

Brasília, DF
Dezembro, 2009

Autores

Jonatas Gomes da Silva
Doutorando, Químico
Universidade de Brasília
jonatasg@yahoo.com.br

Mariana Rodrigues Lopes e Silva
Graduanda, Química
Universidade de Brasília
marynana_lopes@yahoo.com.br

Aline Carlos de Oliveira
Pós-doutoranda, Química
Universidade Federal de
São Carlos
alineplis@yahoo.com.br

Maria Carolina Blassioli Moraes
PhD, Química
Embrapa Recursos Genéticos e
Biotecnologia
mcbmorae@cenargen.embrapa.br

Luzia Helena Corrêa Lima
PhD, Bióloga
Embrapa Recursos Genéticos e
Biotecnologia
luzia@cenargen.embrapa.br

Jurandir Rodrigues de Souza
PhD, Químico
Universidade de Brasília
rdsouza@unb.br

Carlos Manoel Pedro Vaz
PhD, Físico
Embrapa Instrumentação
Agropecuária
vaz@cnpdia.embrapa.br

Clarissa Silva Pires de Castro
PhD, Química
Embrapa Recursos Genéticos e
Biotecnologia
clarissa@cenargen.embrapa.br



Desenvolvimento de metodologia analítica para a determinação de genisteína utilizando-se eletrodo de carbono vítreo

Introdução

A cultura da soja (*Glycine max*) no Brasil e no mundo apresentou nas últimas décadas um crescimento de mais de 100% de área cultivada, quando comparada à década de 1970. A soja, inicialmente cultivada apenas na região Sul, expandiu-se para o Cerrado e, mais recentemente, para as regiões Norte e Nordeste do Brasil (PORTUGAL, 1999). Tal fato se deve à importância da soja – principal fonte de proteínas e óleo vegetal para consumo humano e animal – e à alta tecnologia utilizada em sua produção.

Uma das consequências das grandes áreas cultivadas com soja é o aumento de pragas que atacam essa oleaginosa, causando danos crescentes à produção. Os percevejos são considerados as principais pragas do cultivo da soja, pois se alimentam sugando, preferencialmente, os grãos, afetando o rendimento, a qualidade das sementes e seu potencial germinativo. Além destes danos diretos, o ataque de percevejos na soja pode ocasionar produção de sementes com baixo vigor e menor conteúdo de óleo e proteínas, assim como distúrbios fisiológicos (BELORE et al., 2003). Estes distúrbios afetam a maturação normal das plantas atacadas, cujas folhas permanecem verdes ao final do ciclo (retenção foliar), o que dificulta a colheita (BORKERT et al., 1994).

As plantas, apesar de sésseis e aparentemente indefesas, apresentam um sistema de defesa eficiente contra insetos, fungos e bactérias. Um sistema de defesa eficiente da planta que pode ser manipulado e utilizado no monitoramento integrado de pragas é o sistema químico, composto de metabólitos secundários voláteis e não voláteis, que podem ser induzidos ou constitutivos (DICKE e van LOON, 2000; ARAB e BENTO, 2006; HEIL, 2008). Já é bastante conhecido que plantas danificadas por herbivoria induzem a produção de metabólitos secundários, aumentando a eficiência da defesa química. Por exemplo, plantas de trigo danificadas por afídios apresentam maior quantidade de ácidos hidroxâmicos, que têm ação deterrente sobre esta praga (BRUCE et al., 2003; MORAES et al., 2008). Além da defesa por meio de ação direta sobre o herbívoro, os metabólitos secundários também podem agir de forma indireta, já que plantas de soja, quando danificadas por herbivoria provocada por percevejos, liberam uma mistura de compostos voláteis que atraem os parasitoides de ovos, como o *Telenomus podisi* (MORAES et al., 2005, 2008b). Vários estudos vêm demonstrando que algumas variedades de soja apresentam uma eficiente defesa contra insetos herbívoros (RIBEIRO et al., 2007; MICHEREFF et al., 2009). Estas variedades mais resistentes a pragas apresentam diferentes características físicas e químicas que as tornam mais resistentes. Dentre as características químicas, os principais compostos responsáveis pela resistência a pragas são os flavonoides. Portanto, a identificação e quantificação desses metabólitos secundários nas diferentes cultivares geram importante informação para os melhoristas na escolha das cultivares para o melhoramento, tanto o clássico quanto o transgênico. Desta forma, é possível avaliar e conhecer mais claramente quais são os efeitos e o porquê da resistência,

como também atuar na busca de genes responsáveis pela produção desses metabólitos secundários (PEREZ e ORMENONUNEZ, 2005; PICKETT et al., 2007; PIUBELLI et al., 2003a, 2003b, 2005; MORAES et al., 2005; PAREJA et al., 2007; BUKOVINSZKY et al., 2005).

