

ESTABILIDADE DA RESISTÊNCIA A *ZABROTES SUBFASCIATUS* CONFERIDA PELA PROTEÍNA ARCELINA, EM FEIJOEIRO¹

FLÁVIA RABELO BARBOSA², MASSARU YOKOYAMA³, PEDRO ANTÔNIO ARRAES PEREIRA³
e FRANCISCO JOSÉ PFEILSTICKER ZIMMERMANN³

RESUMO - A arcelina é uma proteína encontrada em feijões silvestres e confere resistência ao caruncho-do-feijão, *Zabrotes subfasciatus* (Boh., 1833) (Coleoptera: Bruchidae). Comparativamente às cultivares suscetíveis Porrillo 70 e Goiano Precoce, estudou-se a estabilidade da resistência, conferida por dois alelos da proteína arcelina, nas linhagens do feijoeiro Arc1 e Arc4, após a criação do inseto por quatro gerações sucessivas no mesmo genótipo. O experimento foi conduzido no Laboratório da Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAP), no município de Santo Antônio de Goiás, GO, em condições não-controladas, utilizando-se delineamento experimental inteiramente ao acaso. Observaram-se, nas linhagens portadoras de arcelina, redução do número de ovos e de adultos emergidos, redução do peso dos insetos, e prolongamento do período ovo-adulto. Na linhagem Arc1, a resistência ao *Z. subfasciatus* foi mais expressiva. Nessa linhagem, os parâmetros número de ovos, número de adultos emergidos, período ovo-adulto, razão sexual e peso de machos não foram alterados, porém observou-se aumento progressivo de peso das fêmeas nas gerações. Na linhagem Arc4, houve redução do período ovo-adulto, embora o número de ovos e de adultos emergidos, razão sexual e peso de machos e fêmeas não tenham sido alterados.

Termos para indexação: *Phaseolus vulgaris*, resistência a insetos, biologia de insetos, caruncho, armazenagem.

STABILITY OF THE RESISTANCE TO *ZABROTES SUBFASCIATUS* CONFERRED BY PROTEIN ARCELIN IN COMMON BEANS PLANTS

ABSTRACT - Arcelin is a seed protein found in beans which gives resistance to Mexican bean weevil, *Zabrotes subfasciatus* (Boh., 1833) (Coleoptera: Bruchidae). Compared with the susceptible cultivars Porrillo 70 and Goiano Precoce, the stability of the resistance conferred by two alleles of the protein arcelin was observed in lines Arc1 and Arc4 after raising the insects for four consecutive generations feeding in the same genotype. The experiment was carried out at Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAP), at Santo Antônio de Goiás, Goiás State, Brazil, under non-controlled conditions using a randomized complete block design. In the lines containing arcelin reduction in the number of eggs and emerged adults, insects weight and elongation of the egg/adult cycle was observed. The resistance was greater in the line carrying Arc1 allele. The parameters number of eggs and emerged adults, egg/adult cycle, sexual ratio and males weight was not altered on Arc1 genotype, although a progressive increase of the females weight was observed. On the genotype containing Arc4 allele there was a reduction in the egg/adult cycle, although the number of eggs and emerged adults, sexual ratio and males and females weight were not altered.

Index terms: *Phaseolus vulgaris*, host plant resistance, insect biology, Mexican bean weevil, storage.

¹ Aceito para publicação em 22 de junho de 1999.

² Eng. Agrôn., Dra., Embrapa-Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Semi-Árido (CPATSA), Caixa Postal 23, CEP 56300-000 Petrolina, PE. E-mail: flavia@cpatsa.embrapa.br

³ Eng. Agrôn., Dr., Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAP), Caixa Postal 179, CEP 74001-970 Goiânia, GO.

INTRODUÇÃO

Nas regiões tropicais da América Latina, o caruncho-do-feijão, *Zabrotes subfasciatus*, é considerado a principal praga de feijão armazenado; é também encontrado em regiões de clima temperado e frio (Rossetto, 1966; Decheco et al., 1986). Seus danos

são decorrentes da penetração das larvas nos grãos, cujo conteúdo lhes serve de alimento, causando, assim, perda de peso, redução do valor nutritivo, e até da higiene, pela presença de excrementos, ovos e insetos. Além disso, o poder germinativo das sementes pode ser reduzido, ou totalmente perdido. As perdas de feijão armazenado no México, América Central e Panamá são superiores a 35%, e no Brasil, entre 7% e 17% (Schoonhoven & Cardona, 1980; Gallo et al., 1988).

