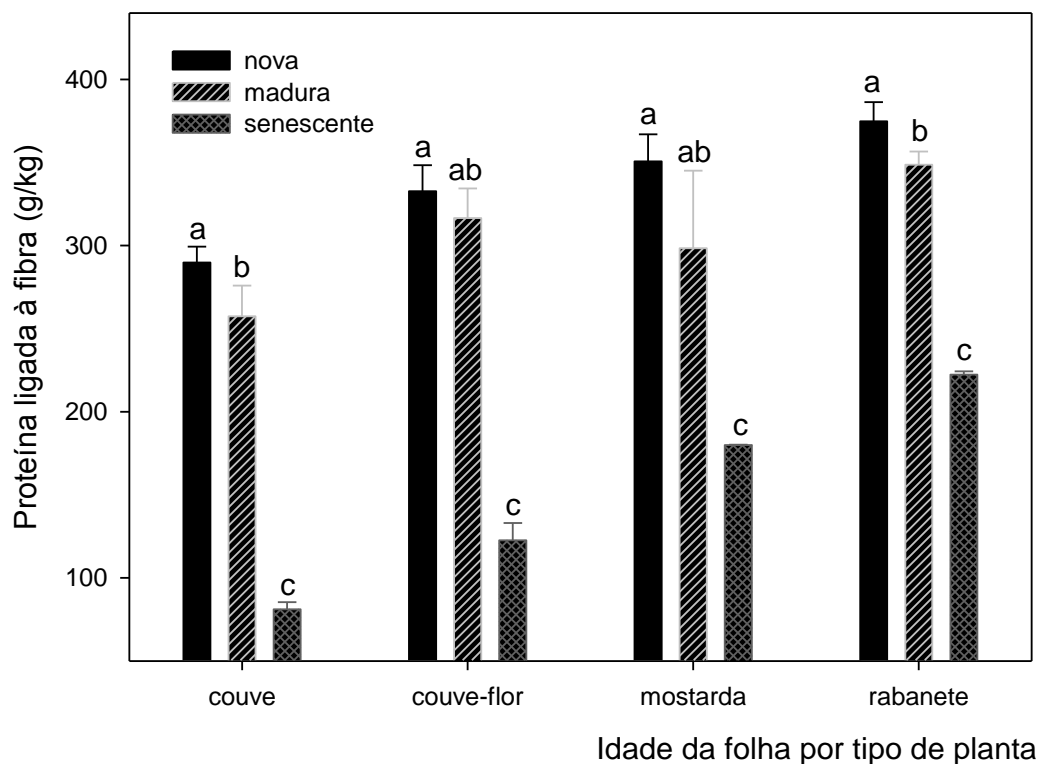
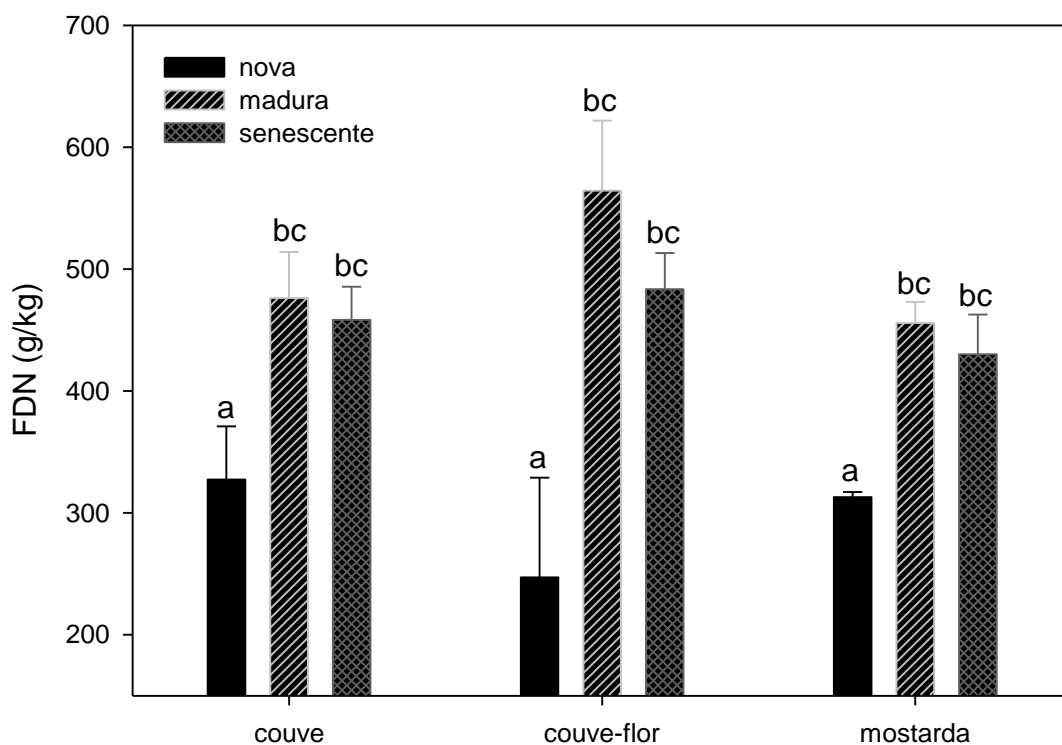


Figura 10 – Concentração de proteína indisponível presente nas folhas das três classes etárias de quatro espécies de brassicáceas cultivadas no campo. Barras e desvio padrão com letras iguais para uma mesma planta indicam que não houve diferença significativa pelo teste de Holm-Sidak a 5% para  $n = 3$  repetições e triplicatas.

Para rabanete, não houve diferença significativa no conteúdo de fibras entre as três idades foliares. Possivelmente, um aumento no número de repetições permita que se identifique uma tendência para essa planta.



#### Idade da folha por tipo de planta

Figura 11 – Concentração de fibra em detergente neutro (FDN) presente nas folhas das três classes etárias de três espécies de brassicáceas cultivadas no campo. Barras e desvio padrão com letras iguais para uma mesma planta indicam que não houve diferença significativa pelo teste de Holm-Sidak a 5% para  $n = 3$  repetições e triplicatas.

O conteúdo de fibra em detergente ácido (FDA), que consiste na quantificação de celulose e lignina presentes no tecido foliar, não diferiu significativamente entre as idades foliares para todas as plantas analisadas (Tabela 2). Contudo, os valores de FDA obtidos foram utilizados para o cálculo da quantidade de hemicelulose presente nas amostras.

Tabela 2 – Análises de variância (ANOVA) para o conteúdo de FDA das folhas de três classes etárias: nova, madura e senescente, de quatro espécies de brássicas com n=3 repetições e triplicatas.

Planta	F <sub>29-2</sub>	P
couve	2,145	0,198
couve-flor	4,587	0,062
mostarda	3,578	0,095
rabanete	0,591	0,583

Com o envelhecimento foliar houve aumento na quantidade de hemicelulose em couve, couve-flor e mostarda (Figura 12, couve: F<sub>29-2</sub> = 12,93, P = 0,007; couve-flor: F<sub>29-2</sub> = 18,08, P = 0,003; mostarda: F<sub>29-2</sub> = 7,61, P = 0,023; rabanete: P = 0,519). A concentração de hemicelulose em folhas maduras e senescentes de couve e couve-flor não diferiu significativamente. Para mostarda, só houve diferença significativa entre folhas novas e senescentes. Assim como para FDN, os dados não permitiram nenhuma conclusão a respeito do conteúdo de hemicelulose em rabanete.

A concentração de matéria mineral apresentou correlação positiva com o envelhecimento das folhas para todas as brássicas avaliadas (Figura 13, couve: Kruskal-Wallis, P = 0,004; couve-flor: F<sub>29-2</sub> = 44281,02, P < 0,001; mostarda: F<sub>29-2</sub> = 7391,95, P < 0,001; rabanete: Kruskal-Wallis, P = 0,004). Contudo, para couve e rabanete somente houve diferença significativa entre folhas novas e senescentes.

