

INFLUÊNCIA DE LINHAGENS DE FEIJÃO PORTADORAS DE VARIANTES DA PROTEÍNA ARCELINA IRRADIADAS SOBRE A REPRODUÇÃO DE *ACANTHOSCELIDES OBTECTUS* (SAY) (COLEOPTERA: BRUCHIDAE)

A.C.G. Botelho^{1*}, V. Arthur², B.F. do Amaral Filho³

¹Departamento de Biologia, FFCL/USP, Av. dos Bandeirantes, 3900, CEP 14040-901, Ribeirão Preto, SP, Brasil.
*Bolsista do CNPQ.

RESUMO

Verificou-se os possíveis níveis de resistência de linhagens de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) portadoras de variantes da proteína arcelina, em relação a oviposição do caruncho *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae), através de testes de confinamento. As seguintes linhagens de feijão foram utilizadas: Arcelina-1, Arcelina-2, Arcelina-3 e Arcelina-4, submetidas à quatro doses de radiação gama do Cobalto-60: 0 (testemunha); 0,5; 1,0 e 2,0 kGy, com cinco repetições para cada tratamento. Pelos resultados obtidos, concluiu-se que: não houve interferência da irradiação das sementes de feijão na oviposição e emergência das progênes do caruncho, e; as linhagens Arcelina-3 e Arcelina-2, obtiveram a menor oviposição e taxa de emergência de insetos respectivamente, e diferiram estatisticamente da Arcelina-1, que foi a mais ovipositada e com o maior número de insetos emergidos, sugerindo uma possível resistência da Arcelina-2 e 3 em relação à este caruncho.

PALAVRAS-CHAVE: Insecta, *Phaseolus vulgaris* L., *Acanthoscelides obtectus*, resistência, radiação.

ABSTRACT

INFLUENCE OF BEANS LINES CARRIED OF ARCELIN PROTEIN IRRADIATED ABOUT THE REPRODUCTION OF *Acanthoscelides obtectus* (SAY) (COLEOPTERA: BRUCHIDAE). The present work had the objective of evaluating the possible levels of resistance of lines beans (*Phaseolus vulgaris* L.) carries of arcelin protein, in relationship to oviposition of the bean weevil *Acanthoscelides obtectus* (Say, 1831) (Coleoptera: Bruchidae), through confinement tests. Seeds of four lines of beans carries of arcelin protein (Arcelin-1, Arcelin-2, Arcelin-3 and Arcelin-4) were submitted to four doses of gamma radiation of Cobalt-60: 0 (witness); 0.5; 1.0 and 2.0 kGy, with five repetitions for each treatment. The results obtained showed that the gamma radiation doses did not influence the parameters evaluated. The lines Arcelin-3 and 2 showed the lesser oviposition and emergency of insects respectively, and differed from line Arcelin-1, that was the most oviposited and with the larger number of emerged insects, suggesting a possible resistance of the lines Arcelin-3 and 2 in relationship to this bean weevil.

KEY WORDS: Insecta, *Phaseolus vulgaris* L., *Acanthoscelides obtectus*, resistance, radiation.

INTRODUÇÃO

O feijão comum é atacado por inúmeras pragas (SALAGADO, 1982; ABATE & AMPOFO, 1996), desde a emergência até o seu armazenamento. Dentre estas, encontra-se o caruncho *Acanthoscelides obtectus* (Say), que causa a redução das características físicas e fisiológicas do feijão, tendo-se assim, um produto de qualidade inferior ou até a sua perda total (FARIONI *et al.*, 1995). A condição ideal para o seu desenvolvimen-

to desse inseto é em torno de 30°C e 70% a 80% UR, sendo a média desenvolvimento de ovo a adulto de 27,5 dia, longevidade do adulto de 11,8 dias e a produção por fêmea é de 63 ovos (HOWE & CURRIE, 1964).

No clima tropical e subtropical, onde este inseto é considerado uma das principais causas de perda dos grãos de feijão armazenado, devido ao rápido aumento populacional, o controle através da resistência varietal é de grande importância e aplicabilidade, principalmente pelos pequenos e médios produtores.

