

# EFEITO DE COMPOSTOS FITOQUÍMICOS NA INTENSIDADE DE ATAQUE DE *Coccus viridis* AO CAFÉ

Flávio L. FERNANDES<sup>1</sup>; Marcelo C. PICANÇO<sup>1</sup>, E-mail: picanco@ufv.br; Sérgio T. V. MAGALHÃES<sup>1</sup>; Maria Elisa SENA<sup>1</sup>; Pablo C. GONTIJO<sup>1</sup>; Vânia Maria XAVIER<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Biologia Animal, Viçosa, MG

## Resumo:

A cochonilha verde *Coccus viridis* (Green) (Hemiptera: Coccidae) causa problemas em plantas jovens de *Coffea arabica* e em partes do dossel com baixa luminosidade. Os níveis de compostos fitoquímicos nas folhas podem influenciar a intensidade de ataque de *C. viridis*. Assim este trabalho teve por objetivo estudar as relações entre os teores de ácido cafeico, cafeína e ácido clorogênico sobre o ataque de *C. viridis* nas folhas de *Coffea arabica*. Esta pesquisa foi conduzida em casa de vegetação. Utilizaram-se adubações de nitrogênio e de potássio em deficiência, normal e excessiva. Semanalmente, contaram-se os números de adultos e de ninfas nas plantas. Realizou-se análise de trilha para verificar as relações de causa e efeito. Verificou-se que com o aumento dos teores da cafeína, ácido clorogênico e ácido cafeico nas folhas desfavorecem o ataque de ninfas de primeiro ínstar de *C. viridis*.

Palavras-chave: Cochonilha verde, cafeeiro, ácido cafeico, cafeína, ácido clorogênico

## PHYTOCHEMISTRY COMPOUNDS EFFECT OF IN INTENSITY OF ATTACK OF *Coccus viridis* IN COFFEE

### Abstract:

The green scale *Coccus viridis* (Green) (Hemiptera: Coccidae) it causes problems in young plants of *Coffea arabica* and in parts of the dossal with low brightness. The levels of compositions of phytochemistry in the leaves can influence the intensity of attack of *C. viridis*. This work for objective to study the relationships among the cafeic acid, caffeine and chlorogenic acid on the attack of *C. viridis* in the leaves of *C. arabica*. This research was led in green house. Manurings of nitrogen were used and of potassium in deficiency, normal and excessive. Weekly, the numbers of adults were counted and of nymphs in the plants. He took place trail analysis to verify the cause relationships and effect. It was verified that with the increase of the levels of the caffeine, chlorogenic acid and cafeic acid in the leaves the attack of nymphs of first phase of *C. viridis*.

Key words: Green scale, coffee, cafeic acid, caffeine, chlorogenic acid

## Introdução

A cochonilha verde *Coccus viridis* (Green, 1889) (Hemiptera: Coccidae) causa problemas em plantas jovens de *C. arabica* e em plantas ou parte do dossel com baixa luminosidade como ocorre em plantios adensados (Hollingsworth, 2000). Esta cochonilha tem elevado sua importância como inseto praga em cafeeiros, devido ao aumento da densidade de plantas por hectare e adubações excessivas, na busca de maiores produtividades.

Os adultos possuem coloração verde pálido brilhante, apresentando corpo oval e achatado, com um sinal preto na região dorsal em forma de "U". O período de oviposição é de 50 dias e cada fêmea é capaz de produzir 150 ovos. As fêmeas são ovovíparas e a eclosão dos ovos ocorre no interior do corpo das fêmeas. Assim as fêmeas liberam as ninfas de primeiro ínstar (Dekle & Fasulo, 2001). As ninfas tornam-se ativas logo que abandonam o ventre da fêmea adulta, em busca de local apropriado para sua fixação. Durante este período algumas ninfas permanecem aparentemente imóveis por determinado tempo, movimentando-se somente após algumas horas, sendo esta fixação resultado de um possível início de alimentação.

Esta praga é encontrada nos ramos e na nervura principal das folhas. Após sua fixação, o inseto perfura as folhas com seu aparelho bucal picador-sugador e inicia a sucção da seiva. O seu ataque causa definhamento das plantas, queda de folhas e redução na produtividade devido a sucção de seiva e introdução de toxinas no sistema vascular das plantas. Pode ainda ocorrer o desenvolvimento de fumagina que utiliza como substrato as excreções fecais de *C. viridis*. A fumagina reduz a taxa fotossintética e prejudicam o desenvolvimento e a produtividade da cultura (Gallo et al., 2002).