Para a utilização correta dos metabólitos secundários no monitoramento integrado de pragas, faz-se necessário o conhecimento sobre a forma que esses compostos são utilizados no meio ambiente pelas plantas, isto é, qual a taxa de liberação, a quantidade produzida e sua interação alelopática entre planta e herbívoro e entre planta, herbívoro e o seu inimigo natural (MORAES et al., 2008a, 2009; HEIL, 2008). Atualmente vários métodos analíticos têm sido propostos para a identificação e quantificação de metabólitos secundários em soja utilizando-se técnicas de grande porte (difíceis de serem adaptadas ao campo) e de alto custo (manutenção dos equipamentos), como a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e a cromatografia gasosa (GC), associadas ou não à espectrometria de massas (MS). Todas essas técnicas exigem laboriosos processos de preparação de amostra (etapas de separações e pré-tratamentos), grandes quantidades de gases e solventes de alta pureza e técnicos altamente especializados, além das respostas obtidas serem bastante influenciadas por interferentes e não preservarem os metabólitos secundários durante a análise. Portanto, é necessário desenvolver e validar métodos sensíveis, seletivos e rápidos para a determinação de metabólitos secundários em soja. Os métodos eletroquímicos preenchem bem todos esses requisitos, pois são métodos não destrutivos, de baixo custo e de alta sensibilidade, os quais permitem a determinação direta, rápida, simultânea e precisa de diversos analitos em uma única varredura, sem a necessidade de etapa de pré-tratamento e podem ser adaptados ao campo. Devido a todas essas vantagens, os métodos eletroquímicos vêm sendo utilizados para avaliar a capacidade antioxidante de flavonoides e ácidos fenólicos e quantificá-los em alimentos, medicamentos e fluidos biológicos.

A voltametria é uma técnica eletroquímica que estuda as relações entre o potencial, a corrente e o tempo durante a eletrólise da espécie de interesse (analito). Nesta técnica, um potencial variável (sinal de excitação) é aplicado sobre uma célula eletroquímica, e uma resposta de corrente, que é proporcional à concentração do analito, desenvolve-se em função

do sinal de excitação. A voltametria é amplamente utilizada em análises químicas de rotina e de pesquisa (SKOOG et al., 2002; HARRIS, 2008).

Na voltametria de pulso diferencial (DPV), uma série de pulsos de amplitude constante (10-100 mV) são superpostos a uma rampa linear de potencial (sinal de excitação). São realizadas duas medidas de corrente, uma antes da aplicação do pulso e outra antes do fim do pulso. A diferença de corrente (Δi) por pulso é registrada em função do aumento linear do potencial. O resultado é uma curva diferencial, que consiste em um máximo cuja altura é diretamente proporcional à concentração do analito (SKOOG et al., 2002; HARRIS, 2008).

A voltametria cíclica (CV) utiliza ondas triangulares como sinais de excitação para o eletrodo de trabalho. Após aplicar uma rampa de potencial linear, a rampa é invertida para trazer o potencial de volta ao seu valor inicial. O ciclo pode ser repetido diversas vezes. A voltametria cíclica fornece essencialmente informações qualitativas extremamente importantes sobre as velocidades e os mecanismos de processos de oxidação/redução, sendo geralmente empregada no estudo de sistemas desconhecidos (SKOOG et al., 2002; HARRIS, 2008).

Métodos voltamétricos baseados na oxidação de flavonoides e ácidos fenólicos no eletrodo de carbono têm sido empregados para a identificação e quantificação destes compostos em diferentes amostras. O eletrodo de carbono vítreo (GC) foi empregado na análise de flavonoides e ácidos fenólicos, utilizando-se a DPV, com limites de detecção da ordem de 10^{-6} mol L⁻¹ (BLASCO et al., 2004). Escarpa et al. (2007) desenvolveram um método amperométrico de análise em fluxo, empregando o eletrodo de GC e a genisteína como padrão, para a determinação de isoflavonoides totais em suplemento alimentar e leite à base de soja. O eletrodo de pasta de carbono foi utilizado por Klejdus et al. (2004) na determinação de isoflavonoides em amostras de alimentos à base de soja mediante HPLC com detecção eletroquímica.

O presente trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de uma metodologia analítica em que sejam utilizados o eletrodo de carbono vítreo (GC) e a DPV para a determinação de genisteína.

Parte experimental

Equipamentos

As medidas voltamétricas foram realizadas em triplicata, utilizando-se o analisador voltamétrico 797 VA Computrace (Metrohm, Suíça) e uma célula eletroquímica composta por um eletrodo de GC ($\Phi = 2$ mm) como eletrodo de trabalho, Ag/AgCl (KCl 3 mol L⁻¹) como eletrodo de referência e platina como eletrodo auxiliar. As medidas de DPV foram realizadas no intervalo de potencial de 0,300 V (potencial inicial, E_i) a 1,000 V (potencial final, E_f) com amplitude de pulso de 50 mV e velocidade de varredura (v) de 50 mV s⁻¹. As medidas de voltametria cíclica (CV) foram realizadas no intervalo de potencial de 0 V (E_i) a 1,200 V (potencial de inversão, E_w) e $v = 100$ mV s⁻¹. Determinou-se o pH das soluções com o emprego do medidor de pH 3030 Jenway (Reino Unido) e do eletrodo de pH combinado DME-CV1/Digimed (Brasil).