²Seção de Entomologia, CENA/USP, Piracicaba, SP.

³ Departamento de Zoologia, UNICAMP, Campinas, SP.

A resistência de plantas apresenta várias vantagens como baixo custo, facilidade de utilização, ausência de contaminação dos grãos e compatibilidade com outras técnicas de controle (CARDONA *et al.*, 1992).

A busca de linhagens resistentes, visando o melhoramento genético dos cultivares, tem sido objeto de várias pesquisas, não apenas no Brasil (MENDES *et al.*, 1995; PEREIRA *et al.*, 1995; WANDERLEY *et al.*, 1997), como em outros países (MIRKOV *et al.*, 1994; FORY *et al.*, 1996; CAMARGO *et al.*, 1997; TOMLEKOVA, 1998; PAES *et al.*, 2000), devido à detecção de proteínas (arcelina e inibidores de α -amilase) que fazem parte dos mecanismos de defesa da planta (SCHOEDER *et al.*, 1995). A proteína arcelina é encontrada apenas em espécies selvagens de feijão, e é resistente à ação das proteases dos carunchos (OSBORN *et al.*, 1986).

A utilização de radiações ionizantes também pode ser uma alternativa viável para o controle de insetos em grãos armazenados. É um método efetivo facilmente incorporado na prática moderna de manuseio de grãos e apresenta vantagens como eficiência de controle, não deixa resíduos tóxicos e, portanto, não é poluente (ARTHUR, 1997; VILLAVICENCIO *et al.*, 1997).

O objetivo deste trabalho foi determinar os possíveis níveis de resistência de linhagens de feijão portadoras da proteína arcelina em relação a oviposição do caruncho *A. obtectus*, e se a utilização da radiação gama do Cobalto-60 afetaria esta resistência.

MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi realizado no Laboratório de Criação de Insetos, do Departamento de Zoologia, da Universidade de Campinas (UNICAMP), em uma sala climatizada, com temperatura controlada em $27 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 5\%$ e 12 horas de fotofase.

Foram testadas as linhagens de feijão portadoras de variantes da proteína arcelina: Arcelina-1, Arcelina-2, Arcelina-3 e Arcelina-4, que foram fornecidas pelo Instituto Agrônomo (IAC). As sementes dos materiais avaliados foram multiplicadas a campo na Fazenda Experimental Santa Elisa do próprio IAC, situada em Campinas, SP, objetivando a obtenção de um material novo e devidamente aclimatado às condições locais. As sementes de feijão foram submetidas a uma fonte de radiação gama de Cobalto-60, do tipo Gammabeam-650, do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), USP/Piracicaba, SP, recebendo quatro doses de irradiação: 0 (testemunha); 0,5; 1,0 e 2,0 kGy, sob taxa de dose de 0,679 kGy/hora.

As sementes foram avaliadas através de testes de confinamento, com delineamento inteiramente casualizado, com 16 tratamentos e 5 repetições. Parcelas de 50 sementes foram acondicionadas em frascos

de vidro e infestadas com 20 insetos adultos ao acaso de *A. obtectus*, na faixa etária de 0-24 horas. Posteriormente, estes frascos foram fechados com tampas plásticas perfuradas, acopladas de uma tela de náilon de malha fina, para permitir a aeração e impedir a fuga dos insetos. Estes frascos também foram protegidos com um papel de filtro colocado sobre a tampa e preso por um elástico. Dessa forma, seria evitada a entrada de ácaros, que poderiam comprometer o experimento atacando os ovos deste caruncho. Os insetos permaneceram nos recipientes até a sua completa mortalidade, sendo que, após isto, foram descartados e as parcelas mantidas para avaliação dos seguintes parâmetros: número total de ovos, número de ovos viáveis, porcentagem de ovos viáveis, viabilidade larval e número de insetos emergidos.

A contagem dos ovos foi realizada após a mortalidade de todos adultos, que foi verificada a partir do 20º dia posterior à colocação dos insetos. Os ovos que se originaram larvas foram considerados viáveis. A contagem foi feita através de um microscópio estereoscópio e um contador manual.