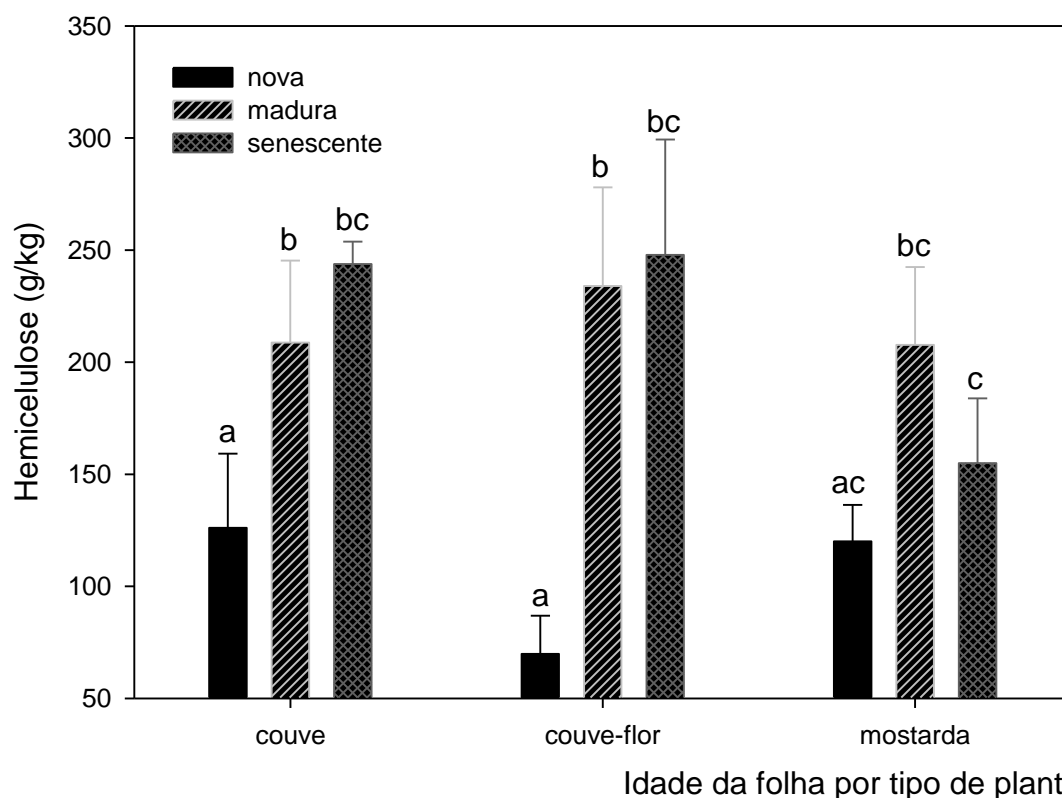
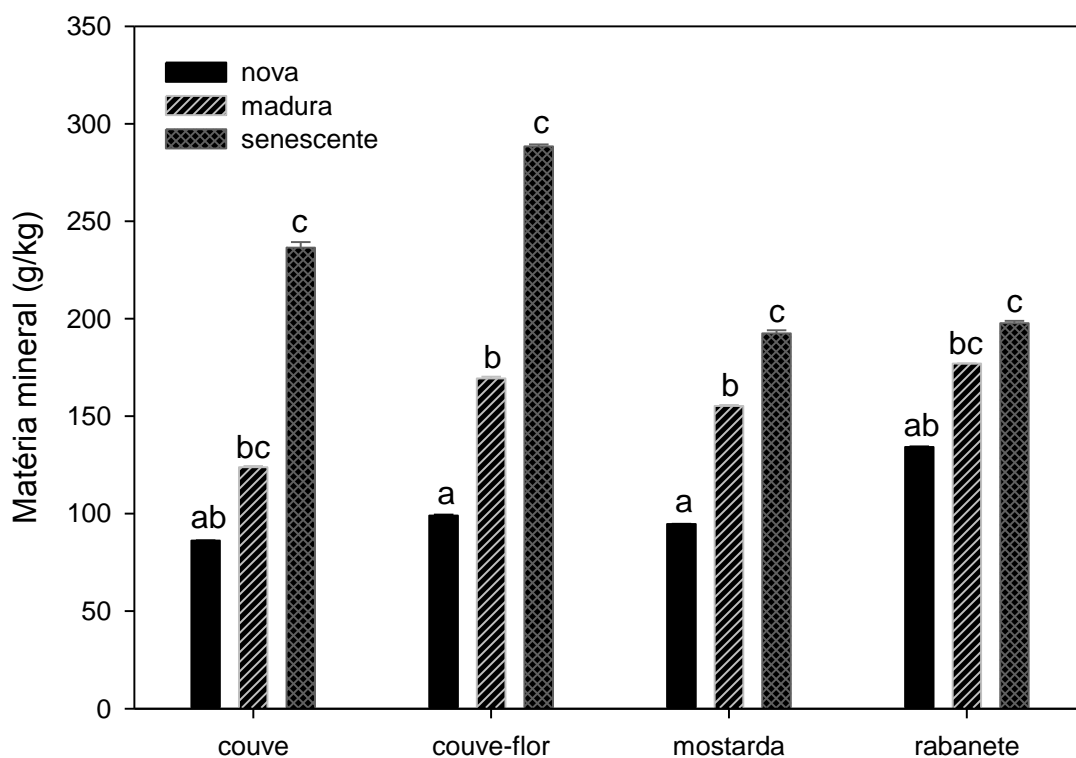


Figura 12 – Concentração de hemicelulose presente nas folhas das três classes etárias de três espécies de brassicáceas cultivadas no campo. Barras e desvio padrão com letras iguais para uma mesma planta indicam que não houve diferença significativa pelo teste de Holm-Sidak a 5% para  $n = 3$  repetições e triplicatas.

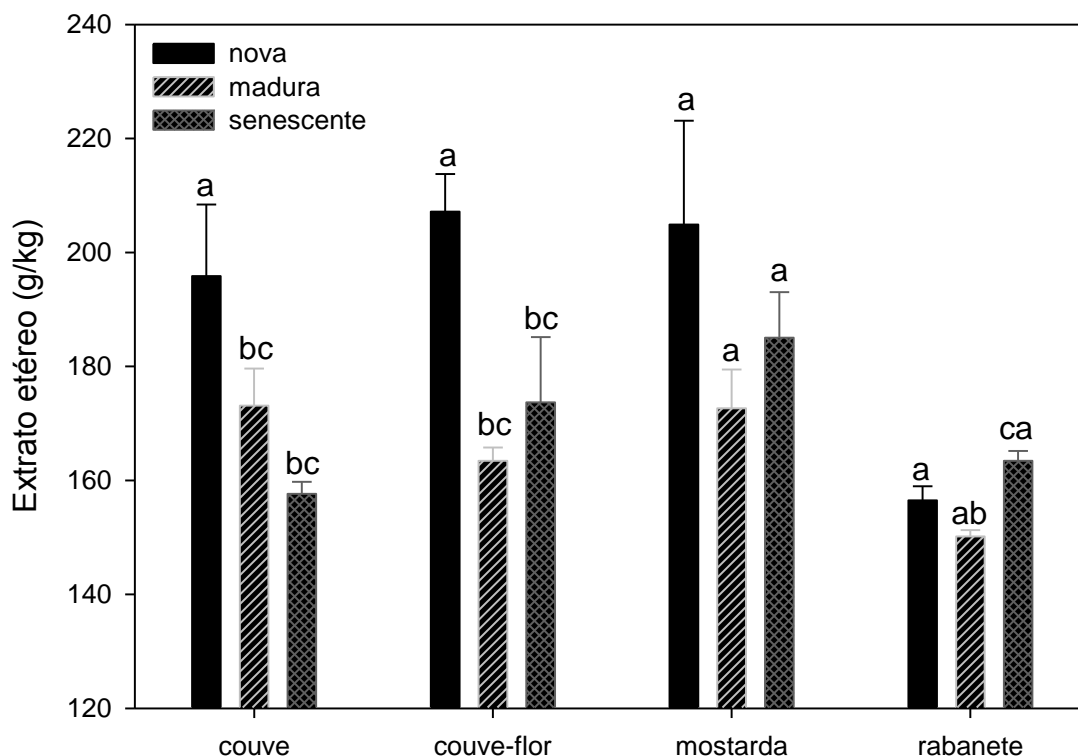
A concentração de extrato etéreo presente nas folhas diminuiu com o envelhecimento foliar de couve e couve-flor. Em ambas as plantas foi encontrada uma maior quantidade de extrato etéreo nas folhas novas, decrescendo com o desenvolvimento das folhas. (Figura 14, couve:  $F_{29,2} = 12,27$ ,  $P = 0,004$ ; couve-flor:  $F_{29,2} = 26,14$ ,  $P < 0,001$ ; mostarda:  $F_{29,2} = 5,38$ ,  $P = 0,046$ ; rabanete:  $F_{29,2} = 6,46$ ,  $P = 0,032$ ).