Diversos pesquisadores avaliaram milhares de acessos de feijão cultivado e não encontraram níveis satisfatórios de resistência ao caruncho *Z. subfasciatus* (Oliveira et al., 1979; Schoonhoven & Cardona, 1982; Rego et al., 1986; Oriani et al., 1996). Contudo, em genótipos silvestres de *Phaseolus vulgaris* de origem mexicana, detectaram-se altos níveis de resistência. Pesquisas revelaram que a resistência aos carunchos é do tipo antibiose, e é atribuída à proteína arcelina (Schoonhoven et al., 1983; Cardona et al., 1989). A arcelina está presente somente em feijões silvestres, resistentes a *Z. subfasciatus*. Seis variantes alélicas de arcelina (Arc1, Arc2, Arc3, Arc4, Arc5 e Arc6) já foram descritas (Osborn et al., 1986; Lioi & Bollini, 1989). Quando se introduziu o gene desta proteína em feijões suscetíveis cultivados, por meio de retrocruzamentos, comprovou-se que a expressão da proteína é controlada por um gene simples, sendo, sua presença, dominante (Osborn et al., 1986). A herança monogênica da arcelina abre a possibilidade de formação de biótipos do inseto capazes de quebrar essa resistência.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a estabilidade da resistência a *Z. subfasciatus*, conferida pela arcelina, em duas linhagens de feijoeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Entomologia da Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAF) no município de Santo Antônio de Goiás, GO, em condições não-controladas. A temperatura ambiente e a umidade relativa foram registradas diariamente em termogrógrafo. A temperatura média variou de 16,6°C a 30,4°C, e a umidade relativa, de 55% a 86%.

Os insetos utilizados no experimento foram obtidos de uma criação em sementes de feijão, cultivar Jalo Precoce. As sementes foram multiplicadas no campo da Embrapa-CNPAF, no primeiro semestre de 1995. As sementes das linhagens quase isogênicas contendo os alelos arcelina 1 (Arc1), arcelina 2 (Arc2), arcelina 3 (Arc3) e arcelina 4 (Arc4) foram obtidas na Universidade de Wisconsin, Madison, EUA, pelo cruzamento da cultivar Porrillo 70 com acessos silvestres de *P. vulgaris*.

Antes da infestação, as sementes foram selecionadas. As que apresentavam imperfeições no tegumento foram descartadas, e as selecionadas foram mantidas, no mínimo, por 72 horas em condições ambientais, para entrar em equilíbrio higroscópico.

Utilizou-se delineamento inteiramente ao acaso, com quatro tratamentos e cinco repetições. Os tratamentos foram: linhagens quase isogênicas portadoras de Arc1 e Arc4, e as cultivares suscetíveis Porrillo 70 e Goiano Precoce. A unidade experimental foi constituída por frascos de acrílico contendo 20 sementes por repetição, infestadas com cinco casais de *Z. subfasciatus*.

Após a emergência de adultos de *Z. subfasciatus*, criados em sementes de feijão da cultivar Jalo Precoce, procedeu-se à transferência e criação dos insetos nas cultivares e linhagens testadas. Os cinco primeiros casais emergidos de 0 a 24 horas, em cada tratamento, foram utilizados para infestar quatro gerações subseqüentes do mesmo tratamento.

Em cada tratamento foram avaliados os seguintes parâmetros: 1) número de ovos, com contagem realizada 15 dias após a infestação; 2) número total de insetos emergidos, através de contagens realizadas a cada dois dias; 3) período médio ovo-adulto, correspondente ao intervalo entre a fase de ovo e a emergência do adulto, e período médio ovo-adulto de machos e de fêmeas, obtido pela média ponderada, tendo como peso o número de insetos emergidos em cada dia da postura; 4) razão sexual, calculada pela fórmula: $RS = \frac{\text{número de fêmeas}}{\text{número de machos} + \text{fêmeas}}$; 5) peso seco dos insetos, obtido pela exposição dos insetos a 40°C, durante três dias, e pesagem em balança eletrônica (Posso et al., 1989).