Tratamento mecânico e eletroquímico do eletrodo de trabalho

Antes de se iniciar as medidas voltamétricas, o eletrodo de GC foi polido em suspensão aquosa de alumina 1 μ m (Sigma-Aldrich, Brasil) e limpo com acetona (Sigma-Aldrich, Brasil) no ultrassom, em um banho modelo 2840 DA (Odontobrás, Brasil) durante 5 minutos. Entre cada medida voltamétrica, o eletrodo foi limpo eletroquimicamente por cinco ciclos entre 0 e 1,800 V.

Reagentes e soluções

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico e as soluções foram preparadas com água ultrapura (Millipore, EUA). A solução estoque de genisteína (LC Laboratories, Canadá) 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ foi preparada em uma mistura etanol/água, 1/1 (v/v). As soluções de tampão Britton-Robinson (BR) na faixa de pH 5 – 9 foram preparadas utilizando-se os ácidos fosfórico, acético e bórico (Sigma-Aldrich, Brasil). As soluções de tampão fosfato no intervalo de pH 5 – 9 foram preparadas com a utilização de fosfato de sódio dibásico e fosfato de potássio monobásico (Sigma-Aldrich, EUA). Hidróxido de sódio e ácido clorídrico concentrados (Sigma-Aldrich, Alemanha) foram utilizados para ajustar os valores de pH.

Procedimento

Antes do desenvolvimento da metodologia analítica, realizou-se o estudo do processo de oxidação/redução da genisteína na superfície do eletrodo

de GC, utilizando-se a CV, por meio da adição de 500 μ L de genisteína 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ na célula eletroquímica contendo 10 mL de tampão fosfato pH 6.

Estudou-se a influência do eletrólito suporte e do pH na corrente de oxidação da genisteína, utilizando-se a DPV, por meio da adição de 100 μ L de genisteína 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ na célula eletroquímica contendo 10 mL de tampão B-R (4,0 x 10⁻² mol L⁻¹ H₃PO₄, 4,0 x 10⁻² mol L⁻¹ CH₃COOH e 4,0 x 10⁻² mol L⁻¹ H₃BO₃) ou tampão fosfato (1,2 x 10⁻³ – 5,7 x 10⁻² mol L⁻¹ Na₂HPO₄ e 1,2 x 10⁻¹ – 4,5 x 10⁻³ mol L⁻¹ KH₂PO₄), no intervalo de pH 5 – 9.

Realizou-se o estudo da influência da amplitude de pulso (no intervalo de 10 – 100 mV) e da velocidade de varredura (no intervalo de 5 – 50 mV s⁻¹) na corrente de oxidação da genisteína, utilizando-se a DPV, por meio da adição de 100 μ L de genisteína 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ na célula eletroquímica contendo 10 mL de tampão fosfato pH 6.

Para o estudo da repetibilidade de resposta do eletrodo de GC, utilizando-se a DPV, a corrente de oxidação da genisteína foi medida em dez repetições, em uma célula eletroquímica contendo 10 mL de tampão fosfato pH 6 e 100 μ L de genisteína 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹.

Obteve-se a curva analítica, utilizando-se a DPV, por meio de adições sucessivas de 10 μ L de genisteína 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ na célula eletroquímica contendo 10 mL de tampão fosfato pH 6.

Resultados e discussão

No voltamograma cíclico (Figura 1a) para genisteína 5,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ em tampão fosfato pH 6, observa-se apenas um sinal em 0,650 V, correspondente à oxidação do grupo 4'-hidróxi do anel B (Figura 1b). A ausência de um sinal correspondente à redução do grupo 4'-quinona indica um processo de oxidação/redução irreversível (WU et al., 1997).

Para detecção e quantificação da genisteína, realizou-se um estudo por voltametria de pulso diferencial para verificar em qual meio e pH se observa a maior resposta de corrente de oxidação da genisteína. Os voltamogramas da Figura 2 mostram as correntes anódicas da genisteína em tampão fosfato no intervalo de pH 5 – 9.