Idade da folha por tipo de planta

Figura 13 – Concentração de matéria mineral presente nas folhas das três classes etárias de quatro espécies de brassicáceas cultivadas no campo. Barras e desvio padrão com letras iguais para uma mesma planta indicam que não houve diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% para couve e rabanete e Holm-Sidak a 5% para couve-flor e mostarda. Foram amostradas  $n = 3$  repetições e triplicatas.

Contudo, não houve diferença significativa entre folhas maduras e senescentes dessas mesmas plantas. Para mostarda, não houve diferença significativa do conteúdo lipídico total das folhas. Para rabanete, a concentração de lipídeos foi menor nas folhas maduras, quando comparadas à determinada nas folhas senescentes. Não houve diferença significativa na concentração de lipídeos totais em relação às folhas novas.



#### Idade da folha por tipo de planta

Figura 14 – Concentração de extrato etéreo presente nas folhas das três classes etárias de quatro espécies de brassicáceas cultivadas no campo. Barras e desvio padrão com letras iguais para uma mesma planta indicam que não houve diferença significativa pelo teste de Holm-Sidak a 5% para  $n = 3$  repetições e triplicatas.

Os carboidratos totais foram obtidos pela diferença encontrada após a determinação do conteúdo de lipídeos, proteínas totais e matéria mineral. A concentração de carboidratos totais aumentou com o envelhecimento das folhas, para todas as plantas avaliadas (Figura 15, couve:  $F_{29,2} = 18,51$ ,  $P = 0,003$ ; couve-flor:  $F_{29,2} = 20,31$ ,  $P = 0,002$ ; mostarda:  $F_{29,2} = 11,40$ ,  $P = 0,009$ ; rabanete:  $F_{29,2} = 18,70$ ,  $P = 0,003$ ). Em couve-flor e mostarda não houve diferença significativa entre as folhas novas e maduras.

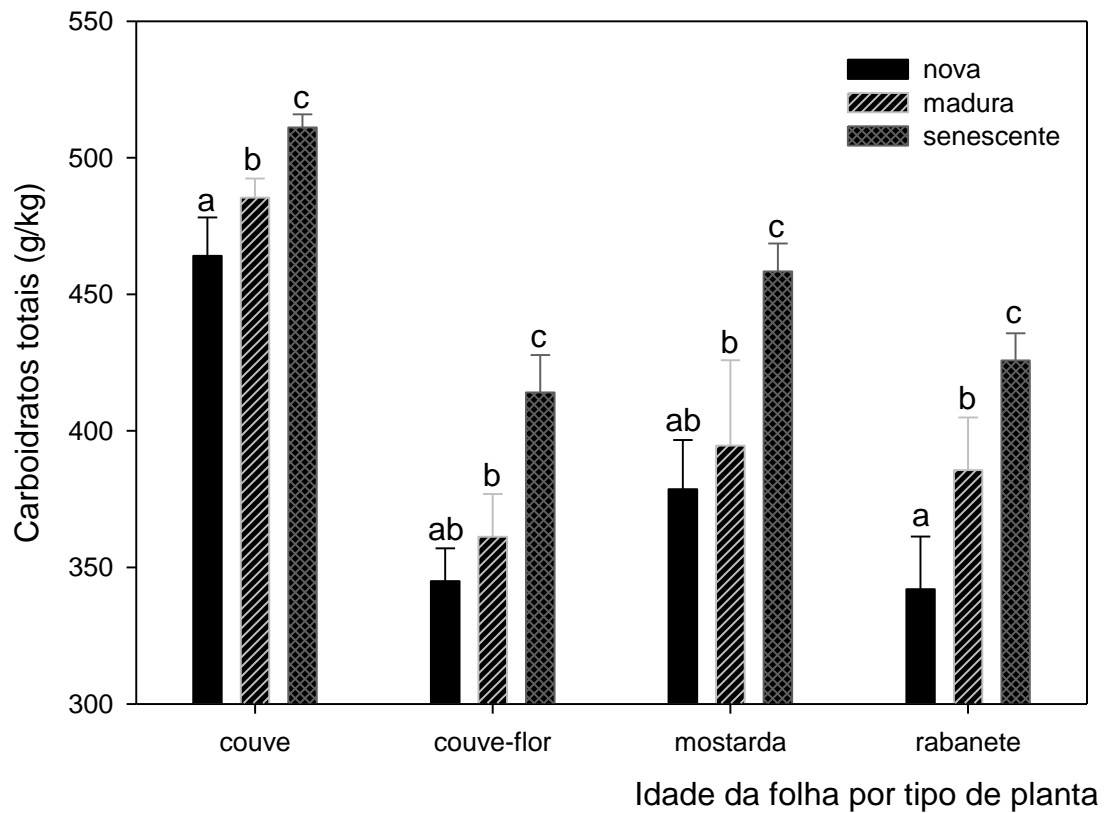


Figura 15 – Concentração de carboidratos totais presentes nas folhas das três classes etárias de quatro espécies de brassicáceas cultivadas no campo. Barras e desvio padrão com letras iguais para uma mesma planta indicam que não houve diferença significativa pelo teste de Holm-Sidak a 5% para  $n = 3$  repetições e triplicatas.

Folhas jovens e outros tecidos das plantas em desenvolvimento devem apresentar níveis mais elevados de nutrientes e de compostos de defesa porque esses tecidos requerem mais recursos para sustentar um rápido crescimento (McKey, 1974; Fenny 1976; Rhoades e Cates, 1976). Nesse sentido, observou-se que o amadurecimento e o envelhecimento foliar das plantas anuais avaliadas afetaram negativamente a qualidade do tecido vegetal. Com o envelhecimento foliar, houve aumento das defesas constitutivas, caracterizadas pelo endurecimento foliar promovido pelo aumento na quantidade de fibras. A digestão de hemicelulose, celulose e lignina podem atuar como redutores de digestibilidade para insetos não xilófagos, uma vez que é desvantajosa para a maioria dos insetos. O fator limitante para o desenvolvimento dos herbívoros é a qualidade da proteína presente na dieta, não o carboidrato. Desse modo, hemicelulose, celulose e lignina podem agir como redutores de digestibilidade para insetos não xilófagos. Insetos que se alimentam em dietas nutricionalmente pobres podem apresentar algum tipo de celulase (Campbell, 1990; Terra e Ferreira, 1994) ou contar com organismos simbiotes auxiliares nesse processo (Martin, 1983;1991). A concentração de carboidratos totais também aumentou com o amadurecimento das folhas. Embora a concentração de carboidratos seja maior nos tecidos foliares mais velhos, eles não se encontram disponíveis para o consumo dos fitófagos. Carboidratos que não estão na forma de açúcares solúveis são empregados, basicamente, no enrijecimento da parede celular, resultando na diminuição da quantidade de nutrientes essenciais disponíveis e atuando como defesas físicas contra a herbivoria (Bezemer e Jones,1998).