Substâncias do metabolismo secundário são importantes na relação inseto-planta por atuarem como aleloquímicos. Dentre os compostos secundários presentes em *C. arabica* um dos grupos mais abundantes são os compostos fenólicos ácido clorogênico, ácido cafeico e o composto nitrogenado cafeína. O ácido cafeico (intermediário da síntese do ácido clorogênico) (Ky et al., 2007), ácido clorogênico e cafeína (1,3,7-trimethylxanthine) constituem compostos secundários que são produzidos por muitas espécies de plantas. Dentre estas espécies de plantas estão incluídas o café (*C. arabica*), chá (*Camellia sinensis* L.) (Theaceae) e mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) (Aquifoliaceae) (Ashihara & Crozier, 2001). Estas

substâncias desempenham papel de defesa química da planta contra o ataque de insetos fitófagos. No entanto não existem trabalhos que identifiquem as relações entre os compostos fitoquímicos e a intensidade do ataque de *C. viridis*.

Assim este trabalho teve por objetivo estudar as relações entre os teores de ácido clorogênico, ácido cafeico e cafeína na intensidade do ataque de *C. viridis* em folhas de *C. arabica*.

## Material e Métodos

Este trabalho foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa de fevereiro de 2005 a junho de 2006.

Foram utilizadas sementes de café *C. arabica*, variedade Catuaí vermelho, linhagem IAC 15. Antes da semeadura realizou-se o tratamento da areia grossa a ser utilizada como substrato para o cultivo das plantas, com ácido clorídrico à 10% por 24 horas. Após este tratamento foram realizadas 10 lavagens da areia com água de torneira, para redução de sua acidez. Finalmente foi realizada uma lavagem da areia com água destilada para retirada de argilas, matéria orgânica e nutrientes presentes (Pozza et al., 2001). Parte desta areia tratada foi destinada para a semeadura de 300 sementes em bandejas plásticas de 80 cm de comprimento x 5 cm de largura x 10 cm de altura. Foram realizadas irrigações diárias até o transplântio.

Quando as mudas atingiram o estágio de “orelha de onça” selecionaram-se 99 plantas as quais foram transplantadas para vasos plásticos de 5L de capacidade. Para isso, utilizou-se a outra parte da areia tratada para o enchimento dos vasos. Foi transplantado uma muda por vaso. Abaixo de cada vaso foi colocado um recipiente plástico de 3 L, recoberto com papel alumínio para coletar a solução drenada de areia.

O pH foi ajustado diariamente antes de realizar as irrigações. As medidas foram tomadas com potenciômetro portátil (digimed modelo DM2), devidamente calibrado. Para a manutenção do pH entre 5,5 e 6,5 foram utilizados hidróxido de sódio (NaOH 0,1 mol.m<sup>-3</sup>) ou ácido clorídrico (HCl 0,1 mol.m<sup>-3</sup>). Todos os dias foi aplicado 0,5 L da solução nutritiva sobre os vasos plásticos de 5 L. A água resultante do excesso do escoamento da irrigação era recolhida nos recipientes coletores de drenagem localizados abaixo do vaso. A água evapotranspirada era repostada diariamente com água destilada até 0,5 L com auxílio de um frasco graduado.

Foram realizadas criações de *C. viridis* em plantas de *C. arabica*, variedade catuaí vermelho. As cochonilhas foram coletadas de folhas de café em plantações comerciais de Viçosa, MG. As cochonilhas coletadas foram mantidas em gaiolas de madeira (100 cm de comprimento x 50 cm de largura x 90 cm de altura) recobertas por organza branca apoiadas sobre bancadas e protegidas de formigas e parasitóides. Para tanto, as gaiolas ficavam no interior de casas de vegetação recobertas por sombrite 50%. A criação das cochonilhas foi realizada em local distante dos experimentos para se evitar infestações indesejadas.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com nove tratamentos e cinco repetições. Os tratamentos foram dispostos em arranjo fatorial 3 (deficiência, normal e excesso de nitrogênio) x 3 (deficiência, normal e excesso de potássio). As doses de nitrogênio foram: 0,042; 0,210 e 0,420 g/L. As doses de potássio foram: 0,0468; 0,234 e 0,468 g/L (adaptado de Jaenh, 1980). Cada tratamento foi composto por uma planta infestada. Ainda foi usado nas soluções nutritivas 0,031 g/L de P; 0,020 g/L de Ca, 0,064 g/L de S, 500 µg/L de B, 20 µg/L de Cu, 500 µg/L de Fe, 500 µg/L de Mn, 10 µg/L de Mo e 50 µg/L de Mn (Jaenh, 1980).