A viabilidade larval foi determinada pela divisão do número total de insetos emergidos pelo número de ovos viáveis na parcela, multiplicados por 100.

O número de insetos emergidos foi observado a partir do 40º dia após a infestação, efetuando-se daí por diante o peneiramento diário das sementes, até não se observar qualquer emergência durante 5 dias consecutivos.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F, sendo que as médias de todos os parâmetros foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As linhagens de feijão portadoras da proteína arcelina diferiram significativamente dentro dos tratamentos com radiação gama, em relação ao número total de ovos e ovos viáveis de *A. obtectus*, indicando que o número de larvas que penetraram nos grãos foi proporcional ao número total ovos dentro dos tratamentos (Tabela 1).

A linhagem com menor oviposição foi a Arcelina-3, com um total médio de ovos de 308,00. Com exceção da dose de 1,0 kGy todos os demais tratamentos foram menores em relação as demais linhagens, estando de acordo com os resultados obtidos por TEIXEIRA (1998), o que poderia indicar o mecanismo de resistência de não-preferência para oviposição. Enquanto que, a Arcelina-1, foi a mais preferida, com 355,10, podendo ser considerada como a linhagem mais susceptível para a oviposição deste caruncho em relação as outras linhagens.

Tabela 1 - Médias do número total de cinco repetições de ovos e de ovos viáveis de *A. obtectus* em linhagens de *P. vulgaris*, portadoras da proteína arcelina, submetidas a diferentes doses de radiação gama (⁶⁰Co), Campinas, SP, 1999.

Linhagens	Total de Ovos					Ovos Viáveis					
	Doses (kGy)					Doses (kGy)					
	0	0,5	1,0	2,0	Médias	0	0,5	1,0	2,0	Médias	
Arc-1	334,20b	356,20a	335,60a	394,40a	355,10	285,00b	289,00a	277,60a	323,60a	293,80	
Arc-2	352,20a	313,20b	280,00b	338,60b	321,00	302,40a	269,00b	243,60b	286,00b	275,25	
Arc-3	341,00b	276,80c	336,80a	277,40c	308,00	287,00b	242,00c	289,80a	246,00c	266,20	
Arc-4	354,60a	278,80c	358,00a	322,20b	328,40	304,00a	242,20c	299,20a	278,60b	281,00	
Médias	345,50	306,25	327,60	333,15		294,60	260,55	277,55	283,55		
C.V. (%)		17,38					18,74				

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente, entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 2 - Médias da viabilidade larval e do número de insetos emergidos de *A. obtectus*, em linhagens de *P. vulgaris* portadoras da proteína arcelina, submetidas a diferentes doses de radiação gama (Co⁶⁰), Campinas, SP, 1999.

Linhagens	Viabilidade Larval (%)					Insetos Emergidos					
	Doses (kGy)					Doses (kGy)					
	0	0,5	1,0	2,0	Médias	0	0,5	1,0	2,0	Médias	
Arc-1	84,72a	83,07a	90,33a	75,45b	83,39	242,60b	239,40a	244,80a	245,20a	243,00	
Arc-2	67,34b	71,20b	73,63a	68,85c	70,26	204,60c	193,00	169,20c	195,60b	190,60	
Arc-3	70,30b	78,54a	77,15a	78,34b	76,08	200,60c	190,00b	225,00b	195,40b	202,75	
Arc-4	80,83a	79,40a	80,17a	84,55a	81,24	262,80a	195,80b	237,60a	235,00a	232,80	
Médias	75,80	78,05	80,32	76,80		227,65	204,55	219,15	217,80		
C.V. (%)		15,17					24,15				

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente, entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Observou-se que houve diferença significativa entre as doses de radiação gama na oviposição deste inseto, porém, a testemunha com exceção da Arcelina 1 que apresentou a maior quantidade total de ovos e a dosagem de 0,5 kGy foi em média a menos ovipositada em comparação às outras doses.

Em relação à porcentagem de ovos viáveis (Fig. 1), pode-se observar que em todas as linhagens este valor foi superior a 80%, sendo que não houve influência das doses de radiação. Porém, a Arcelina-1, foi a que apresentou as menores porcentagens de ovos viáveis dentro dos tratamentos com radiação gama, apesar da elevada oviposição.