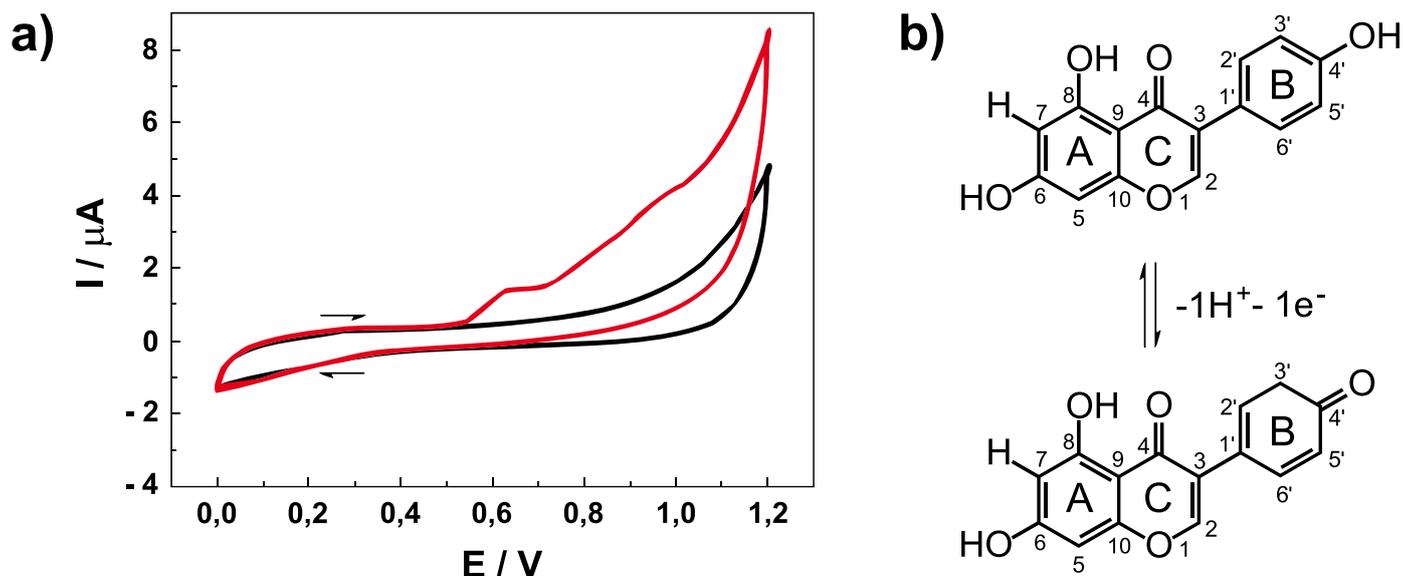


Figura 1. a) Reação de oxidação da genisteína; b) voltamogramas cíclicos para genisteína $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (—) em tampão fosfato pH 6 (—). $E_i = 0 \text{ V}$, $E_w = 1,200 \text{ V}$, $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$, Eletrodo de trabalho: GC, Eletrodo de referência: Ag/AgCl (KCl 3 mol L^{-1}).

Observa-se que o potencial e a intensidade da corrente de oxidação da genisteína dependem do pH do meio. O melhor perfil voltamétrico e a melhor intensidade da corrente de oxidação foram obtidos em tampão fosfato pH 6. Foram realizados ensaios em tampão Britton-Robinson pH 5 – 9; porém, as intensidades das correntes de oxidação da genisteína foram menores do que as obtidas em tampão fosfato. Portanto, o tampão fosfato pH 6 foi escolhido para a determinação de genisteína.

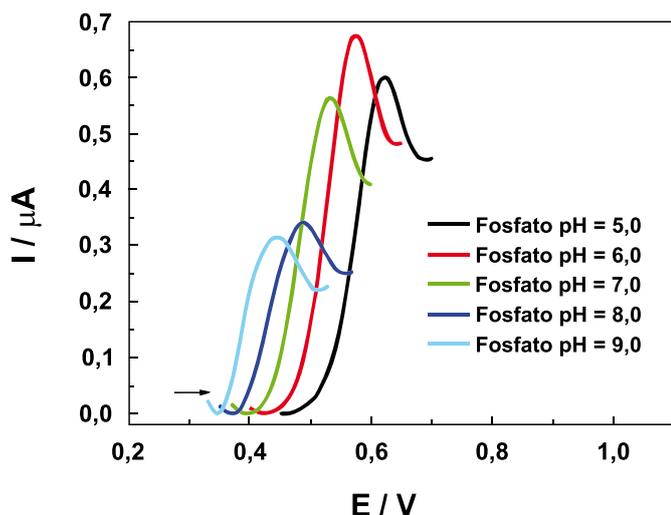


Figura 2. Voltamogramas de pulso diferencial em 10 mL de eletrólito suporte para genisteína $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. $E_i = 0,300 \text{ V}$; $E_f = 1,000 \text{ V}$, $\nu = 50 \text{ V s}^{-1}$, Eletrodo de trabalho: GC, Eletrodo de referência: Ag/AgCl (KCl 3 mol L^{-1}).

A Figura 3 mostra o efeito da variação da amplitude de pulso na corrente de oxidação da genisteína para valores entre 10 e 100 mV.