Em brássicas, o envelhecimento foliar também afeta a composição e estrutura de outras barreiras físicas. Em geral, a cerosidade da superfície foliar é determinada

pelo teor de alcano e sinigrina (Spencer, 1996; Ulmer et al., 2002). Folhas de alguns gêneros da família Brassicaceae apresentam uma camada cerosa epicuticular espessa (10 µm para a canola, *Brassica napus*) (Städler e Reifenrath, 2009), composta por alcanos de cadeia longa (82% de C29 e 16% de C31), cetonas e alcoóis secundários (Koch et al., 2006). A cutícula cerosa é impermeável ao vapor d'água e aos compostos polares e, praticamente toda troca gasosa realizada por essas folhas, incluindo compostos voláteis emitidos pela planta, ocorrem por meio dos estômatos (Städler e Reifenrath, 2009). Fenótipos que apresentam camadas cuticulares cerosas mais densas sofrem menos ataque herbívoro e reduzem a sobrevivência das larvas que se desenvolvem nessas plantas (Eingenbrode e Espelie, 1995), pois as ceras dificultam a fixação dos insetos na superfície das plantas. Neste trabalho, a concentração de extrato etéreo, que corresponde à quantidade total de compostos apolares presentes nas amostras analisadas, foi maior nas folhas novas de couve e couve-flor. Spencer et al., (1999) demonstrou que os alcanos presentes nas cutículas das brássicas não estimulam a oviposição das fêmeas de *P. xylostella*. Contudo, não há nenhuma demonstração convincente que os glicosinolatos estejam presentes nas ceras que recobrem as folhas das crucíferas, com exceção de *Barbarea vulgaris*, uma espécie de brássica selvagem (Badenes-Pérez et al., 2011), Cultivares de brássicas contendo camadas epicuticulares muito espessas podem atuar como deterrentes de oviposição de *P. xylostella* (Eingenbrode e Espelie, 1995), entretanto, essa não foi a correlação encontrada para a concentração de extrato etéreo e a preferência de oviposição das mariposas nas plantas de mostarda e rabanete. Folhas velhas, com menor concentração de cera, poderiam facilitar a sobrevivência dos ovos. Outros fatores, como a presença de tricomas, podem estar envolvidos na escolha das fêmeas.

Além das barreiras físicas, a planta pode aumentar sua resistência ao ataque de herbívoros e patógenos, reconfigurando seu metabolismo primário (Berenbaum, 1995). A disponibilidade de nutrientes para insetos fitófagos é um dos principais limitantes à sua performance e sucesso reprodutivo. A indução de defesas em couve (*Brassica oleracea*) pela aplicação de ácido jasmônico reduziu os níveis de açúcares e aminoácidos totais e induziu a produção de glicosinolatos. *Pieris rapae*, um lepidóptero especialista, adaptado a glicosinolatos, e *Mamestra brassicae*, um lepidóptero generalista, foram ambos afetados negativamente, pela reconfiguração do metabolismo primário da planta (van Dam e Oomen, 2008). Nitrogênio, água e micronutrientes são os mais importantes constituintes nutricionais para os insetos e seu conteúdo relativo pode afetar a qualidade total da planta para o herbívoro. Partes jovens de plantas estão em pleno desenvolvimento, sendo locais de intensa síntese protéica e outros processos anabólicos, resultando numa rica fonte de alimento para os fitófagos. Em geral, insetos necessitam dos mesmos aminoácidos essenciais requeridos pelos mamíferos, para crescerem e se desenvolverem, sendo estes obtidos a partir das proteínas ingeridas na dieta (Slansky e Feeny, 1977; Mattson, 1980; Chen et al., 2008). Em todas as brássicas avaliadas, as folhas jovens apresentaram uma maior concentração de proteínas totais, com a quantidade decrescendo com o envelhecimento foliar. Lambdon et al., 2003, encontraram o mesmo padrão para folhas emergentes, novas, maduras e senescentes de quatro cultivares de *Brassica napus* e *B. rapa*. A concentração de nitrogênio total reduziu com o envelhecimento das folhas para as duas espécies de crucíferas. Folhas senescentes representam um pequeno reservatório de recursos para a planta, pois os compostos nitrogenados são realocados para as vagens durante o período de floração (Rossato et al., 2001). Nem toda a proteína permanece de forma disponível na planta. Neste trabalho, uma

quantidade de compostos nitrogenados permaneceu indisponível para os insetos em todas as plantas analisadas. A concentração de proteína bruta aderida à fibra em detergente neutro também foi inversamente proporcional ao envelhecimento foliar. A quantidade de matéria mineral foi diretamente proporcional ao envelhecimento foliar. Esse resultado é consistente ao encontrado por Miller-Cebert et al., 2009, em que em três estágios de desenvolvimento de plantas de canola (*B. napus*), dos macronutrientes, K, Na, Ca, Mg e P, apenas a concentração de sódio decresceu com o crescimento da planta.

A qualidade do tecido vegetal é um dos fatores que afeta a fecundidade dos herbívoros (Awmack e Leather, 2002) e os insetos podem compensar a menor disponibilidade de nutrientes em tecidos foliares aumentando o consumo alimentar ou prolongando o período de alimentação (Slansky e Feeny, 1977; Augner, 1995; Winterer e Bergelson, 2001). Neste trabalho, o prolongamento da fase larval ocorrido com o envelhecimento foliar, não assegurou a sobrevivência dos imaturos, nem elevou a fecundidade das fêmeas adultas nas folhas senescentes. Pela hipótese do lento desenvolvimento/alta mortalidade, proposta por Clancy e Price (1987), tecidos vegetais de baixa qualidade, (i) estenderiam o tempo de desenvolvimento do inseto ou aumentariam a proporção de tempo gasto com alimentação, e (ii) o prolongamento do tempo de desenvolvimento e do tempo de alimentação tornariam as lagartas mais vulneráveis a parasitóides, predadores e intempéries (Bernays e Denno, 1997; Bernays, 1997; Scheirs e DeBruyn et al., 2002; Mulatu et al., 2004). A alimentação compensatória também pode ser exibida quando a planta apresenta baixo conteúdo de nitrogênio (Bezemer e Jones, 1998; Whittaker et al., 1999, Coll e Hughes, 2008). A redução na quantidade de proteína bruta e o aumento na concentração de fibras com o envelhecimento foliar podem ter sido fatores causais na

diminuição na qualidade da planta, que contribuíram para o aumento na duração da fase larval e, conseqüente aumento no período de alimentação de *P. xylostella*.

Se a qualidade nutricional varia entre as folhas de uma mesma planta, espera-se que as larvas fossem capazes de discriminar entre folhas que representassem um melhor recurso para o seu crescimento. Contudo, lagartas de segundo instar de *P. xylostella* só apresentaram preferência para folhas jovens em plantas de couve e couve-flor. Para mostarda e rabanete as lagartas não apresentaram nenhuma discriminação entre as folhas. Dados adicionais obtidos em folhas de repolho apontam que não houve diferença significativa na escolha das lagartas de segundo instar entre folhas jovens e maduras. Lagartas de quarto instar não apresentaram preferência para folhas de nenhuma das três classes etárias, para as plantas avaliadas. Em testes de escolha, já foi demonstrado que lagartas de *P. xylostella* foram capazes de realizar escolhas e foram fortemente atraídas por discos de folhas induzidas a apresentar elevadas concentrações de glicosinolatos (Mathur et al., 2011).

A hipótese do envelhecimento da planta prediz que insetos herbívoros especialistas preferem e apresentam melhor performance em plantas novas e partes jovens de suas plantas hospedeiras do que em plantas ou folhas mais velhas (Karban, 1990; Scheirs et al., 2002; Campos et al., 2003). Embora a fecundidade não tenha apresentado forte diferença entre as classes etárias para qualquer uma das plantas, folhas novas asseguraram uma maior sobrevivência e um tempo de desenvolvimento mais curto para *P. xylostella*. O padrão decrescente encontrado para a taxa reprodutiva líquida  $R_0$  e para a taxa instantânea de crescimento populacional com o envelhecimento foliar está de acordo com as predições da hipótese do envelhecimento da planta.