As linhagens Arcelina-1 e Arcelina-4 apresentaram os maiores índices médios de viabilidade larval, com uma média de 83,39 e 81,24%, respectivamente. Estas duas linhagens também apresentaram a maior emergência de *A. obtectus* (Tabela 2), diferindo das outras linhagens, com um total médio de insetos emergidos de 243,00 e 232,80, respectivamente. A variante Arcelina-2 obteve a menor média de emergência do caruncho, de 190,60, que foi consequência da baixa viabilidade larval, de 70,26%. Para todas as variantes da proteína arcelina testadas a viabilidade larval atingiu índices maiores que 60%. A testemunha apresentou o

maior valor numérico da emergência deste inseto, de 227,65.

A linhagem Arcelina-2 reduziu a emergência de *A. obtectus*, independentemente das doses de radiação utilizadas, mantendo-se assim, a resistência do tipo

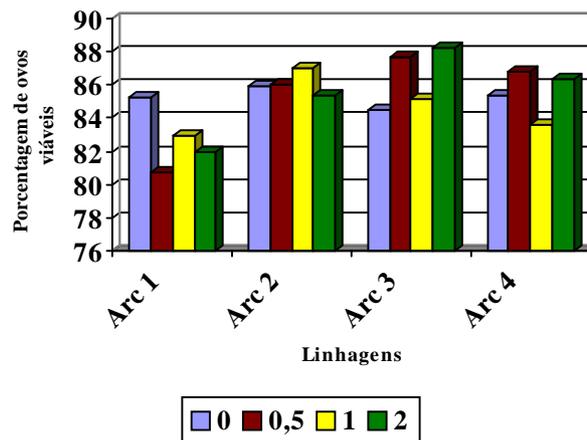


Fig. 1 - Porcentagem média do número de ovos viáveis de *A. obtectus* ovipositados em sementes de linhagens de feijoeiro submetidas a diferentes doses de radiação gama do Cobalto-60, Campinas, SP, 1999.

antibiose; e a linhagem Arcelina 3 obteve a menor oviposição, sugerindo uma possível resistência em relação a este caruncho, confirmando os resultados obtidos por WANDERLEY *et al.* (1997), que encontraram fontes de resistência significativas apenas em feijões silvestres portadoras da proteína arcelina.