Na análise de variância, os dados referentes ao número de ovos e adultos emergidos e período ovo-adulto foram transformados em $\sqrt{x+1}$, e a razão sexual em $\sqrt{\%}$, sendo em seguida submetidos à análise estatística, conforme o delineamento proposto. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Na apresentação dos dados foram usados valores não-transformados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença significativa entre o número médio de ovos das linhagens Arc1 e Arc4; porém em ambas as médias foram significativamente menores que as das testemunhas suscetíveis (Tabela 1).

Na primeira, terceira e quarta gerações, Arc1 apresentou menor número de ovos que as testemunhas suscetíveis; apenas na primeira geração o número de ovos em Arc1 foi menor que em Arc4. A linhagem Arc4 não diferiu das testemunhas suscetíveis, na primeira geração, nem de Porrillo 70 na segunda geração (Tabela 1).

Nas quatro gerações estudadas, não houve diferença significativa no número de ovos de *Z. subfasciatus*, entre a primeira e a quarta gerações, nas testemunhas suscetíveis ou nas linhagens portadoras de arcelina.

O maior número médio de adultos emergidos foi observado nas cultivares Goiano Precoce e Porrillo 70, com, respectivamente, 143,85 e 135,55 insetos, que diferiram de Arc4 com 100,35, e de Arc1 com 34,35 adultos (Tabela 2). Schoonhoven et al.

(1983) verificaram, em acessos silvestres resistentes de *P. vulgaris* (G 12952 e G 12953, portadores do alelo Arc4), que a redução da emergência de adultos de *Z. subfasciatus* foi mantida durante cinco gerações sucessivas. Tais resultados concordam com os obtidos no presente trabalho, nas linhagens portadoras de arcelina, pois não houve diferença significativa no número de adultos emergidos nas quatro gerações estudadas em Arc1 e Arc4.

O período ovo-adulto médio foi maior nas linhagens portadoras de Arc1 e de Arc4 do que nas cultivares suscetíveis (Tabela 3). Cardona et al. (1989) também constataram maior período ovo-adulto médio no acesso silvestre resistente G 12953, portador do alelo Arc4, comparativamente aos acessos G 12923 (silvestre), Calima, Pijao e G02540 (cultivados suscetíveis).

Não se observou redução do período ovo-adulto médio de *Z. subfasciatus* na linhagem portadora de Arc1, nas quatro gerações sucessivas. Contudo, em Arc4, Porrillo 70 e Goiano Precoce, houve redução do período da primeira para a quarta geração (Tabela 3), o que concorda com Schoonhoven & Cardona

TABELA 1. Número médio de ovos de *Zabrotes subfasciatus*, em quatro gerações sucessivas, em 20 sementes de cultivares e linhagens de feijão (*Phaseolus vulgaris*)¹.

Cultivar/ linhagem	Geração				Média
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	
Arcelina1	93,00bB	119,00bAB	130,20cA	124,80bAB	116,75b
Arcelina4	143,40aA	131,40bA	136,60cA	142,00bA	138,35b
Porrillo 70	157,40aA	166,40abA	176,20bA	185,60aA	171,40a
Goiano Precoce	168,40aB	191,20aAB	214,80aA	175,20aB	187,40a
C.V. (%)	18,08	17,61	9,10	11,21	-

¹ Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

TABELA 2. Número médio de adultos emergidos de *Zabrotes subfasciatus*, em quatro gerações sucessivas, em 20 sementes de cultivares e linhagens de feijão (*Phaseolus vulgaris*)¹.

Cultivar/linhagem	Geração				Média
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	
Arcelina1	24,60bA	26,40cA	38,40cA	48,00cA	34,35c
Arcelina4	98,40aA	103,60bA	99,80bA	99,60bA	100,35b
Porrillo 70	115,20aB	132,80abAB	150,40aA	143,80aAB	135,55a
Goiano Precoce	136,40aAB	151,20aAB	164,80aA	123,00abB	143,85a
C.V. (%)	12,54	10,40	8,28	12,21	-

¹ Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

(1982), que observaram o desenvolvimento de *Z. subfasciatus* durante cinco gerações sucessivas, nos acessos silvestres resistentes G 2540 e G 5693, e constataram redução do período ovo-adulto, com o progresso das gerações.