Embora haja correlações positivas entre performance da prole e preferência de oviposição das fêmeas (Carr et al., 1988; Thompson e Pellmyr, 1991; Stein e Price, 1995; Nylin et al., 1996; Heisswolf et al., 2005; Staley et al., 2009; Karungi et al., 2010; Sadek, 2011) muitos outros relatos (Thompson, 1988; Courtney e Kibota, 1989; Mayhew, 1997; Jallow e Zalucki, 2003; Rajapakse e Walter, 2007; Clark et al., 2011) rejeitam a hipótese que fêmeas preferem ovipositar em locais onde as larvas terão acesso a um recurso de melhor qualidade. De fato, não se verificou um padrão entre o local escolhido para oviposição e as folhas de melhor qualidade para o desenvolvimento das lagartas de *P. xylostella*. Para duas das plantas hospedeiras, couve e couve-flor, as mariposas preferiram ovipositar nas folhas de pior qualidade para a prole, resposta oposta encontrada para as plantas de mostarda e rabanete. Explicações alternativas para a ausência de um padrão para preferência de oviposição e performance da prole não se aplicam a *P. xylostella*: (i) Fêmeas de algumas espécies de insetos que se alimentam quando adultas, preferiram ovipositar onde o recurso é melhor para si, independente da performance das lagartas. Lagartas e fêmeas adultas se alimentariam de recursos diferentes e, nesse caso, as fêmeas se desenvolveriam a custa da performance da prole, alocando energia para reprodução (Scheirs e DeBruyn, 2002; Jervis et al., 2008). *P. xylostella* não se alimenta depois de adulta; (ii) Insetos polívoros apresentariam uma capacidade neural reduzida para discriminar entre múltiplas opções quando comparados a insetos mais especializados na utilização do recurso alimentar (Bernays, 1998; 2001), o que não é o caso de *P. xylostella*.

Mães e larvas também podem ter interesses conflitantes (Trivers, 1974), mas há poucos estudos correlacionando preferência e performance larval. E, em geral, essas pesquisas comparam plantas de diferentes espécies, que diferem em vários

aspectos constitutivos. Shikano et al (2010) realizaram testes de escolha e não-escolha com larvas e fêmeas adultas de *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae), um inseto generalista, em seis plantas de cinco famílias diferentes. Nesse caso, tanto as larvas quanto as mariposas demonstraram preferência em se alimentar e ovipositar em couve e couve-chinesa (*B. rapa*), plantas consideradas hospedeiras naturais de *T. ni*. Contudo, lagartas são pequenas e apresentam mobilidade limitada para escolher entre plantas em condições de campo.

Em nosso estudo, esperávamos que houvesse correlação positiva entre a preferência das larvas e das mariposas de *P. xylostella*, entretanto, essa resposta não foi encontrada. E mesmo que a correlação tenha sido negativa, ela deve ser considerada dentro de um contexto ecológico, como interações tritróficas. Uma folha, a princípio considerada como um recurso de baixa qualidade nutricional poderia ser preferida por razões adaptativas. A arquitetura da planta pode fornecer abrigo contra parasitóides e predadores (Björkman et al., 1997; Denno et al., 1990; Lima e Dill, 1990; Nomikou et al., 2003; Heisswolf et al., 2005; Van Mele et al., 2009) e competidores (Wise e Weinberg, 2002) e fatores abióticos, como o microclima (Willmer et al., 1996).

Em geral, nas condições controladas de laboratório, indivíduos tratados em folhas mais velhas apresentaram chances reduzidas de sobrevivência e de deixar descendentes, portanto, tiveram menor aptidão darwiniana do que indivíduos tratados em folhas mais novas.

## .....*Conclusão*

Neste trabalho foi verificado que o envelhecimento foliar de quatro espécies de brássicas afetou negativamente todos os parâmetros avaliados da história de vida de *P. xylostellata*, resultando na redução do sucesso reprodutivo e do potencial de crescimento populacional. A qualidade nutricional foi inversamente proporcional ao envelhecimento foliar e interferiu negativamente no desenvolvimento do inseto. Embora as lagartas de primeiro instar tenham preferido as folhas mais novas das plantas hospedeiras, as mariposas preferiram ovipositar em folhas de pior qualidade, para duas das plantas avaliadas. É possível que a arquitetura dessas plantas exija que as fêmeas busquem abrigo contra inimigos naturais ou evitem que variações bruscas no microclima que afetem a sobrevivência da prole.

## .....*Referências Bibliográficas*

- Agrawal, A.A., Conner, J.K., Johnson, M.T.J., Wallsgrove, R. 2002. Ecological genetics of an induced plant defense against herbivores: additive genetic variance and costs of phenotypic plasticity. *Evolution* 56: 2206–13.
- Ambrosone, C.B., McCann, S.E., Freudenheim, J.L., Marshall, J.R., Zhang, Y., Shields, P.G. 2004. Breast cancer risk in premenopausal women is inversely associated with consumption of broccoli, a source of isothiocyanates, but is not modified by GST genotype. *Journal of Nutrition*. 134: 1134–1138.
- Ankersmit, G.W. 1953. DDT resistance in *Plutella maculipennis* (Curt.) (Lepidoptera) in Java. *Bulletin of Entomological Research* 44: 421-425.
- Association Official Analytical Chemists. 1980. Official methods of analysis. AOAC, Washington.
- Association Official Analytical Chemists. 1984. Official methods of analysis. AOAC, Washington.
- Augner, M. 1995. Low nutritive quality as a plant defence: effects of herbivore-mediated interactions. *Evolution Ecology* 9: 605-616.
- Awmack, C.S., Leather, S.R. 2002. Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annual Review of Entomology* 47: 817-844.
- Badenes-Pérez, F.R., Reichelt, M., Gershenson, J., Heckel, D.G. 2011. Phylloplane location of glucosinolates in *Barbarea* spp. (Brassicaceae) and misleading assessment of host suitability by a specialist herbivore *New Phytologist* 189: 549–556.
- Barros, R., Albert Júnior, I.B., Oliveira, A.J., Souza, A.C.F., Loges, V. 1993. Controle químico da traça das crucíferas, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) em repolho. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 22(3): 463-469.
- Bernays, E.A. 1998. The value of being a resource specialist: behavioral support for a neural hypothesis. *American Naturalist* 15: 451–464.
- Bernays, E.A., Chapman, R.F. 1994. Host-plant selection by phytophagous insects. - Chapman & Hall.
- Bernays, E.A. 2001 Neural limitations in phytophagous insects: implications for diet breadth and evolution of host affiliation. *Annual Review of Entomology* 46: 703–727.

- Berenbaum, M.R. 1995. Turnabout is fair play: secondary roles for primary compounds. *Journal of Chemical Ecology* 21: 925–940.
- Bezemer, T.M., Jones, T.H. 1998. Plant-insect herbivore interactions in elevated atmospheric CO<sub>2</sub>: quantitative analyses and guild effects. *Oikos*. 82: 212-222.
- Björkman, C., Larsson, S., Bommarco, R. 1997. Oviposition preferences in pine sawflies: a trade-off between larval growth and defence against natural enemies. *Oikos* 79: 45–52.
- Boivin, K., Acarkan, A., Mbulu, R.S., Clarenz, O., Schmidt, R. 2004. The *Arabidopsis* genome sequence as a tool for genome analysis in *Brassicaceae*. A comparison of the *Arabidopsis* and *Capsella rubella* genomes. *Plant Physiology* 135(2): 735-44.
- Bondar, G. 1928. Uma séria praga do repolho na Bahia *Plutella maculipennis* Curtis. *Chácaras e Quintais*. São Paulo: 38(6): p.602.
- Bones, A.M., Rossiter, J.T. 1996. The myrosinase-glucosinolate system - an innate defense system in plants. *Physiol Plantarum* 97(1): 194-208.
- Brown, P.D., Tokuhisa, J.G., Reichelt, M., Gershenzon, J. 2003 Variation of glucosinolate accumulation among different organs and developmental stages of *Arabidopsis thaliana*. *Phytochemistry* 62: 471-481.
- Campbell, D.C. 1990. On the role of microbial symbiontes in herbivorous insects. In: Bernays, E.A. (ed.), *Insect-plant interactions*. Vol. I. CRC Press, pp 1-44.
- Campos, W.G., Schoederer, J.H., Picanço, M.C. 2003. Performance of an oligophagous insect in relation to the age of the host plant. *Neotropical Entomology* 32: 671-676.
- Campos, W.G., Schoederer, J.H., Sperber, C.F. 2004. Does the age of the host plant modulate migratory activity of *Plutella xylostella*? *Entomological Science* 7: 323-329.
- Cartea, M.E., Francisco, M., Soengas, P., Velasco, P. 2011. Phenolic compounds in *Brassica* vegetables. *Molecules* 16: 251-280.
- Castelo Branco, M., França, F.H. 2001. Traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). In: Vilela, E.F., Zucchi, R.A., Cantor, F. (eds.). *Pragas introduzidas no Brasil*. Ribeirão Preto: Holos, pp. 85-89.
- Castelo Branco, M., Guimarães, A.L. 1990. Controle da traça das crucíferas em repolho. *Horticultura Brasileira* 10(1): 24-25.