As doses crescentes de radiação gama (^{60}Co) testadas, não afetaram o número total de ovos e o número de ovos viáveis, de *A. obtectus*, depositados nas linhagens de *P. vulgaris*, sendo que, doses de até 2,0 kGy, podem ser usadas para a desinfestação de grãos de feijão infestadas com *A. obtectus* sem alterar a resistência das linhagens Arcelina-2 e 3.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela Bolsa de Mestrado concedida. Ao IAC pelo fornecimento das sementes e ao CENA pela sua irradiação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABATE, T. & AMPOFO, J.K. Insect pests of beans in Africa: their ecology and management. *Ann. Rev. Entomol.*, v. 14, p. 45-73, 1996.
- ARTHUR, V. Controle de insetos-pragas por radiações ionizantes. *Biológico*, v.59, n.1, p.77-79, 1997.
- CAMARGO, M.F.L.; VERA, J.G.; DOMINGUEZ, B.R. Preference, mortality and fertility of *Acanthoscelides obtectus* (Say) on six lines of common bean and the cultivar Jamapa. *Agrociencia*, v.31, n.2, p.253-257, 1997.
- CARDONA, C.; DICH, K.; POSSO, C.E.; AMPOFO, J.K.; NADHY, S.M. Resistance of a common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar to the post-harvest infestation by *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera: Bruchidae). II Storage tests. *Trop. Pest Manage.*, v. 38, p.173-175, 1992.
- FARONI, L.R.D.; MOLIN, L.; ANDRADE, E.T.; CARDOSO, E.G. Utilização de produtos naturais no controle de *Acanthoscelides obtectus* em feijão armazenado. *Rev. Bras. Armaz.*, v.20, n.1-2, p.44-48, 1995.
- FORY, L.F.; FINARDI FILHO, F.; QUINTERO, C.M.; OSBORN, T.C.; CARDONA, C.; CHRISPEELS, M.J.; MAYER, J.E. Alpha-amylase inhibitors in resistance of common beans to the mexican bean weevil and the bean weevil (Coleoptera: Bruchidae). *J. Econ. Entomol.*, v.89, n.1, p.204-210, 1996.
- HOWE, R.W. & CURRIE, J. E. Some laboratory observation on the rates of development mortality and oviposition of several species of bruchidae breeding in stored pulses. *Bul. Entomol. Res.*, v.55, p.437-477, 1964.
- MENDES, M.A.S.; FONSECA, J.N.L.; VILARINHOS, M.R.D. Seed resistance of *Phaseolus vulgaris* to bean bug *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera, Bruchidae). *Pesq. Agropec. Bras.*, v.30, n.6, p.893-897, 1995.
- MIRKOV, T.E., WAHLSTROM, J.M.; HAGIWARA, K.; FINARDI FILHO, F.; KIEMTRUP, S. Evolutionary relationships among proteins in the phytohemagglutinin arcelin alpha amylase inhibitor family of the common bean and its relatives. *Plant Mol. Biol.*, v. 26, n. 4, p. 1103-1113, 1994.
- OSBORN, T.C.; BLACK, F.; GEPTS, P. & BLISS, F.A. Bean arcelin 2. Genetic variation, inheritance and linkage relationships of a novel seed protein of *Phaseolus vulgaris* L. *Theor. Appl. Genet.*, v.71, p.847-855, 1986.
- PAES, N.S.; GERHARDT, I.R.; COUTINHO, M.V.; YOKOYAMA, M.; SANTANA, E.; HARRIS, N.; CHRISPEELS, M.J.; DE AS, M.F.G. The effect of arcelin-1 on the structure of the midgut of bruchid larvae and immunolocalization of the arcelin protein. *J. Insect Physiol.*, v.46, n.4, p.393-402, 2000.
- PEREIRA, P.A.A., YOKOYAMA, M.; QUINTELA, E.D.; BLISS, F.A. Controle do caruncho *Zabrotes subfasciatus* (Boheman, 1833) (Coleoptera: Bruchidae) pelo uso de proteína da semente em linhagens quase isogênicas de feijoeiro. *Pesq. Agropec. Bras.*, v.30, n.8, p.1031-1034, 1995.
- SALGADO, L.O. Pragas que danificam sementes e plântulas - características e controle. *Inf. Agropec.*, v.8, n.91, p.41-44, 1982.
- SCHOEDER, H.E.; GOLLASCH, S.; MOORE, A.; TUBE, L.M.; CRAIG, S.; HARDIE, D.; CHRISPEELS, M.J.; SPENCER, D.; HIGGINS, T.V.J. Bean a-amylase inhibitor of the common bean are resistant to bruchid beetles. *Biotechnology*, v.12, p. 793-796, 1995.
- TEIXEIRA, V.W. Avaliação do efeito da radiação gama (^{60}Co) sobre a proteína arcelina e sua influência na resistência a *Zabrotes subfasciatus* (Boh., 1833) (Coleoptera: Bruchidae). São Paulo, 1998. 84p. [Tese (Doutorado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo].
- TOMLEKOVA, N. The mechanism of resistance to *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera, Bruchidae) in beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Agric. Sci.*, v.36, n.5, p.19-21, 1998.
- VILLAVICENCIO, A.L.C.H.; MANCINI, J.F.; HARTMANN, M.; AMMON, J.; DELINCEE, H. Formation of hydrocarbons in irradiated Brazilian beans: gas chromatographic analysis to detect radiation processing. *J. Agric. Food Chem.*, v.45, n.11, p.4215-4220, 1997.
- WANDERLEY, V.S.; OLIVEIRA, J.V.; ANDRADDE JR., M.L. Resistência de cultivares e linhagens de *Phaseolus vulgaris* L. a *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) (Coleoptera: Bruchidae). *An. Soc. Entomol. Bras.*, v.26, n.2, p.315-320, 1997.

Recebido em 26/10/01

Aceito em 11/01/02