A razão sexual média dos insetos criados na linhagem portadora de Arc1 foi significativamente menor do que nas testemunhas suscetíveis, o que não aconteceu em relação a Arc4 (Tabela 4).

Não foi observada diferença significativa na razão sexual, entre as gerações, em nenhum dos tratamentos. Na primeira, segunda e quarta gerações, houve maior proporção de machos nas linhagens portadoras de arcelina, embora a diferença tenha sido significativa apenas na primeira (entre Porrillo 70 e Arc1) e quarta gerações (entre as testemunhas e Arc1) (Tabela 4). Cardona et al. (1989), trabalhando com o acesso de feijão silvestre G 12953 (portador do alelo Arc4), também observaram, após criação de *Z. subfasciatus*, por quatro gerações sucessivas, ocorrência de maior proporção de machos na população.

O peso seco médio dos insetos criados nas linhagens portadoras de arcelina foi significativamente menor do que o dos insetos criados em Porrillo 70 e Goiano Precoce (Tabela 5). O peso dos insetos criados em Arc1 também foi significativamente menor que o observado em Arc4. Nas quatro gerações estudadas, o peso das fêmeas e dos machos criados em Arc1 foi significativamente menor que o dos criados nas testemunhas suscetíveis. O peso seco das fêmeas criadas em Arc4 também foi significativamente menor que o observado nas testemunhas suscetíveis, porém o peso seco dos machos criados nesta linhagem não foi diferente do peso seco dos machos criados em Porrillo 70, na primeira, segunda e quarta gerações. Não foi constatada diferença entre o peso dos machos criados em Arc1 e Arc4, entre a primeira e a quarta gerações. Contudo, observou-se, entre a primeira e a quarta gerações, um aumento de peso, nas fêmeas criadas em Arc1. Schoonhoven & Cardona (1982) não observaram diferenças significativas no peso de *Z. subfasciatus* após criação por

TABELA 3. Período ovo-adulto médio (dia) de *Zabrotes subfasciatus*, criado em cultivares e linhagens de feijão (*Phaseolus vulgaris*), por quatro gerações sucessivas¹.

Cultivar/linhagem	Geração				Média
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	
Arcelina1	46,42aA	46,12aA	45,68aA	47,30aA	46,38a
Arcelina4	41,79bA	41,43bA	38,50bB	38,24bB	39,99b
Porrillo 70	34,54cB	37,04cA	37,62bcA	31,92cC	35,28c
Goiano Precoce	33,51dB	34,46dAB	35,05cA	30,89cC	33,48d
C.V. (%)	1,43	2,22	4,19	2,81	-

¹Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

TABELA 4. Razão sexual média de *Zabrotes subfasciatus*, criado em cultivares e linhagens de feijão (*Phaseolus vulgaris*), por quatro gerações sucessivas¹.

Cultivar/linhagem	Geração				Média
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	
Arcelina1	0,43bA	0,41aA	0,48aA	0,41bA	0,43b
Arcelina4	0,47abA	0,48aA	0,50aA	0,49abA	0,48a
Porrillo 70	0,52aA	0,49aA	0,48aA	0,55aA	0,51a
Goiano Precoce	0,50abA	0,49aA	0,50aA	0,52aA	0,50a
C.V. (%)	6,08	7,72	7,90	7,18	-

¹Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

TABELA 5. Peso seco médio (mg) de machos e fêmeas de *Zabrotes subfasciatus*, criados em feijão (*Phaseolus vulgaris*), por quatro gerações sucessivas¹.

Cultivar/linhagem	Macho				Fêmea				Média
	Geração				Geração				
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	
Arcelina1	0,54cA	0,57cA	0,62bA	0,68cA	0,79dB	0,85dB	1,01bAB	1,09cA	0,77d
Arcelina4	0,64bcA	0,71bA	0,67bA	0,72bcA	1,02cA	1,14cA	1,09bA	1,17cA	0,89c
Porrillo 70	0,76abA	0,76abA	0,73aA	0,75bA	1,37bA	1,32bA	1,32aA	1,31bA	1,04b
Goiano Precoce	0,84aA	0,82aA	0,79aA	0,84aA	1,55aA	1,47aA	1,49aA	1,50aA	1,16a
C.V. (%)	10,70	4,45	4,99	3,46	5,78	4,35	8,00	3,91	-

cinco gerações sucessivas, nos acessos selvagens resistentes G 2540 e G 5693.