- Charleston, D.S., Kfir, R., Vet, L.E.M., Dicke, M. 2005. Behavioural responses of diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) to extracts derived from *Melia azedarach* and *Azadirachta indica*. *Bulletin of Entomological Research* 95: 457–465.
- Clancy, K.M., Wagner, M.R., Tinus, R.W. 1988. Variation in host foliage nutrient concentrations in relation to western spruce budworm herbivory. *Canadian Journal of Forest Research* 18: 530-539.
- Clark, K.E., Hartley, S.E., Johnson, S. 2011. Does mother know best? The preference–perform hypothesis and parent–offspring conflict in aboveground–belowground herbivore life cycles. *Ecological Entomology* 36: 117–124.
- Cogbill, S., Faulcon, T., Jones, G., McDaniel, M., Harmon, G., Blackmon, R., Young, M. 2010. Adventitious shoot regeneration from cotyledonary explants of rapid-cycling fast plants of *Brassica rapa* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 101: 127–133.
- Coley, P.D. 1980. Effect of leaf age and plant life history patterns on herbivory. *Nature* 284: 545-546.
- Coll, M., Hughes, L. 2008. Effects of elevated CO<sub>2</sub> on an insect omnivore: A test for nutritional effects mediated by host plants and prey. *Agriculture, Ecosystems e Environment* 123 (4): 271-279
- Courtney, S.P., Kibota, T.T. 1990. Mother doesn't know best: selection of hosts by ovipositing insects. In: Bernays, E.A. (ed.), *Insect-plant interactions*. Vol. II. CRC Press, pp. 161-188.
- Danthanarayana, W. 1986. Chapter 7: Lunar Periodicity of Insect Flight and Migration. In: Danthanarayana, W (ed.) *Insect Flight: Dispersal and Migration*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp. 88-119.
- Denno, R.F., Larsson, S., Olmstead, K.L. 1990. Role of enemy-free space and plant quality in host-plant selection by willow beetles. *Ecology* 71: 124–137.
- Eigenbrode, S.D., Espelie, K.E. 1995. Effects of plant epicuticular lipids on insect herbivores. *Annual Review of Entomology* 40: 171–194.
- Facknath, S. 2005. Leaf age and life history variables of a leafminer: the case of *Liriomyza trifolii* on potato leaves. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 115: 79-87.

- Fahey, J.W., Zalcmann, A.T., Talalay, P. 2001. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry* 56: 5–51.
- Feeny, P. 1976. Plant apparency and chemical defense. – In: *Biochemical interactions between plants and insects*. Wallace, J. W. and Mansel, R. L. (eds) Plenum, pp. 1-40.
- Filgueira, F.A.R. 2006. *Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças*. 2. ed. Viçosa. MG: Universidade Federal de Viçosa. 412 p.
- Franzke, A., Lysak, M.A.; Al-Shehbaz, I.A.; Koch, M.A.; Mummenhoff, K. 2011. Cabbage family affairs: the evolutionary history of *Brassicaceae*. *Trends in Plant Science* 16(2): 108-116.
- Goodwin, S., Danthanarayana, W. 1984. Flight Activity of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Journal of the Australian Entomological Society* 23: 235-240.
- Halkier, B.A., Gershenzon, J. 2006. Biology and biochemistry of glucosinolates. *Annual Review of Plant Biology* 57: 303-333.
- Harcourt, D.G. 1957. Biology of diamondback moth, *Plutella maculipennis* (Curt.) (Lepidoptera: Plutellidae), in Eastern Ontario. II. Life history, behavior, and host relationships. *Canadian Entomologist* 89: 554-564.
- Harcourt, D.G. 1957. Biology of the Diamondback Moth, *Plutella maculipennis* (Curt.) (Lepidoptera: Plutellidae), in Eastern Ontario. II. Life-History, Behavior, and Host Relationships. *Canadian Entomology* 89: 554-564.
- Harcourt, D.G., 1962. Biology of Cabbage caterpillars in Eastern Ontario. *Proceedings of the Entomological Society of Ontario*, 93: 67-75.
- Harcourt, D.G., LeRoux, E.J. 1967. Population regulation in insects and man. *American Scientist* 55: 400-415.
- Hardy, J.E. 1938. *Plutella maculipennis* Curt. its natural and biological control in England. *Bulletin of Entomological Research* 29: 343-372.
- Hayes, J.D., Kelleher, M.O. 2008. Eggleston, I.M. The cancer chemopreventive actions of phytochemicals derived from glucosinolates. *European Journal of Nutrition* 47: 73–88.

- Heisswolf, A., Obermaier, E., Poethke, H.J. 2005. Selection of large host plants for oviposition by a monophagous leaf beetle: nutritional quality or enemy-free space? *Ecological Entomology* 30: 299–306.
- Ho, T.H. 1965. The Life-History and Control of the Diamondback moth in Malaya. Bulletin n. 118, Division of Agriculture Malaysia. 26 p.
- Holst, B., Williamson, G. 2004. A critical review of the bioavailability of glucosinolates and related compounds. *Natural Products Reports* 21: 425-447.
- Hopkins, R.J., van Dam, N.M., van Loon, J.J.A. 2009. Role of glucosinolates in insect-plant relationships and multitrophic interactions. *Annual Review of Entomology* 54: 57–83.
- Howe, R. W. 1953. The rapid determination of the intrinsic rate of increase of an insect population. *Annual Applied Biology* 40: 134-151.
- Iwasa, Y., Kubo, T. 1996. Optimal level of chemical defense decreasing with leaf age. *Theoretical and Population Biology* 50: 124-148.
- Jahangir, M., Kim, H.K., Choi, Y.H., Verpoorte, R. 2009. Health-Affecting Compounds in *Brassicaceae*. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 8: 31-43.
- Jervis, M.A., Ellers, J., Harvey, J.A. 2008. Resource acquisition, allocation, and utilization in parasitoid reproductive strategies. *Annual Review of Entomology* 53: 361–385.
- Johnson, D.R. 1953. *Plutella maculipennis* resistance to DDT in Java. *Journal of Economical Entomology* 46: 176.
- Joseph, M.A., Moysich, K.B., Freudenheim, J.L., Shields, P.G., Bowman, E.D., Zhang, Y., Marshall, J.R., Ambrosone, C.B. 2004. Cruciferous vegetables, genetic polymorphisms in glutathione S-transferases M1 and T1, and prostate cancer risk. *Nutritional and Cancer* 50: 206–213.
- Karban, R. 1990. Herbivore outbreaks on only young trees: testing hypotheses about ageing and induced resistance. *Oikos* 59: 27-32.
- Karban, R., Thaler, J.S. 1999. Plant phase change and resistance to herbivory. *Ecology* 80: 510-517.
- Karungi, J., Lubanga, U.K., Kyamanywa, S., Ekbom, B. 2010. Oviposition preference and offspring performance of *Crocidolomia pavonana* (Lepidoptera:

- Pyralidae) on different host plants. *Journal of Applied Entomology* 134: 704–713.
- Kawakishi, S., Kaneko, T. 1987. Interaction of proteins with allyl isothiocyanate. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 35: 85–88.
- Kearsley, M.J.C., Whitham, T.G. 1989. Developmental changes in resistance to herbivory: implications for individuals and populations. *Ecology* 70: 422-434.
- Koch, K., Hartmann, K.D., Schreiber, L., Barthlott, W., Neinhuis, C. 2006. Influences of air humidity during the cultivation of plants on wax chemical composition, morphology and leaf surface wettability. *Environment Experimental Botany* 56(1):1–9.
- Lambdon, P.W., Hassall, M., Boar, R.R., Mithen, R. 2003. Asynchrony in the nitrogen and glucosinolate leaf-age profiles of *Brassica*: is this a defensive strategy against generalist herbivores? *Agriculture, Ecosystems and Environment* 97: 205–214.
- Lim, G.S. 1986. Biological control of Diamondback moth. In: Talekar N.S., *Management of Diamondback moth and other crucifers pests: Proceedings of the first International Workshop, 11-15 mars, 1985*, p.159-171. Tainan, Taiwan. Asian Vegetable Research and Development Center.
- Lima, S.L., Dill, L.M. 1990. Behavioral decisions made under the risk of predation – a review and prospectus. *Canadian Journal of Zoology* 68: 619–640.
- Lorenzi, H. 2006. Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas. 3. ed., Nova Odessa: Instituto Plantarum, 608 p.
- Mathur, V., Ganta, S., Raaijmakers, C.E.; Reddy, A.S., Vet, L.E.M., van Dam, N.M. Temporal dynamics of herbivore-induced responses in *Brassica juncea* and their effect on generalist and specialist herbivores. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 139: 215–225, 2011.
- Marsh, R.E., Waser, J. 1970. Refinement of the crystal structure of sinigrin. *Acta Crystallographica Section B* 26: 1030–1037.
- Martin, M.M. 1983. Cellulose digestion in insects. *Comparative Biochemistry and Physiology A* 75:281-288.,
- Martin, M.M. 1991. The evolution of cellulose digestion in insects. *Philosophical Transactions of Royal Society of London B* 333: 281-288.

- Mattson, W.J. 1980. Herbivory in relation to plant nitrogen content. *Annual Review of Ecology and Systematics* 11:119-161.
- Mayhew, P. J. 1997. Adaptive patterns of host-plant selection by phytophagous insects. *Oikos* 79: 417-428.
- McKey, D. 1974. Adaptive patterns in alkaloid physiology. *American Naturalist* 108: 305-320.
- Medeiros, P.T., Dias, J.M.C.S., Monnerat, R.G., Souza, M.R. 2003. Instalação e manutenção de criação-massal de traça-das-crucíferas (*Plutella xylostella*). Embrapa Recursos Genéticos e Tecnologia. (Circular Técnica 29). Disponível em: <<http://www.cenargen.embrapa.br/publica/trabalhos/ct029.pdf>>. Acessado em: março de 2011.
- Melo, P.E., Castelo Branco, M., Madeira, N.R. 1994. Avaliação de genótipos de repolho para a resistência à traça das crucíferas. *Horticultura Brasileira*. 12(1): 19-24.
- Mewis, I., Apple, H.M., Hom, A., Raina, R., Schultz, J.C. 2005. Major signaling pathways modulate Arabidopsis glucosinolate accumulation and response to both phloem-feeding and chewing insects. *Plant Physiology*. 138: 1149–62.
- Miller-Cebert, R.L., Sistani, N.A, Cebert, E. 2009. Comparative mineral composition among canola cultivars and other cruciferous leafy greens. *Journal of Food Composition and Analysis* 22(2): 112-116.
- Mohan, M., Gujar, G.T., 2003a. Characterization and comparison of midgut proteases of *Bacillus thuringiensis* susceptible and resistant diamondback moth (Plutellidae: Lepidoptera). *Journal of Invertebrate Pathology* 83: 1–11.
- Mohan, M., Gujar, G.T., 2003b. Local variation in susceptibility of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus) to insecticides and detoxification enzymes. *Crop Protection* 22: 495–504.
- Monnerat, R.G., Leal-Bertioli, S.C.M., Bertioli, D.J., Butt, T. M., Bordat, D. 2004. Caracterização de populações geograficamente distintas da traça-das-crucíferas por suscetibilidade ao *Bacillus thuringiensis* Berliner e RAPD-PCR. *Horticultura Brasileira* 22(3): 607-609.
- Mota-Sanchez, D., Bills, P.S., Whalon, M.E., 2002. Arthropod resistance to pesticides: status and overview. In: Wheeler, W.B. (Ed.), *Pesticides in Agriculture and the Environment*. Marcel Dekker, NY, USA, pp.127–214.

- Musgrave, M. 2000. Realizing the potential of rapid-cycling *Brassica* as a model system for use in plant biology research. *Journal of Plant Growth Regulation* 19: 314–325.
- Mylius, S.D., Diekmann, O. 1995. On evolutionarily stable life histories, optimization and the need to be specific about density dependence. *Oikos* 74: 218-224.
- Navarro, S.L., Li, F., Lampe, J.W. 2011. Mechanisms of action of isothiocyanates in cancer chemoprevention: an update. *Food and Function* 2: 579-587.
- Nel, A., Krause, M., Ramautar, N., van Zyl, K. 1999. A guide for the control of plant pests. National Department of Agriculture, Republic of South Africa.
- Nomikou, M., Janssen, A. Sabelis, M.W. 2003. Herbivore host plant selection: whitefly learns to avoid host plants that harbour predators of her offspring. *Oecologia* 136: 484–488.
- Podsdek, A. 2007. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *Lwt-Food Science and Technology* 40: 1-11.
- Rajapakse, C.N.K., Walter, G.H. 2007. Polyphagy and primary host plants: oviposition preference versus larval performance in the lepidopteran pest *Helicoverpa armigera*. *Arthropod-Plant Interact* 1:17–26
- Rangkadilok, N., Nicolas, M. E., Bennett, R.N., Premier, R.R., Eagling, D. R., Taylor, P.W. J. 2002. Developmental changes of sinigrin and glucoraphanin in three *Brassica* species (*Brassica nigra*, *Brassica juncea* and *Brassica oleracea* var. *italica*). *Scientia Horticulturae* 96: 11-26.
- Ratzka, A., Vogel, H., Kliebenstein, D.J., Mitchell-Olds, T., Kroymann, J., 2002. Disarming the mustard oil bomb. *Proceedings of National Academics of Sciences USA* 99: 11223–11228.
- Raupp, M.J., Denno, R.F. 1983. Leaf age as a predictor of herbivore distribution and abundance. In: *Variable plants and herbivores in natural and managed systems*. Denno, R. F. McClure, M. S. (eds.) Academic, pp. 91-124.
- Razis, A.F.A., Bagatta, M., Nicola, Gina, R. De., Iori, R., Ionannides, C. 2010. Intact glucosinolates modulate hepatic cytochrome P450 and phase II conjugation activities and may contribute directly to the chemopreventive activity of cruciferous vegetables. *Toxicology* 277: 74-85.
- Rhoades, D.F., Cates, R.G. 1976. Toward a general theory of plant anti-herbivore chemistry. In: *Biochemical interactions between plants and insects*. Wallace, J. W. and Mansel, R. L. (eds) Plenum, pp 168-213.