Quando as plantas possuíam oito meses de idade elas foram infestadas com *C. viridis*. Para tanto, duas folhas providas da criação, contendo cerca de 50 ninfas e 20 adultos de *C. viridis* foram colocadas em contato com as folhas de uma planta de cada parcela por 48 horas. Semanalmente, contaram-se os números de adultos e de ninfas de primeiro, segundo e terceiro ínstares em cada parcela. As avaliações dos números de ninfas e de adultos de *C. viridis* foram realizadas até 110 dias após a infestação.

Para a identificação e quantificação dos compostos fitoquímicos foram adaptadas as metodologia descrita por Rodrigues et al. (2006). O método mais adequado constitui de uma combinação das metodologias usadas por estes autores. Foram aqueles os que proporcionaram a escolha da melhor separação dos picos, menor tempo de retenção, maior precisão e estabilização do aparelho.

As amostras armazenadas nos vidros foram diluídas com metanol (Álcool metílico P.A.) até completar o volume de 10 mL. Desta solução retirou-se uma alíquota de 0,5 mL que foi re-diluída em metanol até obter-se 10 mL de solução. Esta solução foi filtrada usando-se uma seringa de vidro de 10 mL acoplada a uma unidade filtrante com membrana de polietileno de 0,45µm de poro.

Após a filtragem retirou-se com uma micro-seringa da solução para a injeção em cromatógrafo líquido de alto desempenho (HPLC). Foi utilizado cromatógrafo composto de duas bombas Shimadzu (modelo 10 AD) e detector ultra violeta Shimadzu (modelo SPD-10 A), com ajuste de detecção para o comprimento de onda de 272 nm. A coluna utilizada foi de Lichrosorb de fase reversa. A fase móvel foi formada por uma solução de metanol:água:ácido acético (70:30:0,5), com fluxo de 0,9 mL/minuto.

Para se definir o pico e o tempo de retenção de cada composto, os padrões de ácido clorogênico (5-O-cafeoilquínico), cafeína (1,3,7-trimetilxantina), ácido cafeico, teofilina (1,3-dimetilxantina) e teobromina (3,7-dimetilxantina) foram injetados em conjunto e separadamente nas concentrações de 0, 10, 20, 40, 80, 120 e 160 µg/mL. O tempo de retenção foi utilizado para identificação dos compostos fitoquímicos por meio de comparações entre os cromatogramas das amostras com os padrões injetados no HPLC. O sistema cromatográfico possibilitou a separação e detecção dos padrões teobromina, cafeína, teofilina, ácido clorogênico e ácido cafeico, nos tempos de retenção de 10,85;

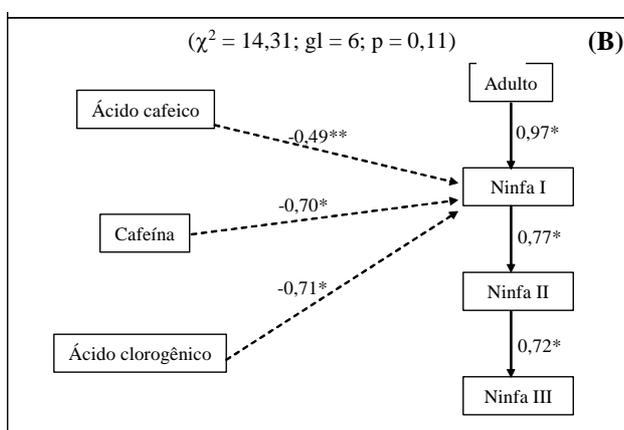
12,01; 14,02; 14,86 e 18,71 minutos, respectivamente. No entanto, os fitoquímicos teobromina e teofilina foram identificados em baixas concentrações. Assim, estes compostos não foram considerados nas análises posteriores.

Após a identificação realizou-se a quantificação dos teores dos compostos. Confeccionaram-se curvas de calibração entre a área abaixo do pico em função das concentrações. As melhores curvas foram aquelas com coeficiente de determinação de 99,9%. A partir destas curvas e dos resultados das áreas abaixo dos picos quantificaram-se os teores dos compostos fitoquímicos.