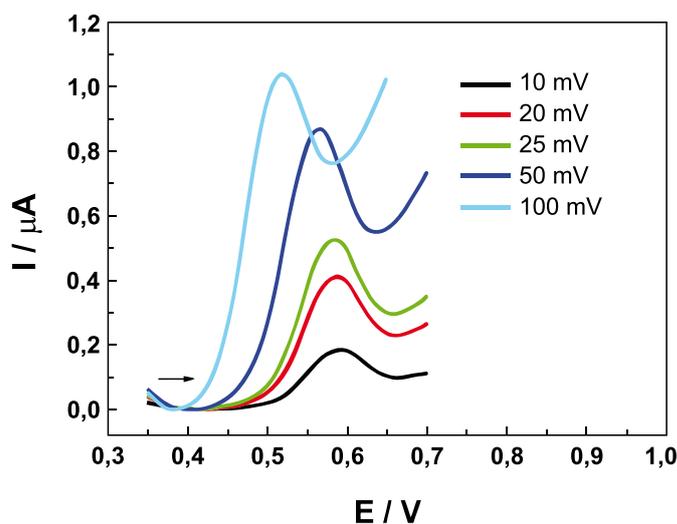


Figura 3. Voltamogramas de pulso diferencial em 10 mL de tampão fosfato pH 6 para genisteína $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. $E_i = 0,300 \text{ V}$; $E_f = 1,000 \text{ V}$, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$, Eletrodo de trabalho: GC, Eletrodo de referência: Ag/AgCl (KCl 3 mol L^{-1}).

Variando-se a amplitude de pulso entre 10 e 100 mV, observa-se um aumento da intensidade da corrente e um deslocamento do potencial de oxidação. Para a amplitude de pulso de 100 mV, a genisteína apresentou um sinal voltamétrico de maior intensidade, porém mais largo. Dessa forma, optou-se por utilizar uma amplitude de pulso de 50 mV para a determinação de genisteína, uma vez que para este valor obteve-se um melhor perfil voltamétrico.

Na Figura 4, são mostrados os voltamogramas de pulso diferencial para a genisteína em tampão fosfato pH 6, variando-se a velocidade de varredura de 5 a 50 mV s^{-1} . Observa-se um aumento da intensidade

da corrente de oxidação da genisteína com o aumento da velocidade de varredura. Assim, para a determinação de genisteína, optou-se por utilizar a velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} .

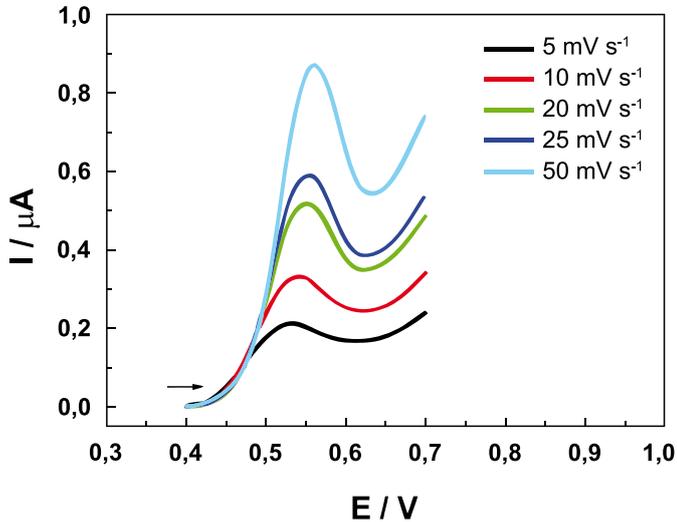


Figura 4. Voltamogramas de pulso diferencial em 10 mL de tampão fosfato pH 6 para genisteína $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. $E_i = 0,300 \text{ V}$; $E_f = 1,000 \text{ V}$, $v = 5\text{-}50 \text{ mV s}^{-1}$, Eletrodo de trabalho: GC, Eletrodo de referência: Ag/AgCl (KCl 3 mol L^{-1}).

O estudo para repetibilidade de resposta do eletrodo (Figura 5) visando à quantificação da genisteína apresentou um desvio padrão relativo (RSD) menor do que 1% ($n = 10$). Portanto, o eletrodo de GC utilizado apresenta repetibilidade adequada para a quantificação desse isoflavonoide por DPV, quando limpo eletroquimicamente por cinco ciclos entre 0 e $1,800 \text{ V}$.

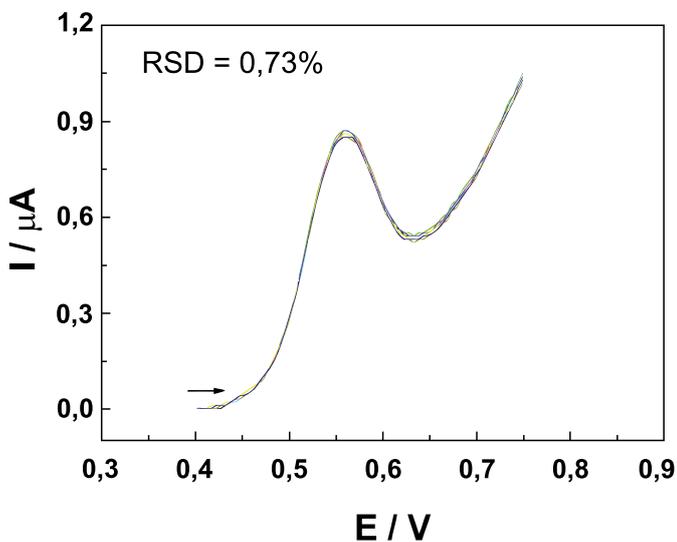


Figura 5. Voltamogramas de pulso diferencial em 10 mL tampão fosfato pH 6 para genisteína $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ($n = 10$). $E_i = 0,300 \text{ V}$; $E_f = 1,000 \text{ V}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, Eletrodo de trabalho: GC, Eletrodo de referência: Ag/AgCl (KCl 3 mol L^{-1}).