- Robertson, P.L. 1939. Diamondback moth investigation in New Zealand. *New Zealand Journal of Science and Technology* 20: 330-364.
- Rossato, L., Laine, P., Ourry, A., 2001. Nitrogen storage and remobilization in *Brassica napus* L. during the growth cycle: nitrogen fluxes within the plant and changes in soluble protein patterns. *Journal of Experimental Botany* 52: 1655–1663
- Sadek, M.M., 2011. Complementary Behaviors of Maternal and Offspring *Spodoptera littoralis*: Oviposition Site Selection and Larval Movement Together Maximize Performance. *Journal of Insect Behaviour* 24: 67–82.
- Sarfraz, M., Keddie, B.A., 2005. Conserving the efficacy of insecticides against *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Applied Entomology* 129: 149–157.
- Sayyed, A.H., Omar, D., Wright, D.J., 2004. Genetics of spinosad resistance in a multi-resistant field selected population of *Plutella xylostella*. *Pest Management Science* 60, 827–832.
- Scheirs, J., DeBruyn, L., Verhagen, R. 2002a. Seasonal changes in leaf nutritional quality influence grass miner performance. *Ecological Entomology* 27: 84-93.
- Scheirs, J. DeBruyn, L. 2002b. Integrating optimal foraging and optimal oviposition theory in plant–insect research. *Oikos* 96: 187–191.
- Schroeder, P.C., Shelton, A.M., Ferguson, C.S., Hoffmann, M.P., Petzoldt, C.H., 2000. Application of synthetic sex pheromone for management of diamondback moth, *Plutella xylostella*, in cabbage. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 94, 243–248.
- Shelton, A.M., 2004. Management of the diamondback moth: déjà vu all over again? In: Endersby, N.M., Ridland, P.M. (Eds.), *The Management of Diamondback Moth and Other Crucifer Pests Proceedings of the Fourth International Workshop, 26–29 November 2001*. Department of Natural Resources and Environment, Melbourne, Australia, pp. 3–8.
- Shikano, I., Akhtar, Y., Isman, M.B. 2010. Relationship between adult and larval host plant selection and larval performance in the generalist moth, *Trichoplusia ni*. *Arthropod-Plant Interactions* 4: 197–205.
- Silva, D.J., Queiroz, A.C. *Análises de alimentos (métodos químicos e biológicos)*. 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2002. 235p.

- Slansky, F. Feeny, P. 1977. Stabilization of the nitrogen accumulation by larvae of the cabbage butterfly on wild and cultivated food plants. – *Ecological Monographs* 47: 209-228.
- Smallegange, R.C., van Loon, J.J.A., Blatt, S.E., Harvey, J.A., Agerbirk, N., Dicke, M. 2007. Flower vs leaf feeding by *Pieris brassicae*: Glucosinolate-rich flower tissues are preferred and sustain higher growth rate. *Journal of Chemical Ecology* 33: 1831–1844.
- Spencer, J. L. 1996. Waxes enhance *Plutella xylostella* oviposition in response to sinigrina and cabbage homogenates. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 81(2): 165-173.
- Souza, V.C., Lorenzi, H. 2005. *Botânica Sistemática-Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II*, Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda., Nova Odessa, SP. pp. 403-404.
- Spencer, J.L., Pillai, S., Bernays, E.A. 1999. Synergism in the oviposition behavior of *Plutella xylostella*: sinigrin and wax compounds. *Journal Insect Behaviour* 12(4):483–500.
- Spiegel, L.H., Price, P.W. 1996. Plant ageing and the distribution of *Rhyacionia neomexicana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Environmental Entomology* 25: 359-365.
- SPSS Inc., 2006. *SigmaPlot 2006 user's guide. Version 10.0 (Revisited Edition)*. SPSS Inc., Chicago.
- Spitz, M.R., Duphorne, C.M., Detry, M.A., Pillow, P.C., Amos, C.I., Lei, L., de Andrade, M., Gu, X., Hong, W.K., Wu, X. 2000. Dietary intake of isothiocyanates: evidence of a joint effect with glutathione-S-transferase polymorphisms in lung cancer risk. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*. 9: 1017–1020.
- Staley, J.T., Stewart-Jones, A., Poppy, G.M., Leather, S.R., Wright, D.J. 2009. Fertilizer affects the behaviour and performance of *Plutella xylostella* on brassicas. *Agricultural and Forest Entomology* 11: 275–282.
- Tabashnik, B.E. 1994. Evolution of resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annual Review of Entomology* 39, 47–79.
- Talekar, N.S., Shelton, A.M., 1993. Biology, ecology, and management of the diamondback moth. *Annual Review of Entomology* 38: 275–301.

- Terra, W.R., Ferreira, C. 1994, Insect digestive enzymes: properties, compartmentalization and function., *Comparative Biochemistry and Physiology B* (109): 1-62
- “The Arabidopsis Genome Initiative”, 2000. Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature* 408: 796-815.
- Thompson, J.N., Pellmyr, O. 1991. Evolution of oviposition behaviour and host preference in Lepidoptera. *Annual Review of Entomology* 36: 65-89.
- Trivers, R.L. 1974. Parent–offspring conflict. *American Zoologist*, 14, 249–264.
- Ulmer, B.C., Gillot, C., Woods, D., Erlandson, M. 2002. Diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.), feeding and oviposition preferences on glossy and waxy *Brassica rapa* (L.) lines. *Crop Protection* 21(4): 327-331.
- van Dam, N.M., Raaijmakers, C.E., van der Putten, W.H. 2005. Root herbivory reduces growth and survival of the shoot feeding specialist *Pieris rapae* on *Brassica nigra*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 115:161–70
- van Dam, N.M., Oomen, M.W.A.T. 2008. Root and shoot jasmonic acid applications differentially affect leaf chemistry and herbivore growth. *Plant Signaling & Behavior* 3: 91–98.
- van Dam, N.M., Tytgat, T.O.G., Kirkegaard, J. 2009. Root and shoot glucosinolates: a comparison of their diversity, function and interactions in natural and managed ecosystems. *Phytochemistry Reviews* 8(1): 171-186.
- van Leur, H., Raaijmakers, C.E., van Dam, N.M. 2006. A heritable glucosinolate polymorphism within natural populations of *Barbarea vulgaris*. *Phytochemistry* 67: 1214–23
- van Mele, P., Vayssières, J.F., Adandonon, A., Sinzogan, A. 2009. Ant cues affect the oviposition behaviour of fruit flies (Diptera: Tephritidae) in Africa. *Physiological Entomology* 34: 256–261.
- van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and no starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74: 3583–3597.
- Vickers, R.A., Furlong, M.J., White, A., Pell, J.K., 2004. Initiation of fungal epizootics in diamondback moth populations within a large field cage: proof of concept of auto-dissimination. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 111: 7–17.

- Waltz, A.M. Whitham, T.G. 1997. Plant development affects arthropod communities: Opposing impacts of species removal. *Ecology* 78: 2133-2144.
- Whittaker, J.B. 1999. Impacts and responses at population level of herbivorous insects to elevated CO<sub>2</sub>, *European Journal of Entomology* 96: 149–156.
- Willmer, P.G., Hughes, J.P., Woodford, J.A.T., Gordon, S.C. 1996. The effects of crop microclimate and associated physiological constraints on the seasonal and diurnal distribution patterns of raspberry beetle (*Byturus tomentosus*) on the host plant *Rubus idaeus*. *Ecological Entomology* 21: 87-97.
- Winterer, J., Bergelson, J. 2001. Diamondback moth compensatory consumption of proteinase inhibitor-transformed plants. *Molecular Ecology* 10: 1069-1074.
- Wise, M.J., Weinberg, A.M. 2002. Prior flea beetle herbivory affects oviposition preference and larval performance of a potato beetle on their shared host plant. *Ecological Entomology* 27: 115–122.
- Yu, S.J., Nguyen, S.N., 1992. Detection and biochemical characterization of insecticide resistance in the diamondback moth. *Pesticide Biochemistry of Physiology* 44, 74–81.
- Zhang, Y. The molecular basis that unifies the metabolism, cellular uptake and chemopreventive activities of dietary isothiocyanates. *Carcinogenesis* 33(1): 2-9, 2012.
- Zhao, J.Z., Li, Y.X., Collins, H.L., Gusukuma-Minuto, L., Mau, R.F.L. Thompson, G., Shelton, A.M. 2002. Monitoring and characterization of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) resistance to spinosad. *Journal of Economic Entomology* 95: 430-436.