Para o estudo do efeito dos nutrientes nos teores de compostos fitoquímicos e destes na densidade de ninfas e adultos de *C. viridis* utilizou-se análise de trilha. A análise de trilha foi realizada utilizando os procedimentos PROC REG e PROC CALIS do SAS (SAS Institute, 2002). O diagrama de trilha testado está indicado na Figura 1. As interações entre as variáveis foram representadas por coeficientes de correlação.

### Resultados e Discussão

O modelo de trilha incluindo as doses de nitrogênio e de potássio na solução nutritiva, os teores de nitrogênio foliar e de compostos fitoquímicos foi significativo pelo teste de qui-quadrado ( $\chi^2=12,11$ ; gl=5; p=0,21) (Figura 1B). O efeito direto de cafeína, ácido clorogênico e ácido cafeico sobre a população de ninfas de primeiro ínstar de *C. viridis* pode estar relacionado aos efeitos dos alomônios antixenóticos, deterrentes destes compostos sobre o comportamento de busca e preferência pela alimentação de *C. viridis*. Estes mecanismos são utilizados pelas plantas para se defender de oviposição e ataque dos insetos herbívoros (Ribeiro et al., 2005). As ninfas de primeiro ínstar foram mais afetadas devido ao fato de ser neste estágio que estes insetos se movimentam à procura e escolha do alimento.



**Figura 1-** Diagrama de trilha da interação entre os compostos fitoquímicos nas folhas e ataque de adultos e ninfas de 1°, 2° e 3° ínstar de *Coccus viridis* (Hemiptera: Coccidae) a *Coffea arabica*. Viçosa, MG. 2005-2006. Setas tracejadas indicam efeito negativo e setas contínuas efeito positivo. \* e \*\* Coeficientes de correlação significativos pelo teste t a p<0,05 e p<0,10, respectivamente.

## Conclusões

O aumento dos teores da cafeína, ácido clorogênico e ácido cafeico nas folhas desfavorecem o ataque de ninfas de primeiro ínstar de *C. viridis*.

## Referências Bibliográficas

Ashihara H.; Crozier, A. (2001) Caffeine: a well known but little mentioned compound in plant science. *Trends Plant Science*, 6:407-413.

Dekle G.W, Fasulo T.R. (2001) Dec. Green Scale, *Coccus viridis* (Green). University of Florida. Florida Cooperative Extension Office. [Internet]. Disponível em: <[http://www.edis.ifas.ufl.edu/body\\_in436](http://www.edis.ifas.ufl.edu/body_in436)>. Acessado em 01 de Janeiro de 2007.

Gallo, D.; Nakano, O.; Silveira Neto, S.; Carvalho, R.P.L.; Batista, G.C., Bert Filho, E.; Parra, J.R.P.; Zucchi, R.A., Alves, S.B.; Vendramim, J.D.; Marchini, L.C.; Lopes, J.R.S.; Omoto, C. (2002) Entomologia agrícola, Piracicaba, FEALQ, 920p.

Hollingsworth, R.G. (2000) Green scale as a quarantine pest in Hawaii. *Chronica Horticulturae*. Magazine of the International Society for Horticultural Science, 10:15-17.

Jaehn, A. (1980) Efeitos de nitrogênio e de potássio em *Meloidogyne incognita* como parasito ao cafeeiro (*Coffea arabica* L.). Dissertação (Mestrado em Fitotecnia), Escola Superior Luiz de Queiroz, Piracicaba, ESALQ, 47p.

Ky, C.L.; Louarn, J.; Guyot, B.; Charrier, A.; Hamon, S.; Noirot, M. (2007) Relations between and inheritance of chlorogenic acid contents in an interspecific cross between *Coffea pseudozanguebariae* and *Coffea liberica* var *dewevrei*. *Theoretical and applied genetics*, 98:628-637.

Pozza, A.A.A.; Martinez, H.E.P.; Caixeta, S.L.; Cardoso, A.A.; Zambolim, L.; Pozza, E.A. (2001) Influência da nutrição mineral na intensidade da mancha-de-olho-pardo em mudas de cafeeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 36:53-60.

Ribeiro, A.P.O.; Otoni, W.C.; Picanço, M.C.; Galvan, T.L.; Pereira, E.J.G.; Picoli T.E. A.; Silva, D.J.H. (2005) Resistência de berinjela transgênica contendo o gene orizacistatina a *Mechanitis polymnia* e *Mechanitis lysimnia*. *Acta Scientiarum*, 27:647-650.

Rodriguez, J.G. (2006) Ed. Nutritional ecology of insects, mites, spiders, and related invertebrates, New York, John Wiley & Sons, 1016p.

SAS (2002). Version 8.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.