Após a otimização das condições experimentais para o eletrodo de GC, utilizando-se a técnica DPV, obteve-se a curva analítica para a genisteína em tampão fosfato pH 6.

Na Figura 6a são mostrados os voltamogramas de pulso diferencial obtidos para a genisteína no intervalo de concentração de $1,0 \times 10^{-6}$ a $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e equação $I_{pa}(\text{nA}) = -8,388 + 5,7 \times 10^7 [\text{Genisteína}]$ (Figura 6b), com coeficiente de correlação de 0,998, Limite de Detecção (LD) $1,2 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e Limite de Quantificação (LQ) $4,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, calculados a partir de: $LD = 3Sb/b$; $LQ = 10Sb/b$, em que Sb é o desvio padrão das medidas do branco e b é a inclinação da curva analítica (MILLER e MILLER, 1993).

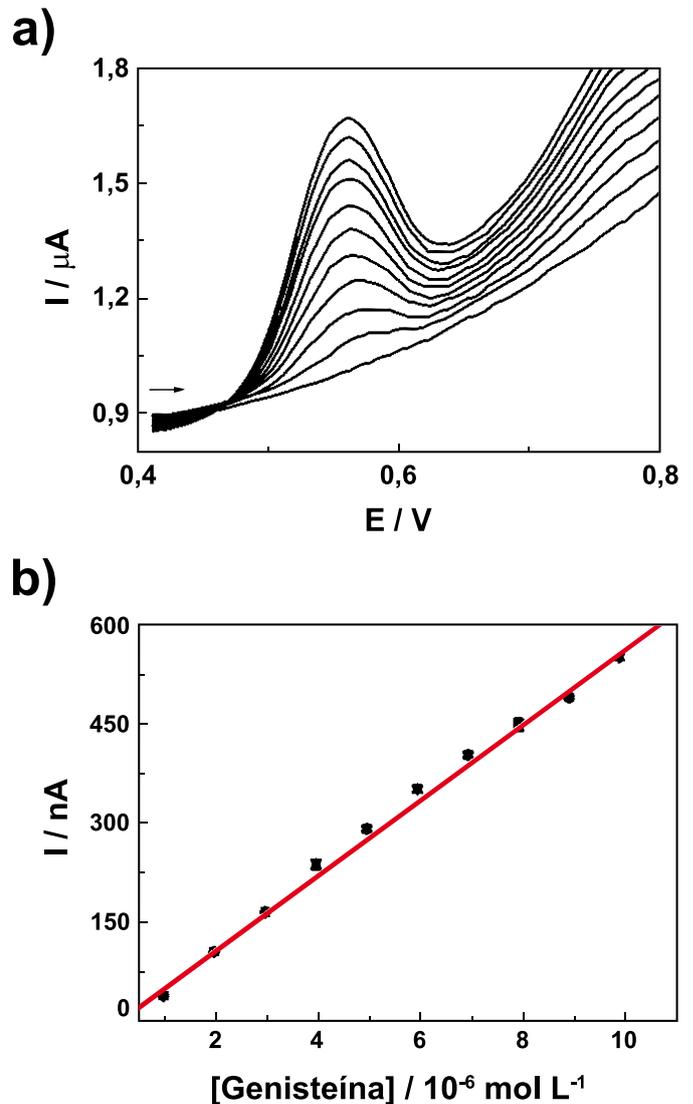


Figura 6. a) Voltamogramas de pulso diferencial em 10 mL de tampão fosfato pH 6 com adições sucessivas de 10 mL de genisteína $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; b) Curva analítica. $E_i = 0,300 \text{ V}$; $E_f = 0,800 \text{ V}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, Eletrodo de trabalho: GC, Eletrodo de referência: Ag/AgCl (KCl 3 mol L^{-1}).

Conclusão

A metodologia eletroanalítica desenvolvida para a determinação de genisteína, utilizando-se o eletrodo de GC e a técnica de DPV, apresentou boa sensibilidade e repetibilidade e baixos limites de detecção e quantificação, possibilitando sua aplicação no estudo de cultivares de soja da Embrapa quanto à identificação e quantificação de isoflavonoides. As quantidades médias de genisteína encontradas em sementes de soja de 18 cultivares brasileiras variou entre 2,18 mg/100g e 0,41mg/100 g (RIBEIRO et al., 2007). Esses valores estão dentro do limite de quantificação do método desenvolvido para a medida por voltametria de pulso diferencial $3,99 \times 10^{-7}$ mol/L (aproximadamente 0,1 mg) de genisteína. Estudos estão sendo conduzidos para avaliar a ação de interferentes provenientes da matriz e para avaliar as quantidades necessárias de amostra.