CONCLUSÕES

1. Na linhagem portadora de arcelina 1, os parâmetros número de ovos, número de adultos emergidos, período ovo-adulto, razão sexual e peso dos machos não são alterados após a criação de *Zabrotes subfasciatus* no mesmo genótipo, por quatro gerações sucessivas, sendo observado, contudo, um aumento progressivo no peso das fêmeas nas gerações.

2. Na linhagem portadora de arcelina 4, há redução do período ovo-adulto, após a criação de *Z. subfasciatus* por quatro gerações sucessivas no mesmo genótipo, embora o número de ovos e de adultos emergidos, a razão sexual e peso de machos e fêmeas não sejam alterados.

REFERÊNCIAS

- CARDONA, C.; POSSO, C.E.; KORNEGAY, J.; VALOR, J.; SERRANO, M. Antibiosis effects of wild dry bean accessions on the Mexican bean weevil and the bean weevil (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.82, n.1, p.310-315, 1989.
- DECHECO, A.; MONCADA, B.; ORTIZ, M. Desarrollo de *Zabrotes subfasciatus* sobre seis variedades de frijol en Lima. **Revista Peruana de Entomología**, Lima, v.26, p.77-79, 1986.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BATISTA, G.C.; BERTI FILHO,

E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D. **Manual de entomologia agrícola**. 2.ed. São Paulo : Agronômica Ceres, 1988. 649p.

LIOI, L.; BOLLINI, R. Identification of a new arcelin variant in wild bean seeds. **Bean Improvement Cooperative Annual Report**, Fort Collins, v.32, p.28, 1989.

OLIVEIRA, A.M.; PACOVA, B.E.; SUDO, S.; ROCHA, A.C.M.; BARCELLOS, D.F. Incidência de *Zabrotes subfasciatus* Boheman, 1833 e *Acanthoscelides obtectus* Say 1831 em diversos cultivares de feijão armazenado (Col.: Bruchidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v.8, n.1, p.47-55, 1979.

ORIANI, M.A. de G.; LARA, F.M.; BOIÇA JUNIOR, A.L. Resistência de genótipos de feijoeiro a *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) (Coleoptera: Bruchidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.25, n.2, p.213-216, 1996.

OSBORN, T.C.; BLAKE, T.; GEPTS, P.; BLISS, F.A. Bean arcelin, 2: genetic variation, inheritance and linkage relationships of a novel seed protein of *Phaseolus vulgaris* L. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.71, n.6, p.847-855, 1986.

POSSO, C.E.; CARDONA, C.; VALOR, J.F.; MORELES, H. Caracterización de una nueva proteína como factor responsable de la resistencia de *Phaseolus vulgaris* a *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera: Bruchidae). **Revista Colombiana de Entomología**, Bogotá, v.15, n.2, p.3-9, 1989.

REGO, A.F.M.; VEIGA, A.F.S.L.; RODRIGUES, Z.A.; OLIVEIRA, M.L. de; REIS, O.V. Efeito da incidência de *Zabrotes subfasciatus* Boheman, 1833

- (Coleoptera: Bruchidae) sobre genótipos de *Phaseolus vulgaris* L. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Jaboticabal, v.15, p.53-69, 1986. Suplemento.
- ROSSETTO, C.J. Sugestões para armazenamento de grãos no Brasil. **O Agrônomo**, Campinas, v.18, p.38-51, 1966.
- SCHOONHOVEN, A. van; CARDONA, C. Insects and other bean pests in Latin America. In: SCHWARTZ, H.F.; GALVEZ, G.E. (Eds.). **Bean production problems: disease, insect, soil and climatic constraints of *Phaseolus vulgaris***. Cali : CIAT, 1980. p.363-412.
- SCHOONHOVEN, A. van; CARDONA, C. Low levels of resistance to the Mexican bean weevil in dry bean. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.76, n.4, p.567-569, 1982.
- SCHOONHOVEN, A. van; CARDONA, C.; VALOR, J. Resistance to the bean weevil and the Mexican bean weevil (Coleoptera: Bruchidae) in non-cultivated common bean accessions. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.76, n.6, p.1255-1259, 1983.