Referências bibliográficas

- ARAB, A.; BENTO, J. M. S. Plant volatiles: new perspectives for research in Brazil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 35, n. 2, p. 151-158, 2006.
- BELORE, L.C.; RAMIRO, Z. A.; FARIA, A. M.; MARINO, C. A. B. Danos causados por percevejo (Hemiptera: Pentatomidae) em cinco cultivares de soja (GLYCINE MAX) no município de Araçatuba, SP. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 70, n. 2, p. 169-175, 2003.
- BLASCO, A. J.; GONZÁLEZ, M. C.; ESCARPA, A. Electrochemical approach for discriminating and measuring predominant flavonoids and phenolic acids using differential pulse voltammetry: towards an electrochemical index of natural antioxidants. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 511, n. 1, p. 71-81, 2004.
- BORKERT, C. M.; YORINORI, J. T.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; ALMEIDA, A. M. R.; FERREIRA, L. P.; SFREDO, G. J. Seja o doutor da sua soja. **Jornal Informações Agrônomicas**, Piracicaba, n. 66, p. 1-17, 1994.
- BRUCE, T. J. A.; MARTIN, L. J.; PICKETT, J. A.; PYE, B. J.; SMART, L. E.; WADHAMS, L. J. *cis*-Jasmone treatment induces resistance in wheat plants against the grain aphid, *Sitobion avenae* (Fabricius) (Homoptera: Aphididae). **Pest Management science**, London, v. 59, n. 9, p.1031-1036, 2003.
- BUKOVINSZKY, T.; GOLS, R.; POSTHUMUS, M. A.; VET, L. E. M.; VAN LENTEREN, J. C. Variation In Plant Volatiles and Attraction Of The Parasitoid *Diadegma semiclausum* (Hellén). **Journal of Chemical Ecology**, Amsterdam, v. 31, n. 3, p. 461-480, 2005.
- DICKE, M.; van LOON, J. J. A. Multitrophic effects of herbivore-induced plant volatile in an evolutionary context. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 9, p.237-249, 2000.
- ESCARPA, A.; GONZÁLEZ, M. C.; BLASCO, A. J.; ROGERIO, M. C.; HERVÁS, M. Evaluation of Accuracy of Electrochemical Isoflavonoid Index for the Determination of Total Isoflavones in Soy Samples. **Electroanalysis**, Weinheim, v. 19, n. 9, p. 952-957, 2007.
- HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa**, 7 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2008, 886 p.
- HEIL, M. Indirect defence via tritrophic interactions. **New Phytologist**, London, v.178, n. 1, p. 41-61, 2008.
- KLEJDUS, B.; VACEK, J.; ADAM, V.; ZEHNÁLEK, J.; KIZEK, R.; TRNKOVÁ, L.; KUBÁN, V. Determination of isoflavones in soybean food and human urine using liquid chromatography with electrochemical detection. **Journal of Chromatography B**, Amsterdam, v. 806, n. 2, p. 101-111, 2004.
- MICHEREFF, M. F. F.; MORAES, M. C. B.; DINIZ, I. R.; LAUMANN, R. A.; BORGES, M. **Interação tri-trófica soja - Euschistus heros (Hemiptera: Pentatomidae) – Telenomus podisi (Hymenoptera: Scelionidae)**. In: ENCONTRO DO TALENTO ESTUDANTIL DA EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA, 14., 2009, Brasília, DF. Anais: resumos dos trabalhos. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2009. Resumo 080. p. 121
- MILLER, J.; MILLER, J. **Statistics for Analytical Chemistry**. 3 ed. New York: Ellis Horwood PTR Prentice Hall, 1993. 233 p.
- MORAES, M. C. B.; LAUMANN, R. A.; PAREJA, M.; SERENO, F. T. P. S.; MICHEREFF, M. F. F.; BIRKETT,

- M. A.; PICKETT, J. A.; BORGES, M. Attraction of the stink bug egg parasitoid *Telenomus podisi* to defence signals from soybean activated by treatment with *cis*-jasmone. **Entomologia Experimentalis Et Applicata**, Amsterdam, v. 131, n. 2, p. 178-188, 2009.
- MORAES, M. C. B.; BIRKETT, M. A.; GORDON-WEEKS, R.; SMART, L. E.; MARTIN J. L. *cis*-Jasmone induces accumulation of defence compounds in wheat, *Triticum aestivum*. **Phytochemistry**, Jena, v. 69, n. 1, p. 9-17, 2008b.
- MORAES, M. C. B.; LAUMANN, R. A.; PIRES, C. S.; SUJI, E. R.; BORGES, M. Induced Volatiles in Soybean and Pigeon Pea Plants Artificially Infested with the Neotropical Brown Stink Bug, *Euschistus heros*, and their effect on the Egg Parasitoid, *Telenomus podisi*. **Entomologia Experimentalis Et Applicata**, Amsterdam, v. 33, p. 227-237, 2005.
- MORAES, M. C. B.; PAREJA, M.; LAUMANN, R. A.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; BORGES, M. Response of the parasitoid *Telenomus podisi* to induced volatiles from soybean damaged by stink bug herbivory and oviposition. **Journal of Plant Interactions**, London, v. 3, n. 2, p. 1742-1756, 2008a.
- PAREJA, M.; MORAES, M. C. B.; CLARK, S. J.; BIRKETT, M. A.; POWELL, W. Response of the Aphid Parasitoid *Aphidius funebris* to Volatiles from Undamaged and Aphid-infested *Centaurea nigra*. **Journal of Chemical Ecology**, Amsterdam, v. 33, n. 4, p. 695-710, 2007.
- PEREZ, F. J.; ORMENONUNEZ, J. Difference in hydroxamic acid content in roots and root exudates of wheat (*Triticum aestivum* L.) and rye (*Secale cereale* L.): Possible role in allelopathy. **Journal of Chemical Ecology**, Amsterdam, v. 17, n. 6, p. 1037-1043, 1991.
- PICKETT, J. A.; BIREKTT, M. A.; MORAES, M. C. B.; BRUCE, T. J. A.; CHAMBERLAIN, K.; GORDON-WEEKS, R.; MATTHES, J. A.; NAPIER, J. A. SMART, L. E.; WADHAMS, L. J., WOODCOCK, C. M. *cis*-Jasmone as allelopathic agent in inducing plant defence. **Allelopathy journal**, v. 19, n. 1, p. 109-118, 2007.
- PIUBELLI, G. C.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; ARRUDA, I. C.; Franchini, J. C.; Lara, F. M. Nymphal development, lipid content, growth and weight gain of *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera; pentatomidae) fed on soybean genotypes. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 32, n. 1, p. 127-132, 2003a.
- PIUBELLI, G. C.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; ARRUDA, I. C.; FRANCHINI, J. C.; LARA, F. M. Flavonoid Increase in Soybean as a Response to *Nezara viridula* Injury and Its Effect on Insect-Feeding Preference. **Journal of Chemical Ecology**, Amsterdam, v. 29, n. 5, p. 1223-1233, 2003b.
- PIUBELLI, G. C.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; MOSCARDI, F.; MIYAKUBO, S. H.; OLIVEIRA, M. C. N. Are Chemical Compounds Important for Soybean Resistance to *Anticarsia gemmatilis*? **Journal of Chemical Ecology**, Amsterdam, v. 31, n. 7, p. 1509-1525. 2005.
- PORTUGAL, A. D. State of the soybean agribusiness in Brazil. In: WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE, 6., Chicago. Proceedings... Champaign, IL: Superior Printing, 1999.
- RIBEIRO, M. L. L.; MANDARINO, J. M. G.; CARRÃO-PANIZZI, M. C.; OLIVEIRA, M. C. N.; CAMPO, C. B. H.; NEPOMUCENO, A. L.; IDA, E. I. Isoflavone content and β -glucosidase activity in soybean cultivars of different maturity groups. **Journal of Food Composition and Analysis**, Jena, v. 20, p.19-24, 2007.
- SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**, 6. ed. Porto Alegre: Bookman, 2009, 1056 p.
- UNDERTRUP, A. G.; RAVNSKOV, S.; HANSEN, H. C. B.; FOMSGAARD, I. S. Biotransformation of 2-Benzoxazolinone to 2-Amino-(3H)-Phenoxazin-3-one and 2-Acetylamino-(3H)-Phenoxazin-3-one in Soil. **Journal of Chemical Ecology**, Amsterdam, v. 31, n. 5, p. 1205-1222, 2005.
- WU, L.; LAUGHLIN JR, J. B.; DEWALD, H. D. Voltammetry and LCEC of isoflavones. **Electroanalysis**, Weinheim, v. 9, n. 10, p. 796-799, 1997.

**Circular
Técnica, 87**

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Endereço: Parque Estação Biológica (PqEB) - Avenida W5 Norte; Caixa Postal 02372 - Brasília, DF - Brasil; CEP: 70770-900

Fone: (61) 3448-4700

Fax: (61) 3340-3624

E-mail: sac@cenargen.embrapa.br

1ª edição

Publicação *on line* (2009)

Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento

**Comitê
Local de
Publicações**

Presidente: *Lúcio Brunale*

Secretária-Executiva: *Lígia Sardinha Fortes*

Membros: *José Roberto de Alencar Moreira, Diva Maria de Alencar Dusi, Regina Maria Dechechi G. Carneiro, Samuel Rezende Paiva e Jonny Everson Scherwinski Pereira.*

Membros suplentes: *João Batista Tavares da Silva e Margot Alves Nunes Dode.*

Expediente

Revisão de texto: *José Cesamildo Cruz Magalhães*

Normalização bibliográfica: *Ana Flávia do Nascimento Dias*

Tratamento das ilustrações: *Cíntia Pereira da Silva*

Edição eletrônica: *Cíntia Pereira da Silva*